THÈSE

En vue de l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par l'Université Toulouse 3 - Paul Sabatier

Présentée et soutenue par

Basile COUTENS

Le 15 avril 2022

Stratégies non pharmacologiques et réponse aux antidépresseurs dans un modèle murin de dépression : effets comportementaux et mécanismes neurobiologiques

---

Ecole doctorale : **BSB - Biologie, Santé, Biotechnologies**

Spécialité : **NEUROSCIENCES**

Unité de recherche :
CRCA - Centre de Recherches sur la Cognition Animale

Thèse dirigée par
CLAIRE RAMPON et Bruno GUIARD

Jury

Mme MURIEL KOEHL, Rapporteure
Mme NATHALIE THIRIET, Rapporteure
M. ARNAUD TANTI, Examinateur
M. JEAN-MARC DEVAUD, Examinateur
Mme MURIEL DARNAUDÉRY, Examinatrice
Mme CLAIRE RAMPON, Directrice de thèse
M. BRUNO GUIARD, Co-directeur de thèse

« J'espère que la routourne va tourner »

Franck Ribery, 2013

REMERCIEMENTS

En premier lieu, je tiens à remercier Mme Muriel Koehl et Mme Nathalie Thiriet pour avoir accepté d'être rapporteures de mon manuscrit de thèse. De plus je remercie le Pr. Jean-Marc Devaud, la Pr. Muriel Darnaudery et le Dr. Arnaud Tanti d'avoir quant à eux accepté d'examiner ce travail de thèse.

J'adresse également mes remerciements au Dr. Antoine Yrondi et au Dr. Alexandre Surget pour avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse au cours desquels vous m'avez apporté vos conseils et remarques constructives.

Merci, à l'Association Nationale Recherche Technologie (ANRT) et au dispositif CIFRE d'avoir accepté ce projet de thèse et grâce à qui j'ai pu faire ce doctorat. Et bien sûr, je remercie la Clinique Marigny du groupe CLINEA pour avoir financé ce projet. Ce projet de recherche à viser translationnel n'aurait pas pu aboutir sans votre soutien. Je regrette que le projet clinique n'ait pas encore abouti mais je vous remercie, car grâce à vous j'ai pu me plonger dans la réalisation d'une étude clinique bien que celle-ci ne soit pas encore lancée.

Pour la partie remerciement au sein du laboratoire de recherche, je ne peux que commencer par remercier le Pr. Bernard Frances avec qui j'ai effectué mes premiers pas dans le monde de la recherche. Ce premier stage de découverte, qui finalement, aura mené à mon premier papier de recherche publié, m'a conforté dans mon envie de faire de la Recherche.
Ce n'est pas sans émotion que je remercie le Pr. Bruno Guiard. Bruno, tu m'accompagnes dans la recherche depuis mon stage de Master 2, mais tu auras été bien plus qu'un encadrant pour moi. Je ne te remercierai jamais assez pour ce soutien sans faille depuis le M2, en passant par le M3, et la confiance que tu m'as donné au cours de toutes ces années, j'espère te l'avoir rendu autant que possible. Merci vraiment pour tout ce que tu as fait pour moi, la thèse c'est plein de moments de joie mais également des périodes de doutes et tu as toujours été là, avec tes conseils, ton énergie débordante et tes blagues/anecdotes. J'espère qu'un jour, on retravaillera ensemble et si l'avenir est différent on se retrouvera pour fêter les victoires du TFC !
Je tiens également à remercier Claire Rampon pour m'avoir co-encadré durant ces quatre années de thèse. Malgré ta fonction de directrice du CRCA, tu as toujours pu être présente et disponible pour parler science mais également être à l'écoute quand j'avais des problèmes. Parmi les nombreuses choses que j'ai appris à tes côtés c'est que la thèse ce n'est pas un sprint mais un marathon, et je pense que tu as été la gardienne de ma santé mentale, en m'imposant des breaks même si je ne voyais pas les bénéfices sur le moment présent.
Merci également aux chercheur(e)s de l'équipe Remember (Laure, Lionel M, Lionel D et Cédrick) avec qui j'ai pu discuter de mes travaux en réunion d'équipe ou durant des discussions informelles, vous m'avez également permis de faire murir et avancer mon projet scientifique. Laure, je tiens également à te remercier pour ton soutient moral, il a parfois été difficile d'être supporters du PSG .. ☺.
Merci également à Camille, pour ta bonne humeur et pour s'être taquiner durant ces années « qui aime bien châtie bien ». Merci à Grand Seb pour tes conseils avisés sur le

comportement des souris et de ton aide pour l'élaboration de manipes ainsi qu'à Stéphane pour tout le travail de l'ombre que tu fais.

Passons maintenant aux remerciements à mes frères/sœurs de guerre, l'équipe de doctorants de bureau 4007, s'il y a bien un support infaillible c'est vous ! Je remercie tout particulièrement en premier lieu Petit Seb, j'ai vraiment toujours pu compter sur toi depuis le début, sans toi la thèse aurait été bien fade, je ne te remercierai jamais assez pour tout ton soutien et ces gros délires ensemble. Merci à Fares #MrGentillesse, peu importe tes problèmes, tu as toujours été à notre écoute et toujours plein de bons conseils. Merci à Guillaume, s'il y a bien une personne qui s'est enfoncé avec moi dans des délires c'est bien toi, un jour j'achèterais cette maison au Guatemala ! Merci à Flora, pour tous ces moments de rire surtout à Lisbonne, reste qui tu es, tu es géniale ! Merci à Célia, oui je t'avais promis quatre pages mais le manuscrit est déjà assez long, merci pour ton oreille attentive lorsque je me plains, merci de ton aide les problèmes administratifs ou artistiques ! Merci également à Anna, on s'est peut-être moins côtoyé mais tu m'as aidé sur la partie clinique de mon projet de thèse. J'espère qu'on se reverra tous à des congrès scientifiques ou autour d'un verre ! Je remercie également Juliana et Romane qui ont travaillé sur mon projet de thèse, et toutes les autres personnes que j'ai pu côtoyer au cours de ces années et qui m'ont également apporté leur aide comme Stella, Benjamin, Christophe, Iulia, Anne, Émilie.

Je remercie également mes amis qui m'accompagnent depuis tant d'années et qui m'ont permis de me vider la tête (parfois trop ☺). Grâce à vous je pouvais mettre de mes études. Merci à Hugo, Jordan, Quentin, Théo, Léo et Thibaut !

Merci à ma famille et surtout à mes parents pour m'avoir permis de réaliser mes études et d'avoir été un soutien psychologique essentiel pour franchir toutes les étapes de la vie. Merci à mes frères, vous êtes des exemples pour moi. Merci à mes grands-parents pour tous les moments de bonheurs, mami Simone, papi Tony, vous qui nous avez quitté lors de ces dernières années, ce manuscrit est pour vous ! Merci également au reste de ma famille pour votre soutien !

Et enfin je ne pourrais pas finir mes remerciements, par te remercier toi, Pauline, mon âme sœur. Ou alors je remercie la recherche qui m'a permis de faire ta rencontre. Plus de quatre années à tes côtés, je te dis merci pour tout ! Tu es la plus belle personne que je connaisse et ça fait de moi la personne la plus chanceuse au monde. Je n'en serais pas là sans toi, on s'est soutenu durant nos thèses respectives, on s'est encouragé, on s'est réconforté quand nous en avions besoin ! Merci pour tous ces moments de complicité, ces moments de rire et de folie, tu m'as fait passer les quatre plus belles années de ma vie et tu m'as surtout permis de m'accomplir. Sans toi je n'en serais pas où j'en suis actuellement, je ne pourrais jamais assez te remercier à la hauteur que tu le mérites et te dire à quel point je t'aime.

CURRICULUM VITAE

Basile COUTENS

SKILLS

- ***Mice behavior***
- ***Stereotaxy***
- ***In vivo microdialysis in awake freely mice***
- ***Single unit recording of monoaminergic neurons***
- ***Molecular analysis (immunochemistry, western-blot, protein extraction, ELISA)***

RESEARCH ACTIVITIES

2018 - 2022 *(4 years)*

PHD, RESEARCH CENTER ON ANIMAL COGNITION (CRCA), CNRS UMR 5169, TOULOUSE (FRANCE)

Highlighting the potentiating effects of an enriched environment exposure on antidepressant drug response in a mouse model of depression

Supervision: ***Pr Bruno GUIARD & Claire RAMPON***

(1) Behavioral analysis
(2) Molecular analysis & Pharmacological approaches

2017 - 2018 *(6 month)*

ASSISTANT ENGINEER, RESEARCH CENTER ON ANIMAL COGNITION (CRCA), CNRS UMR 5169, TOULOUSE (FRANCE)

Characterization of the antidepressant-like effects of olfactive ingredients on emotional state and their mechanisms in relation with hippocampal plasticity in mice

Supervision: ***Pr Bruno GUIARD***

2017 *(5 month)*

RESEARCH INTERNSHIP, RESEARCH CENTER ON ANIMAL COGNITION (CRCA), CNRS UMR 5169, TOULOUSE (FRANCE)

Evaluation of the potential for abuse of the voltage-dependent calcium channel blocker pregabalin in mice.

2015 - 2016 *(2 month)*

RESEARCH INTERNSHIP, RESEARCH CENTER ON ANIMAL COGNITION (CRCA), CNRS UMR 5169, TOULOUSE (FRANCE)

Study of opioid-induced hyperalgesia in mice

Supervision: ***Pr Bernard FRANCES***

ACADEMIC BACKGROUND

2018 - 2021 **NEUROPHARMACOLOGY THESIS,** RESEARCH CENTER ON ANIMAL COGNITION (CRCA), PAUL SABATIER UNIVERSITY III, TOULOUSE (FRANCE)

2015 - 2017 **MASTER DEGREE IN PHARMACOLOGICAL INNOVATION AND DRUG PROFESSIONS,** PAUL SABATIER UNIVERSITY III, TOULOUSE (FRANCE)

2012 - 2015 **LICENSE IN CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY,** PAUL SABATIER UNIVERSITY III, TOULOUSE (FRANCE)

SCIENTIFIC PRODUCTIONS

- ***COMMUNICATIONS (Speaker)***

2018 RFRD — **OPIOID-INDUCED HYPERALGESIA IN MICE,** TOULOUSE (FRANCE)

2018 *SFETD* — **OPIOID-INDUCED HYPERALGESIA IN MICE,** LILLE (FRANCE)
Travel bourse: opioid-induced hyperalgesia in mice

2018 *ADDICTON WORKSHOP* — **EVIDENCE OF ABUSE POTENTIAL OF PREGABALIN IN MICE,** BIARRITZ (FRANCE)
Jury prize

2021 GDR MÉMOIRE — **ENRICHED ENVIRONMENT EXPOSURE SHORTENS THE DELAY OF ANTIDEPRESSANT DRUG RESPONSE THROUGH REMODELING OF HIPPOCAMPAL PARVALBUMINE INTERNEURONS,** LISBONNE (PORTUGAL)

- ***COMMUNICATIONS (Posters)***

2019 FENS — **UNRAVELLING THE THERAPEUTIC EFFECTS OF AN ENRICHED ENVIRONMENT ON ANTIDEPRESSANT DRUG RESPONSE,** EDINBURGH (SCOTLAND) - *ONLINE*

2020 NEUROFRANCE — **ENRICHED ENVIRONMENT EXPOSURE SHORTENS THE DELAY OF ANTIDEPRESSANT DRUG RESPONSE THROUGH REMODELING OF HIPPOCAMPAL PARVALBUMINE INTERNEURONS,** STRASBOURG (FRANCE) - *ONLINE*

2021 ECNP — **ENRICHED ENVIRONMENT EXPOSURE SHORTENS THE DELAY OF ANTIDEPRESSANT DRUG RESPONSE THROUGH REMODELING OF HIPPOCAMPAL PARVALBUMINE INTERNEURONS,** LISBONNE (PORTUGAL)

- ***PUBLICATIONS***

Published — *Lack of correlation between the activity of the mesolimbic dopaminergic system and the rewarding properties of pregabalin in mouse*. **Coutens B**, Mouledous L, Stella M, Rampon C, Lapeyre-Mestre M, Roussin A, Guiard BP, Jouanjus E. Psychopharmacology (Berl). 2019 Jul;236(7):2069-2082.

Published — *Antidepressant Efficacy of a selective organic cation transporter blocker in a mouse model of depression*. A. Orrico1, L. Chausset-Boissarie, R. Alves De Sousa, **B. Coutens**, S. Rezai Amin, V. Vialou, F. Louis, A. Hessani, P. M. Dansette, T. Zornoza, C. Gruszczynski, B. Giros, B. P. Guiard, F. Acher, N. Pietrancosta*, S. Gautron*. Mol Psychiatry. 2020 Jun;25(6):1245-1259.

Published — *Efficacy of multimodal analgesic treatment of severe traumatic acute pain in mice pretreated with chronic high dose of buprenorphine inducing mechanical allodynia*. **B. Coutens**, C. Derreumaux, F Labaste, V. Minville, B.P. Guiard, L. Moulédous, V.Bounes, A. Roussin*, B. Frances. Eur J Pharmacol. 2020 May 15;875:172884

Published — *A Citrus based sensory functional food ingredient induces antidepressant-like effects: possible involvement of an interplay between the olfactory and the serotonergic systems*. **Coutens B.,** Rekik K., Harster A., Etienne P., Noirot V., Frances B., Moulédous L., Guiard BP. Neuroscience. 2020 Dec 15;451:149-163

- ***OTHERS ACTIVITIES***

2018 — **VOLUNTEER FOR THE ORGANIZATION OF THE CONGRESS OF THE FRENCH SOCIETY OF PHARMACOLOGY AND THERAPEUTICS,** TOULOUSE (FRANCE)

2018 — **ORGANIZATION OF DOCTORAL SCHOOL DAY (CONGRESS),** TOULOUSE (FRANCE)

2021 — **VOLUNTEER FOR THE ORGANIZATION OF THE GDR MEMORY CONGRESS,** MAS DE SABOTH (FRANCE)

RESUMÉ

Les troubles majeurs dépressifs concernent plus de 300 millions de personnes à travers le monde. Si des composés pharmacologiques permettent de traiter la dépression, les substances commercialisées pour cette indication présentent certaines limites thérapeutiques. Notamment, on observe pour tous ces composés, un faible taux de réponse, un taux élevé de rechute et/ou un long délai d'action. En effet, la plupart des antidépresseurs nécessitent un traitement au long cours, avant que les premiers signes thérapeutiques ne soient observables, ce qui constitue un inconvénient clinique majeur. Au niveau mécanistique, ceci s'explique par le fait que l'administration chronique d'antidépresseur entraîne des modifications cérébrales qui nécessitent plusieurs semaines, voire plusieurs mois, pour se mettre en place. Dans ce contexte, il apparaît pertinent d'identifier de nouvelles solutions permettant une action plus rapide et plus durable sur les symptômes dépressifs.

Pour ce faire, les approches non pharmacologiques suscitent un intérêt croissant puisqu'elles visent les causes des symptômes comportementaux, apparaissant ainsi comme des alternatives aux traitements pharmacologiques. En effet, on sait aujourd'hui que le style de vie est un facteur de déclenchement de la dépression majeure, et les effets protecteurs d'une alimentation saine, d'une vie sociale riche et de l'exercice physique sur la santé mentale ont été décrits.

Au cours de ce travail de thèse, nous avons examiné si et comment ces éléments environnementaux contribuent à traiter le trouble dépressif lorsqu'ils sont proposés seuls ou combinés à un antidépresseur classique. A l'aide de souris modèle de dépression, nous avons montré que le séjour en environnement enrichi réduit le délai d'action de la venlafaxine. Ensuite nous avons déterminé que l'effet bénéfique de cette combinaison est associé à la désorganisation rapide de la plasticité des interneurones GABAergiques de l'hippocampe, impliquant la matrice extracellulaire qui entoure ces neurones, ainsi que des effets sur la neurogenèse hippocampique adulte. Nous avons également observé que l'arrêt des stimulations environnementales aggrave le phénotype pseudo-dépressif chez les animaux, alors que l'exercice physique combiné avec un traitement antidépresseur induit des effets bénéfiques précoces mais partiels sur le comportement. Dans l'ensemble, nos travaux montrent un effet bénéfique des stratégies thérapeutiques non pharmacologiques et identifient les interneurones GABAergiques à parvalbumine comme une cible pertinente sur laquelle agir pour réduire le délai d'action des antidépresseurs actuellement disponibles sur le marché.

ABSTRACT

Major depressive disorders affect more than 300 million people worldwide. Although pharmacological compounds are available to treat depression, those marketed for this indication have some therapeutic limitations. In particular, all these compounds present a low response rate, a high relapse rate and/or a long onset of action. Indeed, most antidepressants require a long-term treatment before the first therapeutic outcomes, which is a major clinical drawback. Mechanistically, this can be explained by the fact that chronic administration of antidepressants results in brain changes requiring several weeks, or even months, to occur. In this context, it seems relevant to identify new therapies allowing a faster and long-lasting action on depressive symptoms.

To this end, there is growing interest in non-pharmacological strategies that target the causes of behavioral symptoms and thus appear to be alternatives to pharmacological treatments. Indeed, it is known that lifestyle is a triggering factor for major depression, and the protective effects of a healthy diet, rich social life, and physical exercise on mental health have been described.

This PhD work examined whether and how, these environmental elements contribute to treating depressive disorder when proposed alone or combined with a conventional antidepressant. Using a mouse model of depression, we showed that living in an enriched environment reduces the onset of action of venlafaxine. We then determined that the beneficial effect of this combination is associated with a rapid disruption of plasticity of GABAergic interneurons underpinned by the extracellular matrix surrounding these neurons and by regulatory effects on adult hippocampal neurogenesis. We observed in contrast, that the discontinuation of environmental stimuli aggravates the depressive-like phenotype of animals, whereas physical exercise in combination with an antidepressant treatment induces early, but partial, beneficial effects. Overall, our work shows a beneficial effect of non-pharmacological therapeutic strategies and identifies GABAergic parvalbumin interneurons as a relevant target to consider in order to reduce the delay of action of currently available antidepressants.

SOMMAIRE

Table des matières

REMERCIEMENTS *1*

CURRICULUM VITAE *3*

RESUMÉ *5*

ABSTRACT *6*

SOMMAIRE *7*

LISTE DES FIGURES *10*

LISTE DES TABLEAUX *10*

INTRODUCTION *11*

PARTIE 1 : LA DEPRESSION MAJEURE *12*

I. Généralités *12*

I.1 Historique **12**

I.2 Symptomatologie **12**

I.3 Critères et méthodes d'évaluation de l'intensité de la dépression majeure **13**

I.4 Prévalence de la dépression dans la population mondiale **15**

I.5 Facteurs de comorbidité de la dépression **15**

I.6 Étiologie de la dépression **16**

I.6.1 Facteurs génétiques 16

I.6.2 Facteurs environnementaux 17

II. Modélisation de la dépression *18*

II.1 Les critères de validité **18**

II.2 Les principaux modèles animaux de dépression **20**

II.3 Le modèle d'exposition chronique à la corticostérone **21**

II.3.1 Principe du modèle 21

II.3.2 Critère de validité apparente 22

II.3.3 Critère de validité de construction 22

II.3.4 Critère de validité prédictive 25

III. L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien *25*

III.1 Réponse physiologique à un stress aigu **25**

III.2 Altérations associées à la dépression **27**

IV. Altérations anatomo-fonctionnelles associées à la dépression *29*

IV.1 Hypothalamus **29**

IV.2 Cortex préfrontal **30**

IV.3 Amygdale **31**

IV.4 Le striatum ventral **32**

IV.5 L'Hippocampe 32

V. L'altération de la neuroplasticité au cœur de la pathologie dépressive 35

V.1 Définition 35

V.2 La neurogenèse hippocampique adulte 35

V.3 Relation réciproque entre la neurogenèse hippocampique adulte et la dépression 39

V.4 La balance excitation/inhibition 41

V.4.1 Les neurones excitateurs 41
V.4.2 Les neurones inhibiteurs 42
V.4.3 La matrice extracellulaire des interneurones GABAergique PV^+ 44

PARTIE 2 : LES SYSTEMES MONOAMINERGIQUES ET LES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES ANTIDEPRESSIVES 47

I. Les systèmes monoaminergiques 47

I.1 L'hypothèse monoaminergique dans le trouble dépressif 47

I.2 La synapse monoaminergique 47

I.3 Le système sérotoninergique 50

I.4 Le système noradrénergique 53

II. Stratégies thérapeutiques pharmacologiques 54

II.1 Les inhibiteurs de la Monoamine Oxydase (IMAO) 55

II.2 Les tricycliques (TCA) 56

II.3 Les Inhibiteurs Sélectifs de Recapture de la Sérotonine (ISRS) 57

II.4 Les inhibiteurs de recapture de la noradrénaline et les inhibiteurs mixtes de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline 60

II.5 Le cas de la venlafaxine 61

III. Les stimulations non-pharmacologiques : Les stimulations cérébrales 89

III.1 L'électroconvulsivothérapie (ECT) 90

III.2 La stimulation du nerf vague (VNS) 90

III.3 La stimulation cérébrale profonde (DBS) 91

III.4 La stimulation magnétique transcrânienne (TMS) 91

IV. Les traitements non pharmacologiques : l'Enrichissement Environnemental 92

IV.1 Historique 92

IV.2 Impact des conditions d'hébergement en condition physiologique 93

IV.2.1 Impact sur les comportements anxio-dépressif 93
IV.2.2 Impact de l'environnement enrichi sur l'activité de l'axe HPA 96
IV.2.3 Impact de l'environnement enrichi sur la plasticité cérébrale 97
IV.2.4 Modifications des systèmes monoaminergiques 102

IV.3 Enrichissement Olfactif 105

IV.3.1 Liens entre émotion et olfaction 105
IV.3.2 Effets bénéfiques des extraits d'agrumes 107

IV.4 Combinaison de stratégies thérapeutiques 108

OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THÈSE *111*

MATÉRIELS ET MÉTHODES *117*

1. Autorisations à expérimenter **118**

2. Animaux **118**

3. Les différents type d'hébergements **118**

4. Traitements pharmacologiques **120**

5. Chirurgies **122**

6. Mesure de l'activité du système sérotoninergique **123**

7. Évaluation du phénotype de type pseudo-dépressif des souris **124**

8. Analyses cellulaires et moléculaires **130**

9. Analyses statistiques **136**

RÉSULTATS *137*

PARTIE 1 : L'EXPOSITION À UN ENVIRONNEMENT ENRICHIE RÉDUIT LE DÉLAI D'ACTION DES ANTIDÉPRESSEURS : MISE EN ÉVIDENCE DU RÔLE DES INTERNEURONES À PARVALBUMINE **138**

PARTIE 2 : EFFET BÉNÉFIQUE DE L'EXERCICE PHYSIQUE SUR LA RÉPONSE À LA VENLAFAXINE .. **177**

PARTIE 3 : EFFET ANTIDEPRESSEUR D'UN ENRICHISSEMENT OLFACTIF PARTAGEANT DES MÉCANSIMES COMMUNS AVEC LES ANTIDEPRESSEURS **213**

DISCUSSION ET PERSPECTIVES *231*

CONCLUSION *253*

RÉFÉRENCES *255*

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES STRUCTURES NEURONALES IMPLIQUEES DANS LA REPONSE AU STRESS 27
FIGURE 2. DIVISION FONCTIONNELLE DU CORTEX PREFRONTAL HUMAIN 30
FIGURE 3. ORGANISATION ANATOMIQUE DE L'AMYGDALE DE LA SOURIS. 31
FIGURE 4. SCHEMA SIMPLIFIE DU RESEAU HIPPOCAMPIQUE DE SOURIS 33
FIGURE 5. LES DIFFERENTES ETAPES DE LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE ADULTE 36
FIGURE 6. LES DIFFERENTS TYPES D'INTERNEURONES 43
FIGURE 7. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA CONNECTIVITE DES INTERNEURONES A PARVALBUMINE 44
FIGURE 8. STRUCTURE DES PNNS 44
FIGURE 9 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES PRINCIPAUX SYSTEMES MONOAMINERGIQUES CENTRAUX. 47
FIGURE 10. VOIES DE BIOSYNTHESE DES MONOAMINES 48
FIGURE 11. SYNTHESE ET LIBERATION DES MONOAMINES A LA SUITE D'UN POTENTIEL D'ACTION. 49
FIGURE 12 REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU MODE D'ACTION DES ISRS. 59
FIGURE 13 TECHNIQUES DE STIMULATION CEREBRALE. 89
FIGURE 14. REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU SYSTEME OLFACTIF HUMAIN.. 106
FIGURE 15. STIMULATIONS MULTIPLES D'UN ENVIRONNEMENT ENRICHI 119
FIGURE 16. SCHEMAS DES DISPOSITIFS ET TESTS UTILISES AU COURS DE MES TRAVAUX DE THESE 129
FIGURE 17 PRINCIPE IMMUNOHISTOCHIMIE VISIBLE. 131
FIGURE 18. RESUME GRAPHIQUE DE L'ARTICLE 1. 138
FIGURE 19. EFFET DU RETRAIT DE L'EE SUR LE PHENOTYPE PSEUDO-DÉPRESSIF DES ANIMAUX.. 172
FIGURE 20 EFFET DES DIFFERENTES STRATEGIES THERAPEUTIQUES SUR LES PROCESSUS DE NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE APRES 8 SEMAINES DE TRAITEMENT.. 174
FIGURE 21. RESUME GRAPHIQUE DE L'ARTICLE 2 177
FIGURE 22. RESUME GRAPHIQUE DE L'ARTICLE 3. 213
FIGURE 23. CORRELATION ENTRE LES Z-SCORES EMOTIONNEL (A) ET COGNITIF (B) ET LE POURCENTAGE D'INTERNEURONES PV CO-EXPRIMANT LA WFA, ET DONC ENTOURES DE PNN (PV^+/PNN^+) DANS LA REGION CA1 DE L'HIPPOCAMPE DORSAL. 235
FIGURE 24. CONCENTRATIONS EXTRACELLULAIRES DE GLUTAMATE (A) ET DE GABA (B) 238
FIGURE 25. HYPOTHESES MECANISTIQUES CONCERNANT LES LIENS ENTRE LES COMPORTEMENTS EMOTIONNELS, LES PNN ET LES PROCESSUS DE NEUROPLASTICITE HIPPOCAMPIQUES. 251

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1. ÉLEMENTS DE CARACTERISATION DE L'INTENSITE D'UN EDM (SOURCE : AMELI.FR) 14
TABLEAU 2. CORRESPONDANCE DES SYMPTOMES OBSERVES CHEZ LES MODELES RONGEURS AVEC CEUX OBSERVES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE DEPRESSION. 18
TABLEAU 3. PRINCIPAUX MODELES MURINS D'ETUDE DE LA DEPRESSION 20
TABLEAU 4. CLASSIFICATION DES RECEPTEURS 5-HT 52
TABLEAU 5. IMPACT DES CONDITIONS D'HEBERGEMENT SUR LA NHA ET LES MODIFICATIONS MOLECULAIRES ENGENDREES DANS LES MODELES MURINS DE LA DEPRESSION.. 100
TABLEAU 6. LES DIFFERENTES CONDITIONS D'HEBERGEMENT 120
TABLEAU 7. TABLEAU DE L'ORGANISATION DES BATTERIES DE TESTS REALISEES POUR L'OBTENTION DES Z-SCORES 130

INTRODUCTION

PARTIE 1 : LA DEPRESSION MAJEURE

I. Généralités

I.1 Historique

La symptomatologie dépressive est connue depuis l'Antiquité, notamment grâce aux écrits philosophiques et de la littérature. Dès le Vème siècle avant Jésus-Christ (J.C.), le père de la médecine et philosophe, Hippocrate, évoquait déjà le terme « mélancolie » dans ses écrits sur la théorie des humeurs.

La symptomatologie dépressive a parcouru les siècles sous différentes appellations. Ainsi, au 1er siècle avant J.C., le philosophe Sénèque le Jeune introduisit le concept de « Tædium Vitae » (ou fatigue) et des esprits éclairés comme Lucrèce s'exclamèrent : « L'homme est un malade qui ignore la cause de son mal ». Plus tard au Moyen-âge, on retrouve le terme « acedia » traduisant la négligence, le manque de soin qui affecte les moines en proie à l'ennui de la vie monastique, un état qui sera ensuite diabolisé par l'Église. Puis, c'est au cours du XIXème siècle qu'est introduit le concept de « Mal du siècle » par Baudelaire dans son recueil de poèmes « Les fleurs du mal », ou encore par Musset dans sa « Confession d'un enfant du siècle » retranscrivant le mal-être des jeunes adultes élevés dans le matérialisme bourgeois des Lumières.

Enfin, c'est au XXème siècle, avec les débuts de la psychiatrie, que ce « mal » deviendra « maladie » et que la « mélancolie » sera nommée « dépression ». Jusqu'en 1970, la dépression est considérée comme un symptôme pouvant survenir chez tout individu et dans toute pathologie. En 1980, la terminologie de la dépression évolue, et entre dans le DSM-III (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) en tant que maladie à part entière, désormais nommée « trouble dépressif majeur » (ou TDM).

I.2 Symptomatologie

Depuis la nouvelle mise à jour du Manuel de Diagnostic et Statistiques des troubles Mentaux (DSM-V), l'épisode dépressif majeur (EDM), une forme transitoire grave du TDM, est répertorié. L'EDM regroupe une combinaison de symptômes tels que l'humeur dépressive

(sentiment de tristesse, vide, désespoir), l'anhédonie (perte d'intérêt ou de plaisir), la perte ou prise de poids, les troubles de l'appétit, du sommeil (diminution ou augmentation), les troubles psychomoteurs (ralentissement ou agitation), la fatigue, la perte d'énergie, le sentiment d'inutilité, la culpabilité excessive, l'indécision, des idées suicidaires ainsi que des tentatives de suicides.

En effet, pour être posé, le diagnostic d'un EDM nécessite la présence de 4 critères : (1) la manifestation quasi journalière, durant deux semaines consécutives, de cinq symptômes ou plus, parmi lesquels on trouve l'humeur dépressive ou l'anhédonie, (2) les symptômes doivent causer une altération cliniquement évidente de détresse, et représenter un changement marqué du fonctionnement social ou professionnel, (3) les symptômes ne doivent pas être liés à des troubles médicaux, ni à la consommation de substances psychotropes, ni à un deuil, et enfin, (4) les symptômes ne doivent pas répondre aux critères d'un épisode mixte, correspondant à un état dépressif où coexistent des symptômes de la lignée maniaque (American Psychiatric Association, 2013).

I.3 Critères et méthodes d'évaluation de l'intensité de la dépression majeure

L'épisode dépressif caractérisé (EDC) peut être qualifié selon 3 niveaux d'intensité (1) : léger, modéré ou sévère, en fonction du nombre et de l'intensité des symptômes et du degré de dysfonctionnement du patient dans ses activités sociales et professionnelles (Tableau 1).

Des échelles d'autoévaluation (par le patient lui-même), ou d'hétéro-évaluation (par le médecin), permettent d'évaluer plus précisément la sévérité de ces symptômes. Les hétéro-évaluations, réalisées par les médecins, reposent principalement sur l'échelle Hamilton (*HDRS : Hamilton Depression Rating Scale*) développée et utilisée depuis les années 1950 pour évaluer initialement l'efficacité de la première génération des traitements antidépresseurs dans les essais cliniques (Hamilton, 1960). Cette échelle, utilisée uniquement pour les patients chez lesquels le diagnostic d'un EDC a préalablement été établi, permet d'évaluer les niveaux de sévérité de la maladie. Une autre échelle permet de mesurer les changements de l'état dépressif de sujets traités par antidépresseurs. Il s'agit de l'échelle d'évaluation de la dépression de Montgomery et Åsberg (*MADRS : Montgomery Asberg Depression Rating Scale*)(Montgomery and Asberg, 1979), qui est également utilisée en autoévaluation où elle donne des résultats proches de ceux obtenus par les médecins (Cunningham et al., 2011).

Parmi les autres échelles d'autoévaluation les plus utilisées, on compte le questionnaire sur la santé du patient (*PHQ-9 : Patient Health Questionnaire*) développé en 1999 (Spitzer et al., 1999), l'Inventaire de dépression de Beck (*BDI : Beck Inventory Depression*) initialement publié en 1960 et l'inventaire rapide d'auto-évaluation de la symptomatologie de la dépression (*QIDS-SR Quick Inventory of Depressive Symptomatology Self-Report*) publié en 1996 (Rush et al., 2003).

Ces différentes échelles existent sous plusieurs versions, comprenant un nombre variable d'items selon les populations concernées, les domaines évalués (cognitif, affectif, symptômes somatiques et végétatifs et le stade de prise en charge de la pathologie. En effet, certaines échelles sont plus adaptées au dépistage d'un EDC, à la mesure de son intensité ou encore à l'évaluation de la variation d'intensité en réponse à un traitement antidépresseur (Furukawa, 2010).

Impact de l'EDC selon son intensité		
Intensité de l'épisode dépressif caractérisé	Nombre de symptômes CIM-10	Retentissement sur le mode de fonctionnement du patient
Léger	• 2 symptômes dépressifs principaux • 2 autres symptômes dépressifs	Quelques difficultés se manifestent pour poursuivre les activités ordinaires et les activités sociales (mais celles-ci peuvent être réalisées avec un effort supplémentaire).
Modéré	• 2 symptômes dépressifs principaux • 3 à 4 autres symptômes dépressifs	Le dysfonctionnement pour les activités se situe entre ceux précisés pour l'épisode léger et l'épisode sévère.
Sévère	• 3 symptômes dépressifs principaux • au moins 4 autres symptômes dépressifs	Les symptômes perturbent nettement les activités professionnelles, les activités sociales courantes ou les relations avec les autres : par exemple difficultés considérables voire une incapacité à mener un travail, les activités familiales et sociales.

Tableau 1. Éléments de caractérisation de l'intensité d'un EDM (Source : Ameli.fr)

I.4 Prévalence de la dépression dans la population mondiale

Au niveau mondial, le TDM est sans doute le problème de santé mentale le plus répandu et qui engendre le plus de perte de force mentale et physique (débilitant) (Kaltenboeck and Harmer, 2018). De nos jours, et selon l'organisation mondiale de la santé, plus de 300 millions de personnes souffrent de dépression dans le monde (OMS, 2021), ce qui en fait une des causes majeures d'invalidité (Planchez et al., 2019). Des études épidémiologiques montrent que les femmes sont deux fois plus touchées que les hommes par cette pathologie psychiatrique (Sramek et al., 2016 ; Weissman et al., 1993 ; Weissman & Klerman, 1977).

Du fait de son intensité modérée à sévère, la dépression peut devenir une maladie grave, capable d'altérer la vie professionnelle et sociale de la personne atteinte. Dans le pire des cas, la dépression peut conduire au suicide. En effet, on estime que le TDM est le trouble mental le plus fréquemment associé au suicide, puisqu'il représente plus de la moitié des cas recensés (Li et al., 2020). Chaque année, on dénote près de 800 000 suicides liés à cette pathologie psychiatrique à travers le monde (rapport OMS, 2012), le suicide étant la deuxième cause de mortalité chez les 15-29 ans.

I.5 Facteurs de comorbidité de la dépression

Il existe de nombreux facteurs de comorbidité pouvant interagir avec le développement du TDM. Ces comorbidités sont de nature psychiatrique (Kessler et al., 2003), tels que les troubles anxieux : trouble d'anxiété sociale, agoraphobie, syndrome de stress post-traumatique. Plus de 60% des patients souffrant d'un trouble anxieux développeront une dépression et, à l'inverse, plus de 15% des patients dépressifs développeront un trouble anxieux (Murphy et al., 2004). Les autres comorbidités psychiatriques incluent les troubles impulsifs (trouble obsessionnel compulsif, boulimie, addiction aux jeux d'argent), ou encore les troubles liés à la consommation de substances d'abus et d'alcool (Friedman, 2012). Il existe également des comorbidités d'origine neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, de Parkinson ou encore de Huntington (Galts et al., 2019), ainsi que des maladies neurologiques comme l'épilepsie (Błaszczyk and Czuczwar, 2016).

Certaines pathologies non psychiatriques ayant pour origine le dysfonctionnement d'un organe périphérique, peuvent également favoriser l'apparition de TDM. Ainsi, les affections

chroniques comme les maladies cardiovasculaires, le diabète ou des affections pulmonaires sont des comorbidités de la dépression, et un lien bidirectionnel entre la dépression et ces pathologies a été démontré (Bogner et al., 2007; Ducat et al., 2014; Whooley et al., 2008). Enfin, certaines maladies hormonales telles que la maladie de Cushing ou l'hypothyroïdie sont également associées au TDM (Bratek et al., 2015; Fugger et al., 2018).

La pléiade de facteurs de comorbidités associés au TDM rend difficile son traitement ainsi que son étude. Déterminer les causes et/ou les conséquences de ce trouble constituent donc un enjeu de santé majeur.

I.6 Étiologie de la dépression

I.6.1 Facteurs génétiques

De nombreux travaux ont clairement établi le caractère héréditaire de la dépression, suggérant que certains gènes seraient responsables de l'apparition ou de la prédisposition à développer un TDM. En effet, il a été montré que les descendants de parents souffrant de dépression présentent un risque trois à quatre fois plus élevé de développer un large éventail de troubles mentaux, avec des problèmes de santé, d'éducation et y compris un risque accru de suicide que les personnes nées de parents non déprimés (Avenevoli and Merikangas, 2006; Thapar et al., 2012).

Dans la population, certains polymorphismes génétiques ont été identifiés comme possiblement corrélés à une vulnérabilité accrue à la dépression majeure. En particulier, le gène du transporteur SERT de la sérotonine (5-HT) a été l'objet de nombreuses études au début des années 2000 (Caspi et al., 2003). Le promoteur de ce gène peut se présenter sous une forme longue ou courte, et la comparaison des populations porteuses ou non de la mutation génétique montre qu'en cas d'exposition à des évènements de vie stressants, les individus possédant une ou deux copies de l'allèle court développent davantage de symptômes dépressifs ou de tendances suicidaires que les individus homozygotes porteurs de l'allèle long. Cependant, de nombreux polymorphismes géniques ont été également associés au trouble dépressif (pour revue (Flint and Kendler, 2014), soulignant ainsi l'importance de la composante génétique de la dépression. La recherche de gènes de susceptibilité est

primordiale afin d'anticiper l'apparition éventuelles EDC et ainsi identifier des personnes dites « à risque ».

I.6.2 Facteurs environnementaux

Les facteurs externes prédisposant ou déclencheurs de la pathologie incluent potentiellement tous les événements de la vie. L'exposition à un niveau de stress élevé, les antécédents de maltraitance pendant l'enfance (violence psychologique, physique, sexuelle ou négligence) sont considérés comme des facteurs de risque, prédisposant à la survenue précoce et répétée d'EDC persistants (Thompson and Kaplan, 1996; Nanni et al., 2012). De plus, les événements stressants de la vie socio-économique tels que la perte d'un emploi, la perte d'un être cher ou encore une pandémie mondiale sont aussi des facteurs favorisant le développement de la dépression (Keers and Aitchison, 2010; Sinanović et al., 2020). L'abus de substances comme l'alcool ou les psychotropes, sont également des facteurs environnementaux associés à la dépression (Grant and Harford, 1995; Friedman, 2012). Par ailleurs, l'évolution des technologies et l'avènement d'internet ces deux dernières décennies, constituent de nouveaux facteurs environnementaux pouvant mener à une dépression. En effet, l'accès facilité à un grand nombre d'informations et de distractions via internet a augmenté la sédentarité, entrainant davantage de cas d'obésité ou autres pathologies métaboliques (Althoff et al., 2016). Or on sait aujourd'hui que ces troubles métaboliques sont étroitement liés à la dépression (Mansur et al., 2015). Ainsi l'alimentation, mais aussi le manque d'activité physique, sont des facteurs favorisant le développement de troubles dépressifs (Lopresti et al., 2013).

Malgré la nouvelle définition des EDM dans le DSM-V, de nombreuses erreurs de diagnostic persistent du fait de la complexité de cette pathologie psychiatrique qui s'exprime différemment d'un individu à l'autre, notamment en termes d'intensité des épisodes dépressifs et de leur symptomatologie. Ainsi, l'erreur de diagnostic, peut conduire des personnes dépressives à ne pas recourir aux soins, et inversement, d'autres individus, non affectés par la dépression, se voient prescrire des antidépresseurs. A cela s'ajoute le manque de ressources, la pénurie de personnel soignant et la stigmatisation sociale. C'est ainsi que seulement la moitié des personnes affectées par la dépression bénéficie des traitements

actuellement disponibles. Dans ce contexte, il est urgent de trouver des solutions permettant d'améliorer la prise en charge des patients dépressifs, depuis le diagnostic jusqu'à la rémission complète. Pour cela, une meilleure compréhension de la pathologie est nécessaire et passe par l'étude aussi bien clinique que préclinique, avec des modèles animaux, de cette pathologie.

II. Modélisation de la dépression

II.1 Les critères de validité

De nombreux modèles animaux ont été développés pour étudier les mécanismes physiopathologiques de la dépression et tester de nouvelles stratégies thérapeutiques. Cependant, la complexité de ce trouble rend difficile sa modélisation. Différents critères ont été définis pour estimer la validité d'un modèle animal, notamment pour l'étude des maladies neuropsychiatriques. A l'heure actuelle, 3 critères sont utilisés (McKinney and Bunney, 1969), ils incluent la validité apparente, étiologique et prédictive.

La validité apparente ou « face validity » : Ce critère est atteint lorsque de fortes similitudes symptomatologiques sont observées entre le modèle animal et la pathologie humaine. Les dysfonctionnements peuvent se manifester au niveau comportemental ou être de nature biochimique ou anatomique.

La validité étiologique ou « construct validity » : C'est le critère le plus compliqué à valider car il requiert que les symptômes observés dans le modèle animal soient induits par des mécanismes neurobiologiques similaires à ceux mis en jeu chez le patient, ou qu'ils résultent de constructions psychologiques similaires. Dans le cas de la dépression, la difficulté réside dans le fait que les mécanismes biologiques de cette pathologie ne sont pas encore parfaitement décrits. Il est donc difficile de les prendre tous en compte.

La validité prédictive ou « predictive validity » : Ce dernier critère fait appel à la capacité du modèle à répondre aux traitements cliniquement efficaces, et inversement, à manifester une absence de réponse à un traitement inefficace.

Symptôme associé aux troubles dépressifs chez l'humain	Phénotype chez la souris	Outils d'Évaluation du phénotype
Humeur dépressive	Non modélisable	—
Perte de plaisir et de motivation	Anhédonie	• Test de préférence au sucrose
Trouble du sommeil	Perturbation de l'architecture du sommeil	• Électro-encéphalographie
Agitation ou Ralentissement psychomoteur	Trouble de la locomotion	• Actimétrie • Open Field • Rotarod
Fatigue	Locomotion anormale	• Tapis roulant • Rotarod • Grip test
Trouble cognitif / Indécision	Altérations de la mémoire spatiale et de travail	• Labyrinthe de Barnes • Piscine de Morris • Labyrinthe en Y
Mauvaise estime de soi	Absence de toilettage (incurie)	• Évaluation de l'état général du pelage • Splash Test
Pensée suicidaire	Non modélisable	—
Culpabilité	Non modélisable	—
Anxiété	Comportement anxieux	• Open Field • Labyrinthe en croix surélevé • Test d'enfouissement • Alimentation supprimée par la nouveauté • Dark-Light test
Trouble sociaux	Altération de la sociabilité	• Test 3 chambres • Sociabilité • Préférence pour la nouveauté sociale
Désespoir	Résignation	• Test de suspension caudale • Nage forcée • Impuissance acquise
Gain ou Perte de poids	Identique à l'humain	• Pesée

Tableau 2. Correspondance des symptômes observés chez les modèles rongeurs avec ceux observés chez les patients atteints de dépression.

Idéalement, un bon modèle animal de la dépression humaine doit remplir, autant que possible, les critères précédemment décrits. A ce jour, les modèles animaux disponibles n'atteignent pas cet objectif en raison de la complexité du trouble à modéliser (Czéh et al., 2016). Notamment, certains symptômes principaux tels que le sentiment de culpabilité ou encore les pensées récurrentes de mort et de suicide sont difficiles, voire impossible à évaluer chez l'animal de laboratoire (Tableau 1 & 2). Ainsi, la majorité des modèles utilisés sont

validés par l'action bénéfique d'antidépresseurs, ou par les réponses au stress (Nestler et al., 2002). A l'instar des patients qui ne manifestent pas tous les mêmes symptômes, la nécessité, pour un modèle animal de dépression, de présenter toutes les anomalies comportementales liées à la dépression, est discutable. Cette partie du manuscrit présente une liste non exhaustive des principaux modèles murins de la dépression décrits dans la littérature. Le modèle induit par l'exposition chronique à la corticostérone utilisé dans mon travail de recherche fera l'objet d'une description plus détaillée.

II.2 Les principaux modèles animaux de dépression

Chez l'humain, les évènements stressants de la vie sont étroitement associés à l'apparition d'épisodes dépressifs (Kendler et al., 1999). C'est pourquoi la plupart des modèles animaux de dépressions actuellement disponibles sont basés sur l'administration d'un stress physique et/ou psychosocial, au cours de la période de développement (périnatal/précoce), ou à l'âge adulte. Ceci engendre un phénotype de type anxio-dépressif chez l'animal (Tableau 3). C'est le cas des modèles de stress précoces, avec en particulier, le modèle de séparation maternelle, le modèle de stress chronique imprévisible (UCMS), le modèle de défaite sociale ou encore le stress chronique de contention (CRS pour « Chronic Restraint Stress »). Au cours de ma thèse, j'ai utilisé le modèle d'exposition chronique à la corticostérone (équivalent du cortisol chez l'humain), que je décris donc plus précisément dans la partie suivante.

Modèle animal	Caractéristiques	Principales observations pour les 3 critères	Références
Stress Précoce	Principal modèle : Séparation maternelle	• **Face :** Altération durable de l'état cognitif et émotionnel mais absence d'anhédonie • **Construct :** Altération de la plasticité et de l'axe HPA • **Predictive :** Absence d'effet des antidépresseurs	*Tractenberg, 2016 ; Vetunali, 2013*
Stress chronique imprévisible (UCMS)	Exposition à une série de stress aléatoires	• **Face :** Altération robuste et durable de l'état émotionnel • **Construct :** Altération neurochimiques, de la plasticité et de l'axe HPA • **Predictive :** Réponse aux traitements *Grande variabilité des protocoles de stress*	*Nollet et al., 2013 ; Eliwa et al., 2021 ;*
Stress de défaite sociale	Exposition dans cage d'hébergement d'une souris résidente agressive	• **Face :** Altération robuste et durable de l'état émotionnel • **Construct :** Altérations neurochimiques et des neurotrophines • **Predictive :** Réponse aux traitements *Différence d'agressivité selon le sexe*	*Berton et al., 2006 ; Golden et al., 2011*
Impuissance acquise (LH)	Exposition à des chocs électriques au niveau des pattes	• **Face :** Altération robuste et durable de l'état émotionnel • **Construct :** Altération de la plasticité et de l'axe HPA • **Predictive :** Faible réponse aux traitements avec des effets rapides des antidépresseurs *Permet de discriminer les animaux résilients et vulnérables*	*Choubaji et al., 2005; Kim et al., 2016 ; Ramaker et Dulawa, 2017*
Stress de contention (CRS)	Maintien des animaux dans un tube de contention pendant 2 heures	• **Face :** Altération de l'état émotionnel • **Construct :** Altération de la plasticité et de l'axe HPA • **Predictive :** Faible réponse aux traitements avec des effets rapides des antidépresseurs	*Yun et al., 2010 ; Son et al., 2019 ; Lin et al., 2021*

Tableau 3. Principaux modèles murins d'étude de la dépression

II.3 Le modèle d'exposition chronique à la corticostérone

II.3.1 Principe du modèle

L'hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (« axe HPA » pour *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*) est l'une des altérations les plus décrites chez les patients atteints de dépression, ainsi que chez les rongeurs modèles de la pathologie (Gourley et al., 2008; Fiksdal et al., 2019; Jia et al., 2019). Ce phénotype dépressif est fréquemment accompagné de perturbations du taux plasmatique de corticostérone (CORT) chez l'animal, considéré comme un indicateur de stress (Ardayfio and Kim, 2006). Comme nous le décrirons dans la partie suivante (Partie 1 - section III), les corticostéroïdes sont libérés suite à l'activation de l'axe HPA, en réponse à un stress aigu. Les corticostéroïdes, et plus particulièrement les glucocorticoïdes, vont permettre d'élaborer une réponse physiologique, via la mise en place d'une rétroaction inhibitrice permettant de ramener l'activité de l'axe HPA à l'état basal. Au contraire, en conditions pathologiques d'exposition chronique à un évènement stressant, des quantités importantes et continues de corticostérone sont libérées en raison de la levée de ce « feedback inhibiteur », ce qui résulte en la désensibilisation des récepteurs GR aux glucocorticoïdes. Cette hyperactivité de l'axe HPA conduit alors à une libération incontrôlée d'hormone de stress, entraînant des altérations anatomo-fonctionelles au niveau cérébral. Sur la base de ces observations, la CORT est considérée comme un marqueur biochimique de la dépression, mais cette hormone est surtout utilisée comme un outil pharmacologique permettant d'induire des comportements de type anxio-dépressifs chez l'animal, notamment chez le rongeur.

Ainsi, un modèle murin de dépression largement utilisé est basé sur l'administration répétée de CORT. Différents protocoles peuvent être utilisés au cours desquels la durée d'exposition, la dose, ou la voie d'administration de la CORT peuvent varier. L'administration de CORT peut avoir lieu *per os* (dans l'eau de boisson) (David et al., 2009), par voie parentérale (intrapéritonéale, i.p.) (Murray et al., 2008) ou encore au moyen d'implants sous-cutanés de pellets de CORT (Demuyser et al., 2016). Au cours de ma thèse, nous avons utilisé le modèle d'exposition chronique à la CORT (35 µg/mL) via l'eau de boisson, durant 8 semaines (David et al., 2009; Guilloux et al., 2011). Nous avons aussi eu recours au modèle d'administration de CORT par implantation sous-cutanée de pellet de CORT (Coutens et al., 2020). Il est intéressant de noter que le modèle par exposition chronique à la CORT durant 8 semaines

dans l'eau de boisson valide les critères énoncés ci-dessus, et apparaît donc comme un bon modèle de la pathologie.

II.3.2 Critère de validité apparente

Concernant le critère de « face validity », de nombreux symptômes mesurables chez le rongeur sont retrouvés dans ce modèle, telle qu'une augmentation de l'anxiété (David et al., 2009; Yohn et al., 2020), une augmentation de l'incurie (David et al., 2009), des déficits d'apprentissage (Darcet et al., 2014) ou encore des perturbations de l'architecture du sommeil (Le Dantec et al., 2014). À cela s'ajoute également un gain de poids associé à une augmentation de la consommation de nourriture et de boisson (David et al., 2009). L'anhédonie a également été caractérisée dans ce modèle après 8 semaines d'exposition (Bacq et al., 2012). Ces données suggèrent que le modèle d'exposition à la CORT possède une solide validité apparente. Cependant, ce modèle semble présenter un effet dépendant du sexe. En effet, Mekiri et ses collaborateurs ont testé différentes doses de CORT dans l'eau de boisson (7, 35 et 70 µg/ml) chez des souris C57BL6 femelles, et ont constaté que les femelles ne sont pas affectées par de faibles ni par de fortes doses de cette hormone. Au contraire, à la dose optimale de 35 µg/ml, les femelles présentent une réponse émotionnelle atténuée par rapport aux souris mâles (Mekiri et al., 2017).

II.3.3 Critère de validité de construction

Ce critère est également validé dans le modèle CORT car il repose sur l'altération de l'axe HPA. En effet, les animaux exposés à la CORT présentent une dérégulation de l'activité de l'axe HPA semblable à celle observée chez les patients atteints de dépression (David et al., 2009). Par ailleurs, ce modèle induit des altérations neurobiologiques, également retrouvées chez les patients souffrant de dépression majeure et pouvant être à l'origine des symptômes observés. Par exemple, plusieurs études soulignent l'impact de la CORT sur l'activité des systèmes monoaminergiques. Concernant le système sérotoninergique, il a été montré chez le rongeur par microdialyse intracérébrale, qu'une exposition aigue à la CORT induit une augmentation des concentrations extracellulaires de 5-HT dans l'hippocampe ventral (Barr and Forster, 2011) , ce qui résulterait de l'expression accrue de la tryptophane hydroxylase,

l'enzyme de synthèse de la 5-HT (Malek et al., 2007). De prime abord, ces résultats semblent incompatibles avec une diminution de la neurotransmission sérotoninergique associée au trouble dépressif. Pourtant, il paraît possible de les réconcilier avec certaines observations comportementales. Par exemple, l'activation des récepteurs 5HT2A et 5HT2C de l'amygdale à l'aide d'agonistes tels que le métachlorophénylpipérazine (mCPP) et 6-chloro-2-(1-piperazinyl)pyrazine (MK-212), induit une augmentation de l'anxiété (de Mello Cruz et al., 2005; Sant'Ana et al., 2019) alors que l'inactivation génétique de ces récepteurs produit une anxiolyse (Weisstaub et al., 2006; Heisler et al., 2007). Ainsi, après une exposition aiguë à la CORT, l'effet pro-sérotoninergique de cette hormone serait favorable à l'apparition de comportements anxieux. De plus, il semble que l'exposition chronique à la CORT n'interfère pas avec l'activité des neurones sérotoninergiques du noyau du raphé dorsal (« DRN », pour dorsal raphe nucleus) (Fairchild et al., 2003; Rainer et al., 2012). Cet aspect distingue ce modèle des autres modèles de stress, comme le modèle d'UCMS par exemple (Bambico et al., 2009). Clairement, les effets de l'exposition chronique à la CORT sur le système sérotoninergique restent à être précisés.

Au niveau des autres systèmes monoaminergiques, on note que l'exposition chronique (21 jours) à la CORT induit de l'anxiété et de l'anhédonie. Ces comportements sont associés à l'augmentation de la dopamine bêta-hydrolylase (DBH), l'enzyme responsable de la conversion de dopamine (DA) en noradrénaline (NA)) dans le Locus coeruleus (LC) et à l'augmentation de l'expression du transporteur à la noradrénaline (« NET ou NAT » *pour norepinephrine transporter*) dans l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal (Fan et al., 2014). Il semble donc que la synthèse de NA, ainsi que son renouvellement, augmentent en cas d'exposition chronique à la CORT. Les effets d'une exposition prolongée à la CORT (25mg/kg/jour, s.c ; 7 jours) sur la biosynthèse et le renouvellement de la dopamine dans le noyau accumbens (NAc) et le cortex préfrontal ont été évalués chez des rats, par microdialyse intracérébrale. Les résultats indiquent que la CORT inhibe la synthèse et le renouvellement de la DA dans le NAc mais pas dans le cortex préfrontal (Pacak et al., 2002). Ainsi, l'inhibition du système dopaminergique induite par la CORT dans le NAc pourrait expliquer les symptômes dépressifs tels que l'anhédonie chez les patients souffrant d'hypercortisolémie (Pacak et al., 2002).

Des altérations anatomiques liées à une exposition prolongée à la CORT ont également été décrites. Celles-ci rappellent celles décrites chez les patients déprimés (Partie 1 - section IV).

En particulier, l'exposition chronique à la CORT induit une modification des connections synaptiques dans le cortex préfrontal médian (Wellman, 2001; Seib and Wellman, 2003), l'hippocampe (Sousa et al., 2000; Southwick et al., 2005), et l'amygdale (Mitra and Sapolsky, 2008). L'exposition à la CORT affecte le volume (Cerqueira et al., 2005) et l'architecture neuronale du cortex préfrontal (Wellman, 2001; Seib and Wellman, 2003). La CORT a également des répercussions importantes dans l'hippocampe puisqu'il a été montré que cette hormone était responsable d'une atrophie de l'arborisation dendritique des régions CA1 et CA3 de l'hippocampe (Magariños et al., 1998; Morales-Medina et al., 2009). En revanche, la CORT produit des effets opposés dans l'amygdale où l'administration aigüe de CORT entraîne une hypertrophie des neurones pyramidaux alors que cela n'est pas observé après un traitement chronique (i.e. 10 et 21 jours) (Mitra and Sapolsky, 2008; Morales-Medina et al., 2009). L'hypertrophie observée chez l'animal peut être comparée à l'augmentation des volumes amygdaliens identifiés chez l'humain. En effet, une étude par IRM (imagerie par résonnance magnétique) montre une augmentation de certaines sous-structures amygdalienne chez des patients dépressifs, par rapport aux sujets contrôles (Roddy et al., 2021).

Un autre processus de plasticité cérébrale fortement régulé par la CORT est la neurogenèse hippocampique adulte (Partie 1 - section V). En effet, l'exposition chronique à la CORT réduit la prolifération cellulaire dans le gyrus denté de l'hippocampe et cet effet est contrecarré par les antidépresseurs (Murray et al., 2008; David et al., 2009; Fenton et al., 2015; Pazini et al., 2017) De plus, l'exposition à la CORT par voie sous-cutanée réduit la survie des nouveaux neurones (Meyer et al., 2006; Brummelte and Galea, 2010; Fenton et al., 2015), qui reste inchangée lorsque la CORT est administrée dans l'eau de boisson (David et al., 2009; Mekiri et al., 2017). Ceci révèle l'importance de la voie d'administration de la CORT sur les effets neurogéniques de la CORT. Enfin, la CORT agirait également sur la prolifération cellulaire et sur la maturation des nouveaux neurones de l'hippocampe. En effet, l'arborisation dendritique des cellules granulaires immatures qui survivent dans le DG de rats traités à la CORT est moins complexe alors que la complexité dendritique des cellules granulaires matures reste inchangée (Lussier et al., 2013; Chan et al., 2017). Plusieurs études ont aussi montré que la CORT altère le devenir des cellules nouvellement formées, en diminuant le nombre de cellules s'engageant dans la différenciation neuronale (Wong and Herbert, 2006).

II.3.4 Critère de validité prédictive

La littérature montre que de nombreuses classes d'antidépresseurs sont efficaces pour restaurer les déficits comportementaux du modèle CORT. Par exemple, un traitement chronique de 3 semaines à la fluoxétine (18 mg/kg), un inhibiteur sélectif de la recapture de sérotonine (ISRS), est capable de contrecarrer les effets délétères de la CORT sur l'anxiété, la résignation ou l'incurie (David et al., 2009). Les autres classes d'antidépresseurs, notamment les tricycliques (TCA) ont également des effets bénéfiques dans ce modèle. C'est le cas de l'imipramine qui possède des effets anxiolytiques (David et al., 2009), les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la noradrénaline tels que la réboxétine (IRN), efficaces dans la tâche de résignation (David et al., 2009), et la venlafaxine, un inhibiteur mixte de la recapture de 5-HT et de NA (IRSN), qui diminue l'anxiété et rétablit la préférence au sucrose dans un test mesurant l'anhédonie (Bacq et al., 2012; Alaiyed et al., 2020a). Les antidépresseurs non conventionnels, tels que la kétamine, atténuent les effets pro-dépresseurs de la CORT (Brachman et al., 2016).

L'ensemble de ces données indique que le modèle CORT est un modèle adapté à l'étude de la pathologie dépressive. Bien qu'il présente certains défauts, comme l'absence de diminution du tonus sérotoninergique, ce modèle répond en grande partie aux critères de validité et repose sur l'hyperactivité de l'axe HPA comme c'est le cas dans la pathologie humaine.

III. L'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

III.1 Réponse physiologique à un stress aigu

En conditions physiologiques, un stress physique ou psychosocial va solliciter de nombreux systèmes endogènes afin d'apporter une réponse de l'organisme appropriée, notamment grâce à l'axe HPA (Figure1). En effet, l'activation de l'axe HPA constitue un mécanisme nécessaire à la mise en place de réponses comportementales, autonomes et endocrines adaptées permettant à l'organisme de résister. À la suite d'un stimulus stressant, les cellules sécrétrices du noyau paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus libèrent la corticolibérine

(CRH ou CRF). À son tour, la CRH stimule la synthèse et la libération d'adrénocorticotropine (ACTH) par l'hypophyse, qui se retrouve alors dans la circulation sanguine. L'ACTH se fixe à son récepteur (récepteurs de la mélanocortine de type 2) exprimé par les glandes surrénales. Ceci induit la synthèse et la sécrétion dans la circulation sanguine de corticostéroïdes – ou glucocorticoïdes (GCs) (respectivement cortisol et corticostérone chez l'humain et le rongeur) (Spencer and Deak, 2017).

Les GCs agissent sur leurs tissus cibles en se liant à 2 types de récepteurs majoritairement nucléaires situés en périphérie et dans le cerveau. Ainsi, les GCs se fixent aux récepteurs aux glucocorticoïdes (GR) nucléaires et aussi aux récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR) membranaires. Dans le cerveau, les MR sont majoritairement situés dans l'hippocampe et l'amygdale, tandis que les GR sont ubiquitaires (Joëls et al., 2008). Lorsqu'ils sont secrétés en faible quantité, les GCs se lient majoritairement aux MR *(affinité 10 fois supérieure à celle des GR)* alors que la saturation des GR n'a lieu que lors de l'hypersécrétion des GCs (à la suite d'un stress) (Reul and de Kloet, 1985).

En réponse à un stress aigu, l'augmentation de la concentration de GCs exerce un rétrocontrôle négatif sur l'axe HPA. En effet, les GCs vont se lier aux GR au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse entrainant une inhibition de la libération de CRH et d'ACTH. Ces substances exercent alors des effets rétroactifs négatifs sur l'axe HPA (Smith and Vale, 2006). L'hippocampe est aussi impliqué dans la régulation par rétroaction négative des GCs sur l'axe HPA. L'hippocampe contient une forte concentration de GR et de MR, et la perfusion de GCs dans cette structure réduit leur libération basale ou induite par un stress aigu d'hormones de stress (Jacobson and Sapolsky, 1991; Diorio et al., 1993). L'amygdale, et plus particulièrement son noyau basolatéral (« BLA » pour *basolateral amygdala*), régule également de manière négative les réponses comportementales et physiologiques liées au stress (Bhatnagar et al., 2004).

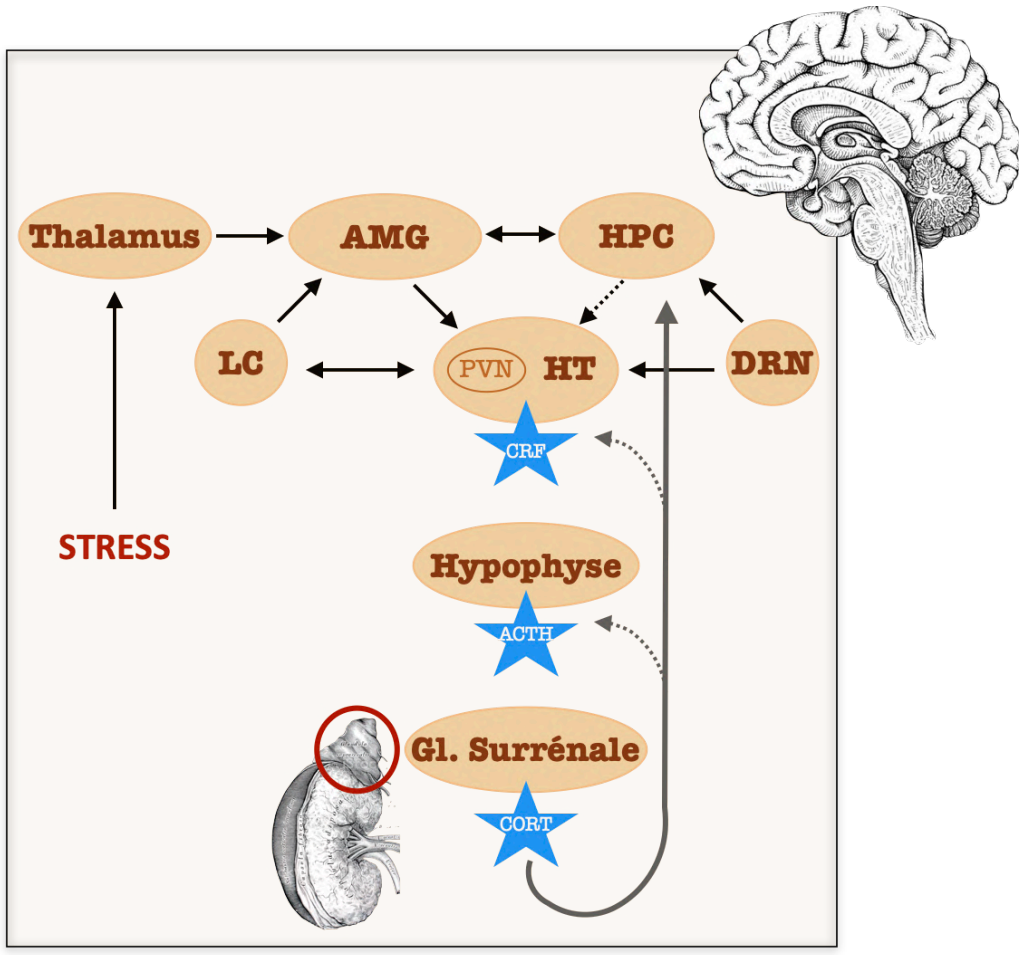


Figure 1. Représentation schématique des structures neuronales impliquées dans la réponse au stress. Les informations liées au stress sont perçues le thalamus. L'amygdale (AMG) reçoit une entrée directe du thalamus. L'amygdale participe à l'activation de l'axe HPA par le biais de projections stimulantes vers le noyau paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus (HT), ce qui entraîne la synthèse et la libération du CRH, lequel stimule la libération d'ACTH par l'hypophyse. Cette dernière stimule à son tour la libération de glucocorticoïdes par les glandes surrénales, en particulier le cortisol. Le cortisol exerce une rétroaction négative au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse, ainsi que par l'intermédiaire de l'hippocampe (HPC), qui exerce un effet inhibiteur sur l'axe HPA. L'activation de l'axe HPA est également régulée par la NA, par l'intermédiaire des projections du locus coeruleus (LC), et par la sérotonine (5-HT), par l'intermédiaire des projections le noyau du raphé dorsal (DRN). Les deux systèmes monoaminergiques participent à la régulation de la réponse au stress par des connexions avec l'amygdale et l'hippocampe, exerçant ainsi des effets régulateurs sur les deux structures limbiques. L'amygdale est également impliquée dans l'activation de la composante autonome de la réponse au stress par le biais des entrées de CRH dans le locus coeruleus. Les lignes pleines indiquent les entrées stimulantes, tandis que les lignes pointillées indiquent les entrées inhibitrices. ACTH, adreno corticotropin hormone; CORT, cortisol; CRF, corticotropin releasing factor; HPA, hypothalamic pituitary adrenal. D'après (Tafet and Nemeroff, 2016)

III.2 Altérations associées à la dépression

Un stress prolongé sollicitant exagérément l'axe HPA peut conduire à des dysfonctionnements comme ceux observés chez les patients souffrant de dépression (Anacker et al., 2011). En effet, un stress prolongé provoque une augmentation de la

concentration de GCs, conduisant à diminuer la sensibilité des GR dans l'hippocampe. Cette désensibilisation provoque une levée de l'inhibition de l'hippocampe sur l'axe HPA et se traduit par une augmentation des GCs circulants (Wong et al., 2000b; Stetler and Miller, 2011). Plus de 50% des personnes atteintes de dépression présenteraient un dysfonctionnement de cet axe HPA (Pruessner et al., 2003). Dans ces conditions, l'hypersécrétion de CRH ainsi que l'hypertrophie des glandes surrénales et de l'hypophyse sont à l'origine d'une hypercortisolémie et d'une diminution de la capacité de l'organisme à réduire ce dysfonctionnement en réponse à un nouveau stress aigu (Pruessner et al., 2003; Pariante, 2009). On parle alors de phase « d'épuisement ».

L'administration de dexaméthasone, un GC de synthèse, permet de mettre en évidence l'altération du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA chez les patients dépressifs. Chez le sujet sain, la dexaméthasone entraine une diminution de la concentration de CORT, alors que cet effet est absent chez le patient dépressif (Carroll, 1982; Leistner and Menke, 2018). Il a donc été proposé que la perturbation de l'axe HPA est un élément clef de la pathologie dépressive pouvant être utilisé comme outil de diagnostic.

Au niveau préclinique, les modèles de la pathologie basés sur l'application de stress chroniques entrainent des symptômes de type dépressifs associés à une hyperactivité de l'axe HPA. C'est le cas notamment du modèle CORT (Partie 1 - section II.3). L'hypothèse de l'implication de l'axe HPA a fait évoluer la recherche de traitements contre la dépression, qui cible notamment la fonction des GR et la synthèse de cortisol (Holsboer, 2000). Cependant, les traitements ciblant le système des GC se sont jusqu'alors montrés inefficaces (Blasey et al., 2009; Kling et al., 2009) et il reste nécessaire de comprendre les raisons de ces échecs.

Une hypothèse actuelle concernant le mécanisme de la dépression concerne le dysfonctionnement de l'axe HPA, qui conduit à un excès de cortisol (ou corticostérone) circulants. Bien que les effets et les mécanismes mis en jeu en réponse à l'exposition chronique à ces hormones de stress ne sont pas complètement élucidés. Toutefois, les études s'accordent sur la nature des effets délétères de ces hormones sur la morphologie, la fonction et la connectivité des régions cérébrales régulant l'humeur. La partie suivante décrit ces altérations anatomo-fonctionnelles caractéristiques de la pathologie dépressive.

IV. Altérations anatomo-fonctionnelles associées à la dépression

Plusieurs études ont révélé des altérations neuro-anatomiques associées aux TDM notamment au niveau du cortex, de l'hippocampe et de l'amygdale. Ces régions cérébrales jouent un rôle important dans la régulation des troubles cognitifs et émotionnels (sentiment d'inutilité, culpabilité, anxiété). Comme nous l'avons décrit précédemment, l'hypothalamus reçoit des afférences en provenance de ces structures, ce qui lui permet de contrôler de manière fine et intégrée, la réponse au stress. L'hypothalamus est également une structure cérébrale qui régule d'autres comportements fondamentaux pour la survie de l'organisme, tels que l'appétit, la soif, la température corporelle ou les comportements sexuels. Ainsi, les symptômes neurovégétatifs de la dépression (troubles de l'appétit, du sommeil et des comportements sociaux et sexuels) sont également dépendants de cette structure cérébrale.

IV.1 Hypothalamus

L'hypothalamus est situé à la base de l'encéphale, au milieu de la boîte crânienne. Parmi les principaux noyaux on retrouve les noyaux préoptique, paraventriculaire (PVN), supraoptique (SON), suprachiasmatique (SCN) ou le noyau arqué (ARC). L'analyse morphométrique post-mortem de cerveaux de personnes atteintes de troubles dépressifs n'a pas révélé de différences significatives de volume de l'hypothalamus entre les sujets dépressifs et sains (Bielau et al., 2013). En accord avec ces données, une autre équipe a observé que le volume de l'hypothalamus est normal dans les cas de dépression (Dupont et al., 1995). Or, lorsqu'on différencie les patients dépressifs non suicidaires et suicidaires, on constate une réduction du volume hypothalamique dans le groupe de patients non suicidaires, alors que les victimes de suicide montrent des volumes normaux (Bielau et al., 2013). En ce qui concerne les noyaux hypothalamiques et notamment le PVN (lieu des cellules sécrétrices de CRH), il a été constaté que le volume du PVN restait inchangé (Bernstein et al., 1998). Une étude post-mortem a montré une augmentation du nombre de neurones hypothalamiques exprimant la vasopressine et l'ocytocine, une substance impliquée dans les comportements sociaux (Marlin and Froemke, 2017). L'augmentation de cette population de neurones reflèterait l'hyperactivation de l'hypothalamus (Lucassen et al., 1997). De manière intéressante, les neurones à mélatonine, une hormone sécrétée la nuit par l'hypophyse, ont une activité

altérée chez les patients dépressifs, ce qui reflète un dysfonctionnement de l'hypothalamus mais suggère également un lien avec les troubles du sommeil associés au TDM (Rahman et al., 2008).

IV.2 Cortex préfrontal

Le cortex préfrontal (PFC) est la plus grande partie du lobe frontal. Il assure le contrôle des fonctions cognitives les plus élaborées, comme les comportements orientés vers un but, les fonctions exécutives, ainsi que les comportements socio-émotionnels. Le PFC comprend plusieurs subdivisions (Figure 2) : le PFC dorso-latéral (dlPFC), le PFC ventro-latéral, le PFC médial (mPFC) qui peut également être subdivisé en deux selon l'axe dorso-ventral, le cortex cingulaire antérieur (ACC) et le cortex orbitofrontal (OFC).

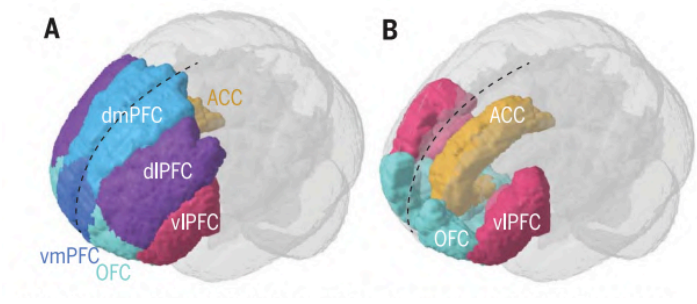


Figure 2. Division fonctionnelle du cortex préfrontal humain. Vue frontale inclinée du cerveau humain avec illustration des divisions fonctionnelles courantes du cortex préfrontal : l'ACC, le cortex cingulaire antérieur ; dlPFC, le cortex préfrontal dorsolatéral ; dmPFC, le cortex préfrontal dorsomédial ; vmPFC, le cortex préfrontal ventromédial ; vlPFC, le cortex préfrontal ventrolatéral ; OFC, le cortex frontal orbital. D'après (Carlén, 2017)

Les études volumétriques du PFC se sont largement concentrées sur l'OFC, le mPFC ainsi que sur l'ACC. Les patients souffrant de TDM montrent un volume cortical plus faible, y compris un volume de matière blanche réduit, dans l'OFC et le mPFC et l'ACC (Drevets et al., 1997; Lai et al., 2000; Caetano et al., 2006; Koolschijn et al., 2009). Ces diminutions des volumes dans les différentes parties du PFC résultent en partie de la perte de cellules gliales ou de l'atrophie neuronale qui est évidente dans les études sur tissus post-mortem (Rajkowska, 2000; Uranova et al., 2004).

Par ailleurs, le métabolisme de l'ACC est augmenté pendant les états dépressifs (Drevets et al., 2002; Kennedy et al., 2001) et est positivement corrélé à la sévérité de la dépression et de l'anxiété (Osuch et al., 2000). Une expérience d'induction de la tristesse chez des sujets sains a montré une augmentation du flux sanguin dans le ACC (Liotti et al., 2000). De plus, l'utilisation d'imagerie par PET-scan (PET, pour tomographie par Émission de Positrons) a

révélé une réduction du métabolisme du dlPFC et de mPFC chez les patients souffrant de TDM (Hurwitz et al., 1990; Kimbrell et al., 2002), ceci est négativement corrélé à une augmentation de la sévérité du trouble psychiatrique (Kimbrell et al., 2002; Chen et al., 2007).

IV.3 Amygdale

L'amygdale est une structure du lobe temporal, formée de plusieurs noyaux situés en avant de l'hippocampe. Sur le plan fonctionnel, les noyaux de l'amygdale sont organisés en trois noyaux principaux : le noyau basolatéral (BLA), central (CeA) et les groupes de cellules corticales de l'amygdale (Figure 3). Fonctionnellement, l'amygdale est essentielle pour détecter le danger ainsi que pour déterminer la valeur émotionnelle des stimuli (Jasnow et al., 2004; Rajmohan and Mohandas, 2007). Les changements structurels et fonctionnels de cette région dans le cadre du TDM ont été l'objet de nombreuses études.

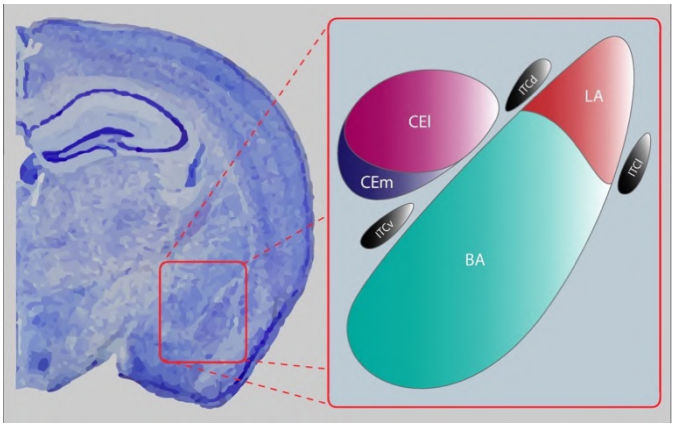


Figure 3. Organisation anatomique de l'amygdale de la souris. Le complexe basolatéral (BLA) est composé des noyaux basal (BA) et latéral (LA). L'amygdale centrale (CeA) est composée des noyaux centromédial (CEm) et centrolatéral (CEl). Les masses cellulaires intercalaires comprennent les groupes dorsal (ITCd), ventral (ITCv) et latéral (ITCl).

L'étude de l'amygdale par neuro-imagerie utilisant l'IRM met en évidence une augmentation du volume chez des patients déprimés par rapport aux sujets sains (van Eijndhoven et al., 2009; Yüksel et al., 2018). Cependant, une partie de la littérature souligne l'absence de différence globale du volume de l'amygdale chez les patients dépressifs (Arnone et al., 2012; Brown et al., 2019). Or, une analyse approfondie, portant sur les sous-régions de l'amygdale (BLA, CeA et noyau cortical), a démontré une nette augmentation des volumes du CeA droit chez les patients dépressifs (Barbier et al., 2018). Le CeA projette principalement vers l'hypothalamus et intervient dans la régulation du stress. Ces résultats suggèrent ainsi que les volumes des sous-régions amygdaliennes seraient altérés dans la dépression. En accord avec ces données anatomiques indiquant une augmentation des volumes amygdaliens, ou de certaines sous-structures, les études fonctionnelles par PET-scan ou d'imagerie BOLD

(« blood-oxygen-level dependent » reflète les variations locales et transitoires de la quantité d'oxygène transporté par l'hémoglobine en fonction de l'activité neuronale du cerveau) ont révélé une augmentation de son activité (Drevets et al., 1992; Sheline et al., 2001; Beauregard et al., 2006).

IV.4 Le striatum ventral

Le striatum est une structure sous-corticale composée de plusieurs noyaux : le noyau caudé, le putamen et le striatum ventral qui comprend principalement le noyau accumbens (NAc) qui est intimement lié au système de récompense (Nestler, 2015). Le système de récompense concerne la voie mésolimbique prenant source au sein de l'aire tegmentale ventral (ATV), où sont localisés les corps cellulaires des neurones dopaminergiques qui projettent préférentiellement dans le NAc. L'altération de cette voie serait à l'origine des symptômes de type anhédonie couramment retrouvés dans la pathologie dépressive. Il est à noter que l'ATV possède également des projections dopaminergiques vers le PFC, l'amygdale et en moindre mesure vers l'hippocampe (Russo and Nestler, 2013). Des études en imagerie anatomique ne montrent soit aucune modification du volume du NAc dans la dépression majeure (Bremner et al., 2000), soit une diminution de son volume (Husain et al., 1991; Whittle et al., 2014). Cependant, les études fonctionnelles s'accordent sur le fait que la dépression majeure réduit l'activité du NAc (Drevets et al., 1992; Mayberg et al., 2000; Pizzagalli et al., 2009), reflétant une diminution de la fonction de récompense, ce qui entraîne des symptômes tels que l'anhédonie. L'hypoactivité du NAc constitue même un facteur prédictif du développement à venir des symptômes dépressifs (Morgan et al., 2013). Des études en PET scan montrent que les patients souffrant de dépression présentent une plus grande disponibilité des récepteurs D2/3 (activité de type inhibitrice) par rapport aux sujets sains, et ceci est corrélé avec la présence de symptômes d'anxiété (Peciña et al., 2017).

IV.5 L'Hippocampe

La formation hippocampique englobe plusieurs structures : le cortex entorhinal (CE), le cortex perirhinal, le gyrus denté (« DG » *pour dentate gyrus*), le subiculum et la corne d'Ammon (CA) qui est elle-même composée des aires CA1 à CA4.

Le DG est composé d'une couche moléculaire externe, d'une couche polymorphe interne (hile), et d'une couche intermédiaire de cellules granulaires dont la partie profonde est appelée la zone sous-granulaire (SGZ) et contient les cellules souches neurales (Amaral et al., 2007; Rajmohan and Mohandas, 2007). Le CE représente l'innervation principale de l'hippocampe (Figure 4) et une importante quantité d'informations provenant des régions néocorticales convergent (voie perforante) vers l'hippocampe pour moduler son activité globale (Schultz and Engelhardt, 2014).

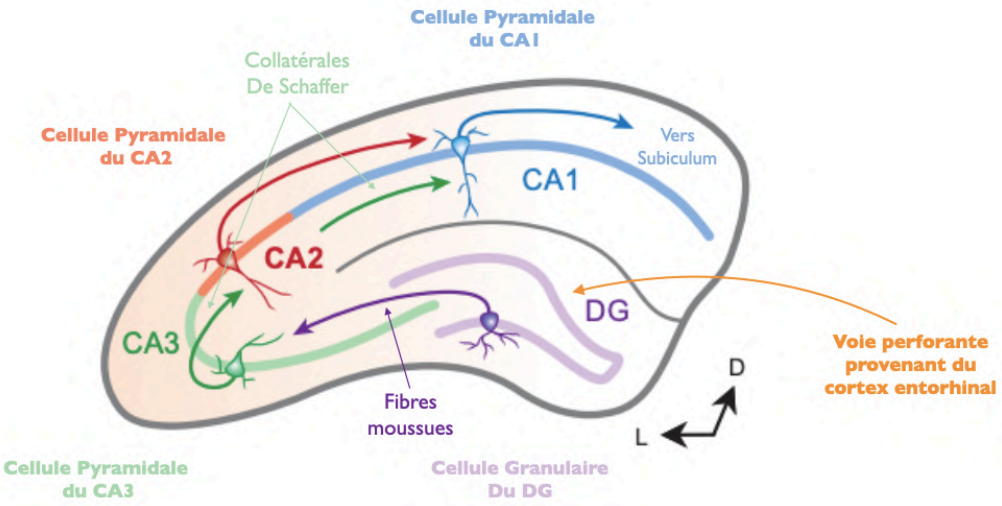


Figure 4. Schéma simplifié du réseau hippocampique de souris illustrant le flux d'informations à travers l'hippocampe. Les flèches indiquent la direction principale du flux d'informations dans le circuit. Schéma adapté d'après (Caruana et al., 2012)

La voie perforante garantit l'entrée des signaux multi-sensoriels à l'hippocampe, via la couche moléculaire du DG contenant les dendrites des neurones granulaires. Ces neurones sont de petites cellules de forme arrondie dont les projections axonales se regroupent pour former les fibres moussues se projetant vers CA3. De là, les axones des neurones pyramidaux de CA3, nommés collatérales de Schaeffer, s'étendent jusqu'aux dendrites des neurones pyramidaux de CA1 et de CA2. Enfin, en tant que sortie excitatrice majeure de l'hippocampe, les projections des neurones pyramidaux CA1 remontent vers le CE directement, ou indirectement via le subiculum, complétant ainsi la boucle CE-hippocampe (Knierim, 2015; Zemla and Basu, 2017).

L'hippocampe est une structure impliquée dans les processus d'apprentissage, de mémorisation, de navigation spatiale et dans les comportements émotionnels (Clark et al., 2018). La partie ventrale de l'hippocampe régule principalement les émotions alors que la

partie dorsale est impliquée dans les fonctions cognitives comme l'apprentissage et la mémoire spatiale (Fanselow and Dong, 2010). Le volume de l'hippocampe est réduit chez les patients dépressifs (Sheline et al., 1996; Jaworska et al., 2016; Joshi et al., 2016). Cette réduction est d'autant plus importante que la durée et le nombre d'épisodes dépressifs sont élevés (Sheline et al., 1996; Espinoza Oyarce et al., 2020). Si la plupart des études portent sur l'hippocampe entier en raison d'une résolution spatiale limitée dans les techniques d'imagerie, certaines études ont pu étudier les sous-structures de l'hippocampe.

Ainsi, il a été observé que les patients dépressifs présentent des volumes significativement plus faibles de certaines sous-régions de l'hippocampe gauche, à savoir le subiculum, les régions CA2, CA3 et le DG ainsi que du subiculum de l'hippocampe droit par rapport aux sujets sains. En revanche, aucune corrélation n'a pu être faite entre les changements de volume de ces sous-régions et la durée de la maladie, le nombre d'épisodes dépressifs, la gravité des symptômes et les performances mnésiques (Han et al., 2016). A l'aide d'un protocole de traçage tridimensionnel, permettant de diviser l'hippocampe en 3 sous-régions (tête, corps, queue), une autre équipe rapporte une réduction significative du volume de l'hippocampe droit (des 3 sous-régions) ainsi que de la queue hippocampique gauche chez les patients dépressifs. De plus, les patients dépressifs sous traitement antidépresseur présentent une augmentation du volume du corps de l'hippocampe par rapport aux témoins sains et aux patients dépressifs non traités (Malykhin et al., 2010).

Ces modifications macroscopiques sont également associées à des altérations observables à l'échelle cellulaire. Une étude post-mortem d'hippocampes issus de patients dépressifs, révèle une augmentation de la densité des cellules gliales, des neurones pyramidaux et granulaires des différentes sous-régions hippocampiques. Au contraire, la taille des somas des neurones pyramidaux serait significativement réduite (Stockmeier et al., 2004). Il a été suggéré que l'augmentation de ces densités cellulaires serait due à la diminution de la longueur et de la complexité de l'arborisation dendritique des neurones. De plus, la diminution des volumes hippocampiques pourrait s'expliquer par une plus faible production de nouveaux neurones via l'altération de la neurogenèse hippocampique adulte.

Au regard de la littérature, il apparaît que la dépression est associée à des modifications anatomiques et fonctionnelles de l'hypothalamus, du cortex préfrontal et de l'amygdale. Ces régions cérébrales sont fortement interconnectées entre elles mais également avec

d'autres régions cérébrales suggérant que les altérations dans ces structures ont des répercussions sur d'autres fonctions. Par ailleurs, la littérature fait état de modifications anatomo-fonctionnelles de l'hippocampe chez les patients souffrant de dépression. Dans la partie suivante, nous décrirons les phénomènes de plasticité cérébrale dans l'hippocampe et notamment la neurogenèse hippocampique adulte.

V. L'altération de la neuroplasticité au cœur de la pathologie dépressive

V.1 Définition

La neuroplasticité désigne la capacité du système nerveux à modifier son anatomie en réponse à des stimulations environnementales. Cela se fait par exemple via le remodelage des connexions synaptiques ou l'ajout de neurones. Ces réorganisations qui ont lieu tant au niveau structurel ont des conséquences fonctionnelles. Une altération de ces mécanismes de plasticité cérébrale, notamment du processus de neurogenèse hippocampique adulte, pourrait expliquer, du moins en partie, l'atrophie de l'hippocampe rapportée dans le TDM (Jacobs et al., 2000). Dans ce chapitre, nous nous présenterons sur les données de la littérature relatant une altération de la plasticité hippocampique via la neurogenèse hippocampique adulte et la balance excitation/inhibition.

V.2 La neurogenèse hippocampique adulte

La neurogenèse adulte est un processus qui conduit à la formation de nouveaux neurones au sein du cerveau adulte. Elle désigne l'ensemble des étapes qui permettent, à partir de la division des cellules souches neurales, de donner naissance à des cellules capables de se différencier en neurones matures, intégrés dans les circuits cérébraux existants. Ce processus de neurogenèse adulte, actif tout le long de la vie, est clairement établi chez le rongeur (Verret et al., 2007; Ciric et al., 2019), ainsi que chez le primate non-humain (Gould et al., 1999). En revanche, la neurogenèse adulte chez l'humain est toujours un sujet de controverse (Moreno-Jiménez et al., 2021).

Chez les mammifères, il existe deux régions neurogéniques dans le cerveau, la zone sous-ventriculaire du ventricule latéral (SVZ) et la zone sous-granulaire (SGZ) du DG de l'hippocampe. Si on se concentre sur la neurogenèse hippocampique, les cellules

nouvellement formées dans la zone sous-granulaire du DG vont se différencier en neurones ou en astrocytes. Les jeunes neurones vont migrer localement dans la couche granulaire pour devenir des neurones mature capables d'intégrer le réseau de neurones préexistant (Bruel-Jungerman et al., 2007).

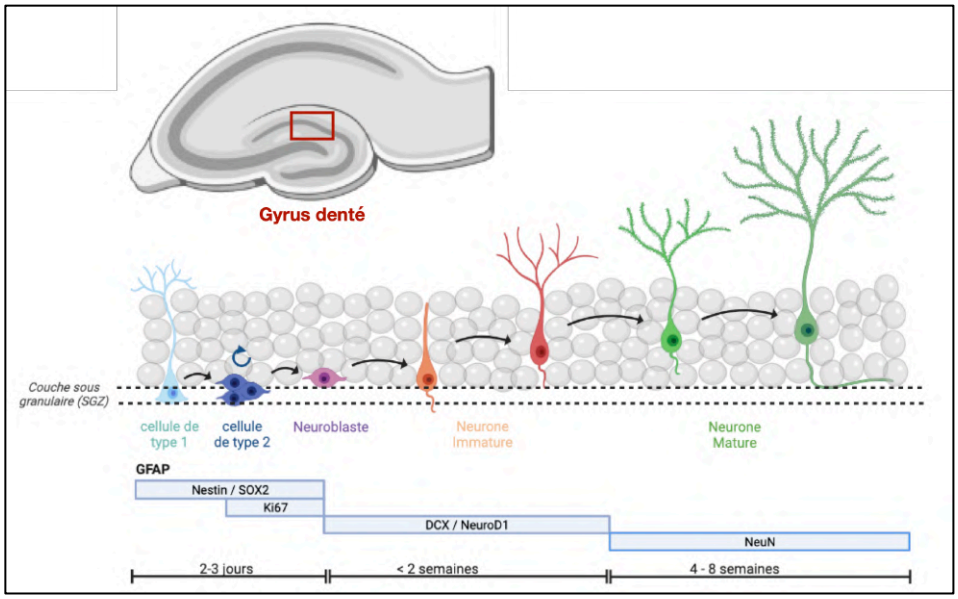


Figure 5. Les différentes étapes de la neurogenèse hippocampique adulte

Les cellules souches neurales « cellules de type 1 », situées dans la SGZ entrent en mitose afin de donner naissance à deux cellules filles, l'une des deux cellules fille gardera le phénotype de cellule souche afin de maintenir une population stable de cellule de type 1 tandis que la deuxième se différenciera en cellules progénitrices dites « cellules de type 2 ». Ces dernières, capables de proliférer, vont se différencier en neuroblastes et migrer vers la couche granulaire du gyrus denté. Ces cellules migrent et se différencient en neurones qui deviennent matures et s'intègrent au sein du réseau. Toutes les cellules nouvellement générées n'atteindront pas le stade final de maturité, et une majorité d'entre elles vont dégénérer par apoptose avant la fin de leur maturation. Les neurones granulaires qui survivent achèveront leur croissance dendritique et axonale (Figure 5). On considère qu'un neurone est mature et fonctionnel après environ 4-6 semaines mais continue à développer son arborisation dendritique au-delà (Gonçalves et al., 2016).

De nombreux facteurs influencent la neurogenèse hippocampique adulte, en agissant sur un ou plusieurs stades du processus (Kempermann, 2011). Concernant les facteurs régulant

positivement la neurogenèse, on retrouve différents facteurs neurotrophiques tel que l'EGF, FGF-2, VEGF et l'IGF-1 (Gritti et al., 1996; Reynolds and Weiss, 1996; Aberg et al., 2000; Jin et al., 2002). Le facteur neurotrophique le plus étudié est le Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). Plusieurs études ont mis en évidence la capacité du BDNF à stimuler la prolifération au sein de la SGZ (Scharfman et al., 2005). Par exemple, la perfusion chronique de BDNF dans l'hippocampe augmente la neurogenèse et possède des effets de type antidépresseurs notamment dans le test de nage forcée (Siuciak et al., 1997). Cet effet est également retrouvé après l'administration de BDNF dans le DG (Shirayama et al., 2002). Les approches génétiques visant à manipuler la signalisation BDNF/TrkB par l'utilisation de souris hétérozygote $BDNF^{+/-}$ montrent une diminution de la prolifération chez les souris mutantes (Lee et al., 2002), un effet spécifique sur la survie des neurones adultes (Sairanen et al., 2005), et une réduction de la densité des épines dendritiques des neurones de CA1 (Magariños et al., 2011). Cependant, il est important de noter que ces souris hétérozygotes $BDNF^{+/-}$ n'expriment pas de phénotype anxio-dépressif (Chourbaji et al., 2004) mais, en revanche, ne répondent plus aux traitements antidépresseurs (Saarelainen et al., 2003).

Les monoamines sont également des neuromédiateurs capables de stimuler la neurogenèse hippocampique adulte. Des projections sérotoninergiques sont retrouvées au niveau du DG (Jacobs and Azmitia, 1992) suggérant ainsi une modulation de la neurogenèse hippocampique adulte par la sérotonine (5-HT). Une des premières preuves repose sur l'utilisation de la neurotoxine 5–7 dihydroxytryptamine (5,7-DHT) dont l'administration intracérébrale entraîne une diminution de nombre de cellules nouvellement formées au sein du DG chez le rat adulte (Brezun and Daszuta, 1999). Afin d'identifier les récepteurs impliqués dans les effets pro-neurogéniques de la 5-HT, une première étude a étudié l'impact de trois antagonistes différents des récepteurs 5-HT1A (NAN-190, p-MPPI et WAY-100635) sur la neurogenèse hippocampique adulte. Il s'est avéré que ces antagonistes ont tous entraîné une réduction de la prolifération cellulaire (Radley and Jacobs, 2002). Au contraire, l'activation des récepteurs 5HT1A par le 8-OH-DPAT, augmente la prolifération et bloque la diminution de la prolifération cellulaire induite par un inhibiteur de la synthèse de la 5-HT, la para-cholorophénylalanine (Banasr et al., 2004). Par la suite, les preuves de la modulation positive de la neurogenèse par le récepteur 5HT1A se sont multipliées grâce à l'utilisation d'agonistes partiels des récepteurs 5-HT1A, la buspirone ou la tandospirone, qui augmentent à la fois la prolifération cellulaire et

la différenciation neuronale (Grabiec et al., 2009; Belmer et al., 2018). Les psychédéliques qui agissent sur les récepteurs 5-HT2A de la 5-HT tels que la DMT ou le LSD sont capables d'augmenter de manière robuste la synaptogénèse ainsi que le nombre d'épines dendritiques (Ly et al., 2018). Une autre étude a montré que l'inactivation génétique du récepteur 5-HT3 entraîne une réduction de la neurogenèse hippocampique induite par l'exercice physique alors que la stimulation du récepteur 5-HT3 à l'aide d'un agoniste, le SR 57227A, favorise ce processus (Kondo et al., 2015). Enfin des études montrent que les agonistes des récepteurs 5-HT4 peuvent également stimuler la neurogenèse adulte (Lucas et al., 2007; Pascual-Brazo et al., 2012). De manière intéressante, les effets bénéfiques des agonistes des récepteurs 5-HT4 semblent apparaître plus rapidement que les antidépresseurs traditionnels, sur le comportement et sur la neurogenèse hippocampique. Une étude récente réalisée chez des rats naïfs a confirmé que 3 jours de traitement avec l'agoniste des récepteurs 5-HT4 (RS67333) augmente la neurogenèse (Pascual-Brazo et al., 2012). Ces effets pro-neurogéniques de l'activation du récepteur 5-HT4 pourraient être en partie dus à sa capacité à engager une signalisation intracellulaire entraînant l'augmentation des niveaux de BDNF (Tamburella et al., 2009). Au contraire, l'antagoniste des récepteurs 5-HT4, le GR125487, bloque partiellement les effets neurogéniques d'un traitement chronique à la fluoxétine sur la prolifération et la maturation des neurones nouveau-nés (Mendez-David et al., 2014). De même, l'utilisation de souris KO pour ce récepteur bloque les effets pro-neurogéniques des antidépresseurs (Imoto et al., 2015).

L'hippocampe adulte reçoit également une forte innervation noradrénergique provenant du locus coeruleus (LC) (Loy et al., 1980). La neurotoxine noradrénergique chlorhydrate de N-(2-chloroéthyl)-N-éthyl-2-bromo benzylamine (DSP-4), induit une diminution de la prolifération cellulaire au sein de l'hippocampe (Kulkarni et al., 2002).

Il a été montré que la stimulation du récepteur α_{1A} augmente la neurogenèse ainsi que la gliogénèse chez la souris adulte (Gupta et al., 2009). Par ailleurs, les agonistes des récepteurs α_2, la clonidine et le guanabenz, diminuent la prolifération des progéniteurs de l'hippocampe, mais sont sans effet sur la survie ou la différenciation (Yanpallewar et al., 2010). En revanche, le dexefaroxan, un antagoniste des récepteurs α_2, stimule la neurogenèse hippocampique en augmentant la survie et la maturation des nouveaux neurones dans le DG (Rizk et al., 2006). Enfin, des études ont montré que la NA active les précurseurs neurogéniques et les cellules

souches via les récepteurs β3. En effet l'injection intra-hippocampique d'un agoniste des récepteurs β3 ou l'injection systémique d'isoprotérénol, un agoniste non sélectif des récepteurs β augmente la prolifération (Jhaveri et al., 2010).

V.3 Relation réciproque entre la neurogenèse hippocampique adulte et la dépression

Au niveau préclinique, plusieurs études ont évalué l'effet d'une diminution de la neurogenèse adulte chez le rongeur sur le comportement anxio-dépressif. Différentes approches ont été utilisées : l'irradiation à l'aide de rayon X au niveau des foyers neurogéniques (Santarelli et al., 2003), l'administration d'agent anti-mitotique (Jayatissa et al., 2009) ou encore des manipulations génétiques conduisant à la mort des cellules progénitrices (Dupret et al., 2008). Or ces approches n'ont pas permis d'induire des comportements anxio-dépressifs chez l'animal. Seule une étude utilisant l'ablation génétique de la neurogenèse chez la souris montre une augmentation de la résignation chez la souris dans le test de nage forcée (Snyder et al., 2011).

Les études précliniques montrent que la dépression induit une altération de cette neurogenèse hippocampique. Par exemple, chez le primate non humain, il a été montré qu'un stress chronique induisant des comportements pseudo-dépressifs tel que l'anhédonie, diminue la neurogenèse hippocampique (diminution du nombre de cellules DCX+ par rapport aux animaux non stressés) et que l'ablation de celle-ci par irradiation inhibe l'action bénéfique des antidépresseurs (Perera et al., 2011). De façon similaire, des études montrent que la neurogenèse hippocampique adulte est altérée dans certains modèles de dépression chez les rongeurs, notamment dans le modèle de CRS (Pham et al., 2003), l'UCMS (Tanti et al., 2012), de défaite sociale (Van Bokhoven et al., 2011), d'isolement social (Dranovsky et al., 2011) ou encore d'exposition chronique à la CORT (David et al., 2009). Au contraire, les traitements antidépresseurs qui, in fine augmentent le tonus sérotoninergique ou noradrénergique, stimulent la prolifération cellulaire ainsi que la survie des nouveaux neurones (Malberg et al., 2000; Santarelli et al., 2003; Salman et al., 2020), d'autant plus que les effets de ces antidépresseurs sont totalement ou du moins partiellement absents lorsque la neurogenèse est abolie (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008; Wang et al., 2008; David et al., 2009).

Peu d'études menées chez l'humain ont porté sur le lien entre ce processus et le TDM. Celles-ci reposent uniquement sur des analyses histologiques *post-mortem* (Reif et al., 2006; Boldrini et al., 2009). Aucune de ces deux études ne montre une réduction de la neurogenèse chez les patients dépressifs. En revanche, Boldrini et ses collaborateurs ont remarqué une augmentation de la neurogenèse hippocampique chez les patients traités par antidépresseurs, plus particulièrement une augmentation du nombre de progéniteurs neuraux dans le DG (cellules Nestin+). De plus, en utilisant deux marqueurs permettant d'étudier l'état de prolifération des cellules sur des coupes histologiques humaines *post-mortem* (cellules MCM2+ et PH3, marqueurs de prolifération), une diminution significative de la prolifération cellulaire a été observée chez les patients déprimés par rapport aux sujets contrôles (Lucassen et al., 2010). Or, cette observation est basée sur un seul des marqueurs utilisés (MCM2+), ce qui ne permet pas de conclure définitivement sur une potentielle diminution de la prolifération cellulaire chez les patients dépressifs. Une autre étude montre une diminution du nombre de cellules granulaires dans le DG des sujets dépressifs non traités par antidépresseurs par rapport à des sujets contrôles. Cette diminution n'est plus observée lorsque les patients sont traités par un traitement antidépresseur. Ces données suggèrent une diminution de la neurogenèse hippocampique qui ne serait pas liée à une réduction de la prolifération cellulaire mais à la diminution de la différenciation neuronale ou de la survie des nouveaux neurones (Boldrini et al., 2013).

Des nombreuses études précliniques suggèrent que l'architecture du cerveau est fortement modifiée dans le TDM. Plusieurs processus à l'origine de changements morphologiques (atrophie/hypertrophie) et fonctionnels de neurones et régions cérébrales ont été observés dans ce trouble. La neurogenèse hippocampique adulte apparaît comme un processus clé du TDM dont il reste à déterminer si son altération est une cause ou une conséquence de la pathologie. Le fait que la neurogenèse hippocampique soit régulée positivement par le BDNF ou les monoamines (5-HT/NA) permet d'envisager de nouvelles pistes thérapeutiques ciblant ces systèmes. D'autres processus de neuroplasticité sont perturbés dans le TDM, comme la balance Excitation/Inhibition. La partie décrit les perturbations de cette balance dans l'hippocampe de sujets souffrant de TDM et les conséquences possibles d'une telle perturbation sur la plasticité cérébrale.

V.4 La balance excitation/inhibition

La balance excitation/inhibition (E/I) est un processus qui consiste à réguler l'efficacité globale des entrées synaptiques excitatrices et inhibitrices sur un neurone afin d'empêcher des modifications trop importantes de son niveau d'activité. Le déséquilibre de la balance E/I a été très étudié dans le cadre de certaines pathologies cérébrales telles que l'épilepsie ou les troubles du spectre autistique (Rubenstein and Merzenich, 2003; Liu et al., 2020). Par la suite, des études se sont également intéressées à la régulation de cette balance dans le cadre du TDM dans différentes régions cérébrales telles que le PFC et l'hippocampe (Thompson et al., 2015; Page and Coutellier, 2019).

V.4.1 Les neurones excitateurs

V.4.1.1 Les neurones pyramidaux et le glutamate

Les neurones pyramidaux sont présents dans différentes régions cérébrales telles que le cortex, l'amygdale et l'hippocampe. Ils sont appelés neurones pyramidaux du fait de leur forme. L'axone et les dendrites de ces neurones forment des ramifications étendues qui peuvent se projeter dans d'autres régions du cerveau (Spruston, 2008; Bekkers, 2011) et permettre l'échange d'informations entre neurones. Ces neurones sont dits « excitateurs » en raison de leur capacité à produire et libérer du glutamate. Dans la fente synaptique, le glutamate se fixe à ses récepteurs post-synaptiques excitateurs de type ionotropes (AMPA, NMDA, Kainate) et métabotropes (mGlu). Le glutamate déclenche alors une signalisation intracellulaire qui varie selon le récepteur stimulé et les sous-unités qui le composent (Traynelis et al., 2010).

V.4.1.2 Altération de la transmission glutamatergique dans la dépression

Différentes études cliniques et précliniques suggèrent que la dépression est liée à des réductions de la transmission glutamatergique notamment dans l'hippocampe (Thompson et al., 2015).

Par exemple, des études *post-mortem* chez l'humain montrent que plusieurs sous-unités des récepteurs au glutamate sont réduites chez les patients dépressifs (Choudary et al., 2005; Beneyto et al., 2007). Parmi ces récepteurs, l'expression des récepteurs AMPA, en particulier

les sous-unités GluA1 et GluA3, est diminuée dans le DG et le CA1 de patients déprimés ainsi que dans le modèle d'UCMS chez le rat (Duric et al., 2013; Kallarackal et al., 2013). Chez la souris, la délétion du gène GluA1 entraîne un phénotype de type pseudo-dépressif (Chourbaji et al., 2008) alors que l'activation du récepteur AMPA par un agoniste, également appelé Ampakine induit des effets antidépresseurs chez le rat (Akinfiresoye and Tizabi, 2013; Gordillo-Salas et al., 2020).

De manière intéressante, des études cliniques et précliniques rapportent des effets antidépresseurs de la kétamine, un antagoniste des récepteurs NMDA (Zanos and Gould, 2018). Or l'étude du mécanisme d'action de la kétamine révèle que cet agent pharmacologique entraîne une augmentation des concentrations extracellulaires de glutamate (Moghaddam et al., 1997) et ensuite, favorise l'activation des récepteurs post-synaptiques AMPA (Zanos et al., 2016). Par ailleurs, les antidépresseurs augmentent l'expression synaptique de la sous-unité GluA1 des récepteurs AMPA dans l'hippocampe chez le rat (O'Leary et al., 2009). Ainsi la dépression serait associée à une hypoactivité de l'hippocampe, en lien avec une diminution de la neurotransmission glutamatergique, alors que les antidépresseurs semblent restaurer la force globale de la transmission glutamatergique par l'intermédiaire du récepteur AMPA. Cette hypoactivité hippocampique pourrait également être sous-tendue par un excès de transmission GABAergique, comme décrit dans le paragraphe suivant.

V.4.2 Les neurones inhibiteurs

Les interneurones GABAergiques sont des neurones inhibiteurs qui synthétisent et libèrent des acides aminés inhibiteurs dont le GABA ou la glycine. L'activation des récepteurs GABAergiques ionotropes ($GABA_A$) ou métabotropes ($GABA_B$) conduit à une hyperpolarisation des neurones post-synaptiques qui expriment ces récepteurs.

Dans le cerveau, il existe peu de neurones GABAergiques de projection et la majorité des cellules libérant cet acide aminé sont des interneurones. Ceux-ci représentent environ 10-20% du nombre total de neurones mais sont très connectés, si bien que chacun d'entre eux peut contrôler l'activité de plusieurs centaines, voire milliers, de cellules pyramidales par le biais de connexions synaptiques dendritiques, somatiques, péri-somatiques, ou axo-

axoniques (DeFelipe and Fariñas, 1992). Il existe différentes sous-populations d'interneurones GABAergiques qu'on distingue suivant différents paramètres (Figure 6).

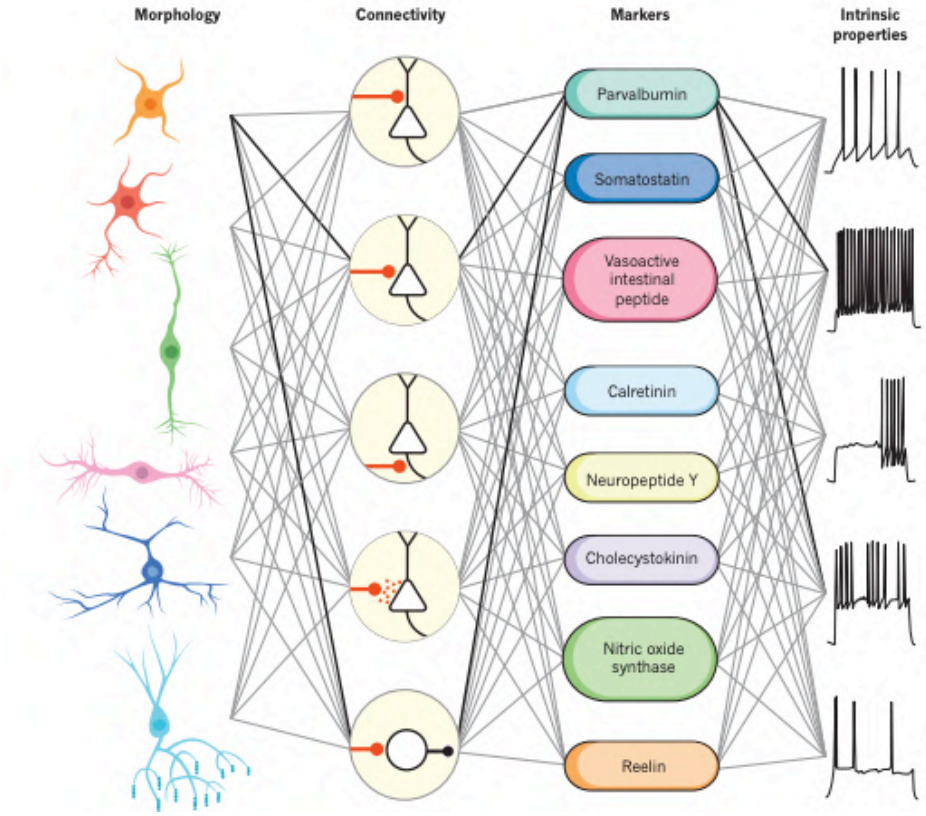


Figure 6. Les différents types d'interneurones sont généralement définis en utilisant une combinaison de critères basés sur leur morphologie, le modèle de connectivité, leurs propriétés synaptiques, l'expression de marqueurs et leurs propriétés de décharge. Les liens en gras définissent les cellules corticales à décharge rapide (Kepecs and Fishell, 2014)

Parmi les différentes classes d'interneurones GABAergiques, on trouve les interneurones à Parvalbumine (PV), distinguables des autres sous-types par la morphologie de leur axone et de leur arborisation dendritique. Les interneurones PV sont dits « neurones à panier » ou « basket cells », en raison de leurs projections péri-somatiques ramifiées. Ils expriment donc la parvalbumine, une protéine de liaison au calcium qui leur confère la capacité d'émettre des potentiels d'action à haute fréquence (Caroni, 2015). Cette capacité de décharge rapide est aussi permise par l'expression de plusieurs types de canaux voltage-dépendants, dont les canaux potassiques Kv3 et Kv1 (Du et al., 1996) ou les canaux sodiques Nav1.1 et Nav1.6 (Hu and Jonas, 2014; Ogiwara et al., 2007).

Au niveau hippocampique, les interneurones PV étant peu nombreux, chaque interneurone peut se connecter à environ 1500 neurones pyramidaux et à plusieurs dizaines d'autres interneurones (Chamberland and Topolnik, 2012; Cobb et al., 1997)(Figure 7). Ces

particularités morphologiques et fonctionnelles leur permettent ainsi de moduler l'activité d'une large population neuronale, ce qui en fait des acteurs majeurs de la balance E/I.

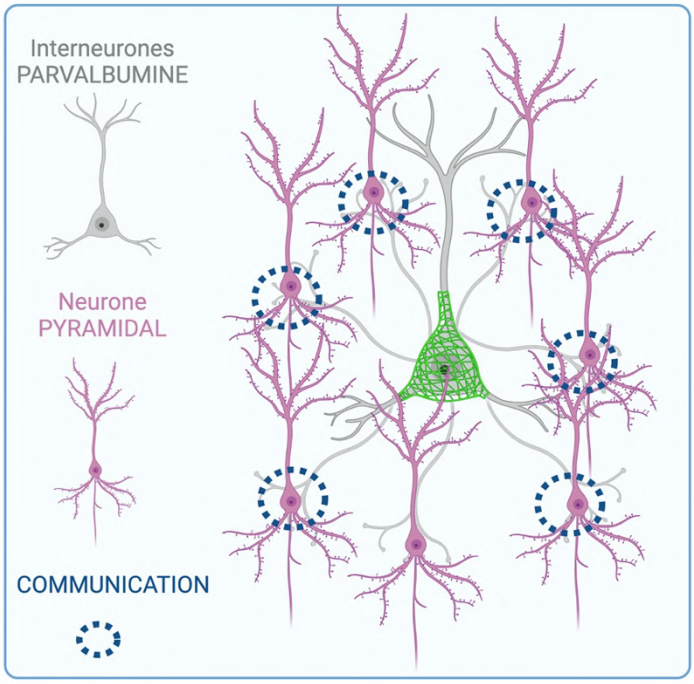


Figure 7. Représentation schématique de la connectivité des interneurones à Parvalbumine

V.4.3 La matrice extracellulaire des interneurones GABAergique PV⁺

Les interneurones GABAergique PV⁺ sont très souvent entourés d'une matrice extracellulaire, appelée « peri-neuronal nets (PNN) ». Cette matrice est composée d'un squelette de polymères d'acide hyaluronique auquel sont attachés des protéoglycanes à base de chondroïtine sulfate (CSPG), dont les principaux composants sont le lectican, l'aggrécan, le versican, le neurocan et le brevican (Figure 8). Cette matrice extracellulaire est une structure relativement rigide et unique, en forme de treillis, qui enveloppe le soma et les dendrites proximales des cellules à panier, tels que les interneurones PV (Dityatev et al., 2010; Kwok et al., 2011; Wlodarczyk et al., 2011).

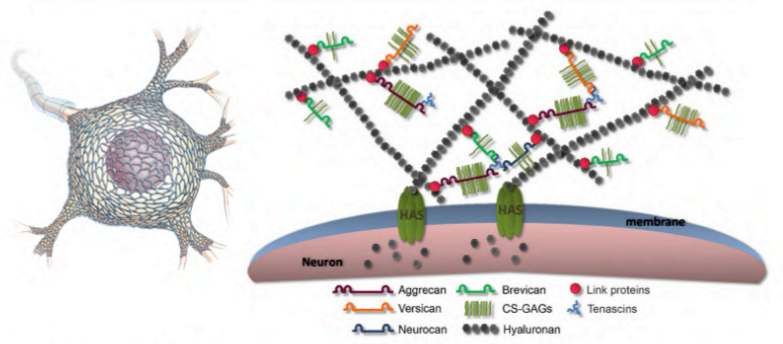


Figure 8. Structure des PNNs. Le réseau péri-neuronal est composé principalement de la famille des lecticans (aggrecan, versican, brévican et neurcan), d'un squelette d'acide hyarulonique (HA), des protéines de liaison et de la tenascine (Tn-R). D'après (Kwok et al., 2011)

Dans les régions CA1 et CA3 de l'hippocampe, les PNN enveloppent principalement les interneurones à PV car ils représentent la majorité des interneurones de ces territoires alors qu'au sein de CA2, les PNN peuvent être associés aux neurones pyramidaux excitateurs (Carstens et al., 2016). Au niveau fonctionnel, les PNN facilitent l'établissement des synapses glutamatergiques sur les interneurones à PV (Frischknecht et al., 2009) et contribuent ainsi à établir et à maintenir l'excitabilité de ces cellules (Balmer, 2016). Bien que les mécanismes restent partiellement élucidés, il a été montré que les PNN facilitent les courants excitateurs en augmentant l'expression des récepteurs glutamatergiques et/ou de canaux cationiques sur les interneurones GABAergiques (Blanco and Conant, 2021). Ainsi les PNN jouent un rôle important dans l'accumulation de GABA dans l'hippocampe. Au contraire, la digestion des PNN par l'injection de chondroïtinase ABC *(ChABC)* dans l'hippocampe (mais aussi le PFC) entraîne une hypoexcitabilité des interneurones à GABA et une hyperexcitabilité des cellules pyramidales (Slaker et al., 2015; Hayani et al., 2018).

De nombreuses études montrent un lien entre la dépression et une altération du système PV/PNN dans le cerveau. Dans le modèle UCMS, on observe une augmentation de l'expression de la protéine PV dans le PFC, corrélant avec une diminution de l'activité de cette structure (Shepard et al., 2016; Shepard and Coutellier, 2018). Ceci suggère un mécanisme par lequel le stress chronique pourrait conduire à un hypofonctionnement du PFC via une augmentation de l'excitabilité des interneurones PV inhibiteurs. Au contraire, une diminution du nombre d'interneurones PV a été observée dans le PFC ainsi que dans la région CA3 de l'hippocampe en réponse à un traitement de 3 semaines par à un antidépresseur, la fluoxétine (Ohira et al., 2013). Dans l'hippocampe, une étude a montré dans le modèle CRS une augmentation de la fréquence des miPSC (miniature inhibitory postsynaptic currents) dans les neurones pyramidaux de CA1, traduisant une intensification de la transmission GABAergique (Hu et al., 2010). De plus, l'administration de LPS, une endotoxine bactérienne connue pour induire un phénotype pseudo-dépressif chez le rongeur, entraîne également une augmentation de l'expression de la PV dans la région CA1 de l'hippocampe, non observée dans CA3 ni dans le DG (Ji et al., 2020). De plus, dans un modèle de défaite sociale, il a été montré une hyperactivité des interneurones PV dans le Pallidum ventral, une région cérébrale impliquée dans les comportements de récompense (Knowland et al., 2017) rapportant ainsi une altération de la fonction des interneurones PV en réponse au stress. L'extinction spécifique de l'activité des interneurones PV du Pallidum ventral par optogénétique atténue

le phénotype pseudo-dépressif dans le modèle de défaite sociale, démontrant ainsi un lien causal entre l'altération des PV et les comportements de type dépressif.

Les PNN régulent l'excitabilité des interneurones PV et donc la transmission GABAergique médiée par ces neurones. Plusieurs études se sont intéressées aux modifications de cette matrice dans différents modèles animaux de la dépression. Dans le modèle de stress de défaite sociale (CDSD) ou après l'administration chronique de CORT, une augmentation de la densité des PNN est observée dans l'hippocampe (Riga et al., 2017; Alaiyed et al., 2020b; Koskinen et al., 2020). Au contraire, un traitement chronique à la fluoxétine ou à la venlafaxine réduit l'intégrité des PNN entourant les interneurones PV de l'hippocampe et du PFC (Ohira et al., 2013; Guirado et al., 2014; Alaiyed et al., 2019, 2020b; Mukhopadhyay et al., 2021). Cette capacité des antidépresseurs à réduire la densité du réseau PNN pourrait être due à leur action stimulant l'expression des métalloprotéases. En effet, ces enzymes participent à la dégradation des PNN et contribuent ainsi à la régulation de la balance E/I (Alaiyed and Conant, 2019; Alaiyed et al., 2020a). Plus de 20 membres de la famille des MMPs ont été identifiés chez l'humain, et certaines MMP sont spécifiquement exprimées par les cellules du SNC. En particulier, la MMP-2 peut être libérée par les astrocytes et la microglie, alors que la MMP-9 est libérée par les neurones et par les cellules gliales (Alaiyed et al., 2019). Les MMPs sont des acteurs importants de la modulation des PNN, et leur implication a récemment été étudiée dans des pathologies cérébrales, telles que la maladie d'Alzheimer, la schizophrénie ou les troubles de l'addiction (Lasek et al., 2018; Vafadari et al., 2019; Ringland et al., 2021). L'implication de MMP-9 dans la régulation de l'état émotionnel est en outre soutenue par des études pharmacologiques ou génétiques montrant que l'inactivation de cette enzyme augmente l'anxiété basale (Ringland et al., 2021) mais aussi le désespoir et la sociabilité d'animaux stressés (Vafadari et al., 2019). De manière intéressante, des polymorphismes de la MMP-9 seraient associés au développement du trouble dépressif (Bobińska et al., 2016a, 2016b) et aussi à la réponse au traitement antidépresseur (Rybakowski et al., 2011).

L'ensemble de ces données montre que la balance E/I est régulée par les modifications du système PV/PNN qui semble jouer un rôle crucial dans les modèles murins de dépression. Par ailleurs, le rétablissement de cette balance constitue une piste thérapeutique prometteuse pour le traitement de la dépression, et de troubles psychiatriques ou neurologiques tels que la schizophrénie, l'épilepsie et la maladie d'Alzheimer (Pantazopoulos and Berretta, 2016).

PARTIE 2 : LES SYSTEMES MONOAMINERGIQUES ET LES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES ANTIDEPRESSIVES

I. Les systèmes monoaminergiques

I.1 L'hypothèse monoaminergique dans le trouble dépressif

Une des hypothèses la plus couramment avancée pour expliquer la dépression majeure repose sur un déficit de la neurotransmission monoaminergique c'est-à-dire de la sérotonine (5-hydroxytryptamine, 5-HT), noradrénaline (NA) et dopamine (DA) (Hasler, 2010). Bien que l'origine de ce déficit reste controversée, différents travaux suggèrent qu'il résulte de l'accumulation excessive de glucocorticoïdes lors d'un stress chronique (Mahar et al., 2014). La plupart des neurones sérotoninergiques, noradrénergiques et dopaminergiques situés respectivement dans le noyau du raphé dorsal (DRN, pour dorsal raphé nucleus), le Locus Coeruleus (LC) et l'Aire Tegmentale Ventrale (ATV) projettent dans de nombreuses régions cérébrales (Figure 9) connues pour leur rôle dans la régulation des émotions et de l'humeur.

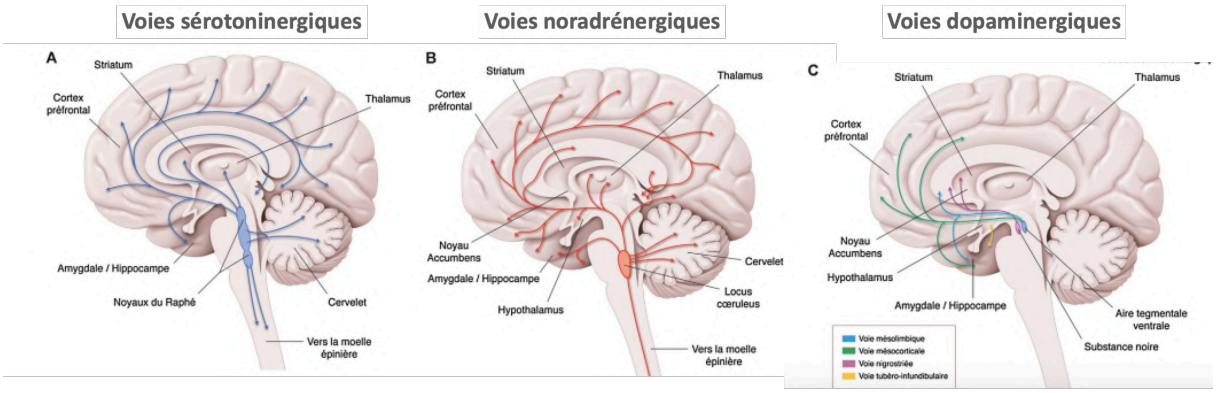


Figure 9 Représentation schématique des principaux systèmes monoaminergiques centraux. A. Système sérotoninergique : les corps cellulaires sont regroupés au sein des noyaux du raphé dans la région sagittale du tronc cérébral. Les projections diffusent dans l'ensemble de l'encéphale et de la moelle épinière. B. Système noradrénergique : le locus coeruleus concentre les corps cellulaires noradrénergiques. C. Système dopaminergique : les voies principales (cortico-limbique, nigrostriée et tubéro-infundibulaire) vont diffuser dans l'ensemble de l'encéphale. D'après (Tritschler et al., 2018)

I.2 La synapse monoaminergique

Les monoamines sont synthétisées à partir d'acides aminés précurseurs : le tryptophane pour la 5-HT et la tyrosine pour la NA et la DA (Figure 10). Une fois la barrière intestinale et

hémato-encéphalique franchies, le tryptophane arrive au contact des neurones sérotoninergiques où il y est métabolisé en deux étapes après sa recapture. Dans un premier temps, le tryptophane intracellulaire est transformé en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) grâce à la tryptophane hydroxylase (TPH2). Puis la deuxième transformation est réalisée par la décarboxylase des acides aminés aromatiques qui produit la sérotonine à partir du 5-HTP.

Concernant la synthèse de NA et DA à partir de la L-tyrosine, cet acide aminé traverse les mêmes barrières que le tryptophane pour ensuite être capté par les neurones catécholaminergiques. La première étape de la synthèse des catécholamines, l'hydroxylation de la L-tyrosine en L-DOPA par la tyrosine hydroxylase est l'étape limitante de la synthèse des catécholamines. Puis sous l'action de la DOPA décarboxylase, la L-DOPA donnera un premier neurotransmetteur, la dopamine. Cette dernière peut subir une étape d'hydroxylation, via la Dopamine β-hydroxylase qui donnera comme produit la noradrénaline (Figure 10).

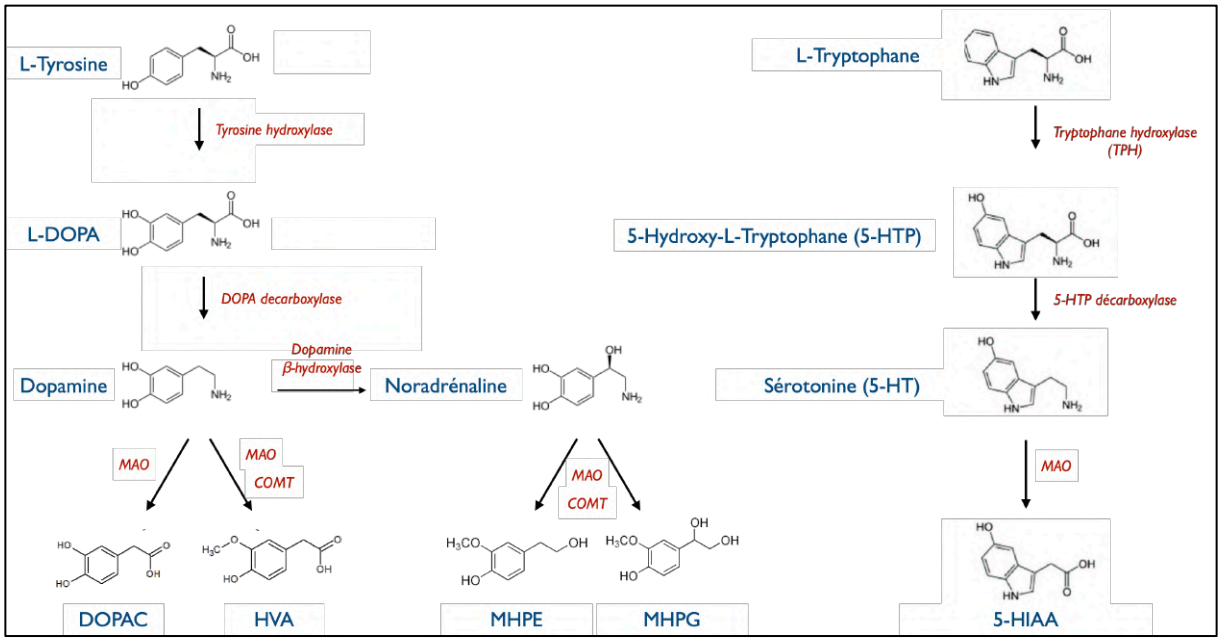


Figure 10. Voies de biosynthèse des monoamines. (MAO, Monoamine oxydaze ; COMT, catéchol-O-méthyltransférase)

En conditions physiologiques (Figure 11), après leur synthèse au niveau synaptique, les monoamines sont stockées dans des vésicules présynaptiques. Les monoamines peuvent être alors libérées dans la fente synaptique sous l'effet d'un influx nerveux (potentiel d'action). Leur devenir est multiple. Elles peuvent se fixer sur leurs récepteurs localisés sur les membranes des neurones pré- et post-synaptiques. La plupart des récepteurs aux

monoamines sont des récepteurs couplés aux protéines G (RCPG). L'activation des récepteurs présynaptique « autorécepteurs » (lié aux protéines Gi = inhibitrices) module directement la quantité de monoamines libérées en exerçant un rétrocontrôle négatif d'une part sur l'activité électrique du neurone présynaptique via l'activation d'autorécepteurs somatodendritiques et d'autre part sur le processus de libération via l'activation d'autorécepteurs terminaux. L'activation des récepteurs sur les neurones post-synaptiques entraîne différents processus à l'origine de différentes cascades de signalisation en fonction du couplage des récepteurs activés.

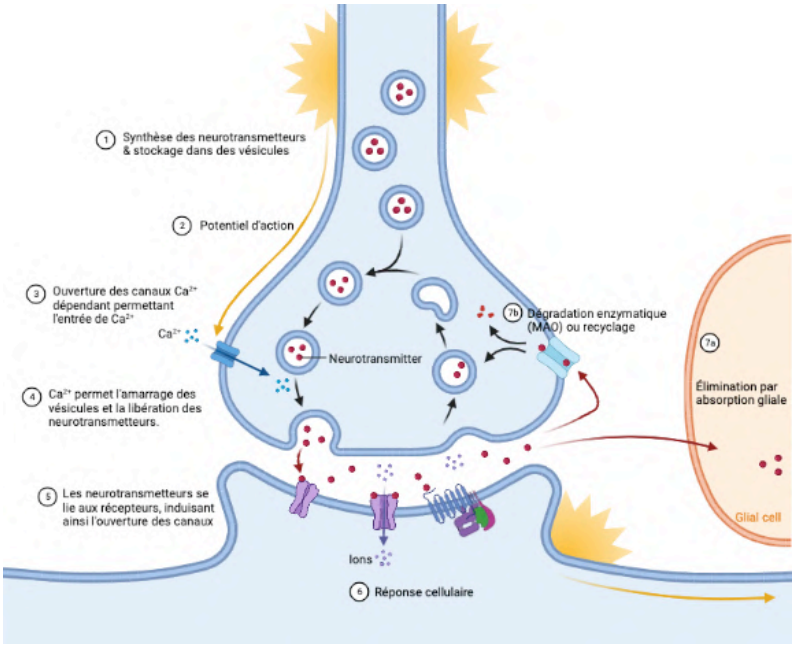


Figure 11. Synthèse et libération des monoamines à la suite d'un potentiel d'action. Les numéros indiquent l'ordre des évènements jusqu'à la dégradation ainsi qu'au recyclage des neurotransmetteurs

L'action des monoamines est achevée par différents acteurs. D'une part les neurotransmetteurs peuvent être recaptés par l'élément présynaptique via des transporteurs membranaires qui ont des affinités différentes selon la nature des monoamines. Il s'agit du 5-HTT (ou SERT) pour la sérotonine et du NAT/DAT respectivement pour la noradrénaline et la dopamine. Une fois à l'intérieur des neurones présynaptiques, les monoamines sont soit dégradées soit recyclées dans des vésicules d'exocytoses pour être de nouveau libérées dans la fente synaptique. La dégradation des catécholamines est assurée par deux types d'enzymes : les catéchol-oxyméthyltransférases (COMT) et les monoamines oxydases et notamment les sous-types A et B (MAO-A/MAO-B). La sérotonine, elle est dégradée

uniquement par la MAO-A donnant l'acide 5-hydroxyindoleacétique (5-HIAA) comme principal métabolite.

De manière intéressante, des données récentes suggèrent que la recapture des monoamines dans la fente synaptique peut également être effectuée par l'intermédiaire d'autres transporteurs situés sur les neurones post-synaptiques. Il a été montré que les monoamines peuvent être recaptées via des transporteurs de faible affinité dont les « Organic Cation Transporters » (OCT). Les transporteurs OCT2 et OCT3, exprimés par de nombreuses sous-populations neuronales (et certains astrocytes) dans les régions recevant des projections monoaminergiques, participent donc à la clairance des monoamines (Gautron and Pietranscosta, 2020). Enfin, il est à noter que les astrocytes jouent également un rôle crucial dans la recapture des monoamines mais aussi dans leurs effets biologiques puisque ces cellules gliales expriment différents sous types de récepteurs monoaminergiques (Quesseveur et al., 2013).

I.3 Le système sérotoninergique

Les premières preuves démontrant des altérations du système sérotoninergique dans le cerveau de patients déprimés ayant fait une tentative de suicide sont apparues en 1976. Asberg et ses collaborateurs ont mis en évidence un taux réduit de 5-HIAA, le principal métabolite de la sérotonine, dans le liquide céphalorachidien (LCR) de ces personnes (Asberg et al., 1976). En accord avec ces données, des travaux plus récents ont mis en évidence qu'une diminution de l'apport nutritionnel en TRP entraînait l'apparition de symptômes dépressifs chez l'humain (Sánchez-Villegas et al., 2009), et inversement les patients dépressifs présentent une diminution des taux plasmatiques de L-tryptophane (Ogawa et al., 2014). Cette diminution de TRP corrèle avec une diminution d'expression de la TPH2 et l'augmentation d'expression de la MAO (Meyer et al., 2006; Zhang et al., 2015b). De plus, l'analyse des variants du gène de la TPH2 a mis en évidence que certains polymorphismes de la TPH2 été associée à une augmentation du risque de développer une dépression (Gao et al., 2016). Concernant un autre acteur clé du métabolisme de 5-HT, il a été montré dans une analyse post-mortem de patient dépressif une augmentation de l'expression protéique de la MAO-A ainsi que de son activité (Johnson et al., 2011). En accord avec ces derniers résultats, des polymorphismes du gène codant pour la MAO-A et la COMT sont impliqués dans la

dépression majeure (Gutiérrez et al., 2004; Antypa et al., 2013). Un autre argument en faveur du rôle de la 5-HT dans la dépression est fourni par l'étude de la neurotransmission sérotoninergique dans les modèles animaux de stress. Par exemple, dans le modèle de séparation maternelle, on retrouve globalement une diminution du taux de sérotonine dans les structures limbiques qui s'accompagne d'un phénotype pseudo-dépressif (Ohta et al., 2014). D'ailleurs, une diminution de la quantité de 5-HT associée à un hypofonctionnement du système sérotoninergique a également été retrouvée dans le mPFC de souris exposées à modèle d'UCMS (Ahmad et al., 2010; Lu et al., 2019). On peut aussi retrouver dans le modèle de défaite sociale, une diminution de 5-HT intracellulaire hippocampique coïncidant avec une augmentation de l'expression du transporteur SERT (Keeney et al., 2006; Zhang et al., 2012). Enfin, dans le modèle CORT, une diminution des courants excitateurs post-synaptiques perçus par les neurones 5-HT du DRN a été observée (Prouty et al., 2019; Sowa et al., 2019). On retrouve également moins de 5-HT hippocampique dans le modèle de dépression induit par l'injection de LPS (Carabelli et al., 2020).

Il est également intéressant de noter que le développement de nouvelles techniques et notamment l'optogénétique et chémogénétique s'avèrent être des outils incontournables pour confirmer les liens éventuels entre le système sérotoninergique et les comportements anxio-dépressifs dans le modèle rongeur. Si l'inactivation des neurones 5-HT n'a pas permis d'obtenir des résultats convaincants à l'aide de ces approches, différents travaux montrent que l'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du DRN entraîne des effets de type antidépresseurs (Ohmura et al., 2014; Abela et al., 2020). Quant à la chémogénétique, indispensable pour modéliser des effets chroniques de la manipulation des neurones 5-HT, il a récemment été rapporté que l'activation d'un hM3Dq spécifiquement sur les neurones 5-HT du DRN, induit également des effets de type antidépresseurs (Teissier et al., 2015; Urban et al., 2016).

Concernant les récepteurs impliqués dans la régulation des émotions, de nombreux travaux restent à être réalisés pour déterminer leur rôle respectif. On sait aujourd'hui que la 5-HT possède de nombreux récepteurs membranaires, classés en 7 sous-types allant du 5-HT1 au 5-HT7. Parmi ces 7 sous-types, seul le récepteur 5-HT3 appartient aux récepteurs ionotropes, les autres étant des récepteurs métabotropes couplés aux protéines G (RCPG). L'activation de ces récepteurs intervient dans différentes fonctions dont l'anxiété et l'humeur (pour revue (David and Gardier, 2016) – Tableau 4).

Group	Receptor Subtype	Pharmacological importance
$G_{\alpha i}$-coupled serotonin receptors : usually decrease the activity of adenylyl cyclase and lower the intracellular cAMP concentration	5-HT_{1A} ; 5-HT_{1B} ; 5-HT_{1D} ; 5-HT_{1E} ; 5-HT_{1F} ; 5-HT_{5A} ; 5-HT_{5B}	• Anxiety, novel antidepressants, antipsychotics, migraine • Locomotion, sleep
$G_{\alpha q/11}$-coupled serotonin receptors : activate the phospholipase C, increase the concentration of inositol triphosphate, diacylglycerol, and intracellular calcium levels	5-HT_{2A} ; 5-HT_{2B} ; 5-HT_{2C}	• Schizophrenia, depression, Tourette's syndrome, appetite, addiction, anxiety, sleep, sexual behavior
$G_{\alpha s}$-coupled serotonin receptors : couple to adenylyl cyclase, elevate cAMP levels, may also result in increased calcium	5-HT_4 ; 5-HT_6 ; 5-HT_7	• Respiration, sleep, thermoregulation, mood, learning, cognition, anxiety, appetite

Tableau 4. Classification des récepteurs 5-HT en fonction des voies de signalisation concernées et de leur importance pharmacologique. D'après (Zięba et al., 2021)

Parmi les récepteurs sérotoninergiques, il semble, comme le montre le tableau 4, que le récepteur 5-HT1 et plus particulièrement le récepteur 5-HT1A joue un rôle crucial non seulement dans la physiopathologie de la dépression mais aussi dans le mécanisme d'action des antidépresseurs actuellement disponibles (Albert and Lemonde, 2004; Albert and Vahid-Ansari, 2019). Il est important de noter qu'il existe deux sous-types de récepteurs 5HT1A, qui diffèrent dans leur localisation. Les récepteurs 5-HT1A présynaptiques, sont situés sur le soma et les dendrites des neurones sérotoninergiques du DRN et les récepteurs 5-HT1A post-synaptiques sont situés sur les neurones post-synaptiques. Les autorécepteurs 5-HT1A sont important car ils agissent de telle sorte que leur activation module négativement l'activité des neurones sérotoninergiques et in fine, la libération de sérotonine. Des études post-mortem ont d'ailleurs montré une augmentation importante de la densité des autorécepteurs 5-HT1A dans le DRN de patients suicidés (Stockmeier et al., 1998; Boldrini et al., 2008).

En accord avec cette observation, les modèles précliniques ont aussi permis d'apporter des preuves supplémentaires quant à l'implication de cet autorécepteur 5-HT1A dans le contrôle du tonus sérotoninergique et les comportements dépressifs. Par exemple, une expression élevée d'autorécepteurs 5-HT1A produit des effets de type pro-dépresseurs par rapport à des animaux présentant une plus faible expression d'autorécepteurs 5-HT1A (Richardson-Jones et al., 2010). De plus, des souris sur-exprimant l'autorécepteur 5-HT1A sont résistantes à un traitement antidépresseur chronique (Vahid-Ansari et al., 2017) alors qu'une réduction de son

expression produit des effets antidépresseurs, probablement dus à une réduction du rétrocontrôle négatif sur l'activité des neurones sérotoninergiques (Bortolozzi et al., 2012).
De manière intéressante, il a été rapporté dans un modèle génétique de dépression (« souris helpless/souris Rouen ») qu'une hypersensibilité de l'autorécepteur 5-HT1A est associée à une diminution du tonus sérotoninergique (El Yacoubi et al., 2003).

I.4 Le système noradrénergique

Le système noradrénergique est composé de 7 groupes cellulaires (A1 à A7) situés dans le tronc cérébral. Le Locus coeruleus (LC) produit l'essentiel de la noradrénaline (NA) du système nerveux central. Les projections noradrénergiques du LC sont vastes et innervent le thalamus, l'hypothalamus, l'hippocampe ainsi que le cortex (Schwarz and Luo, 2015). Les neurones du LC projettent également sur les neurones 5-HT (Levitt and Moore, 1979) et réciproquement (Haddjeri et al., 1997). Il existe différents types de récepteurs noradrénergiques, tous des RCPG, classés en 3 sous-types selon la nature de leur couplage aux protéines G: α1 (Gq), α2 (Gi) et β (Gs). Les structures limbiques sur lesquelles projettent les neurones NA du LC telles que le cortex frontal, l'amygdale et l'hippocampe expriment le récepteur α_1 qui exerce un effet excitateur. Elles expriment également, dans une moindre mesure, le récepteur α_2 qui possède une activité inhibitrice et permet ainsi, une régulation fine de la neurotransmission noradrénergique (Borodovitsyna et al., 2017). Les récepteurs α_2 ont été découverts pour la première fois en tant que récepteurs présynaptiques permettant d'inhiber la libération des neurotransmetteurs dans le cadre d'une boucle de rétrocontrôle négatif (pour une revue, voir (Starke, 2001)).
Plusieurs études ont démontré l'implication du système noradrénergique dans la pathologie dépressive. De façon similaire à ce qu'on observe avec la 5-HT, une diminution des taux du MHPG, métabolite de la NA, a été observée dans le LCR et les urines de patients dépressifs (Joseph et al., 1985). De plus, des études post-mortem sur cerveaux de patients suicidés ont mis en évidence une diminution de la densité de récepteur α1 dans plusieurs régions cérébrales dont le PFC (Gross-Isseroff et al., 1990). Au contraire, une augmentation de la densité des récepteurs α2 inhibiteurs a été retrouvée dans l'hippocampe et le PFC de victimes de suicide, ce qui soutient l'hypothèse d'une diminution de la transmission noradrénergique dans ces structures importantes pour la régulation des états émotionnels (Meana and García-

Sevilla, 1987; González et al., 1994). Par opposition, un traitement par antidépresseurs normalise la densité du récepteur α2 chez les sujets dépressifs (De Paermentier et al., 1997; García-Sevilla et al., 1999).

Par ailleurs, les patients dépressifs ou suicidés présentent une activité noradrénergique réduite qui se traduit par une diminution de la liaison aux NAT dans le LC suggérant ainsi une perte de neurones contenant de la NA (Klimek et al., 1997) et dans d'autres zones limbiques suggérant ici une perte des innervations axonales de NA (Ordway and Klimek, 2001). De la même façon que pour le système sérotoninergique, il existe des polymorphismes des acteurs du système noradrénergique. Entre autres, il a été retrouvé une association entre un variant du gène de la dopamine bêta-hydroxylase (DBH) permettant la conversion de DA en NA) avec la dépression chez les femmes âgées, reflétant ainsi un dysfonctionnement du système noradrénergique (Togsverd et al., 2008) mais également du NAT (Pan et al., 2015). De plus, la réponse aux traitements antidépresseurs peut être dépendante du polymorphisme des récepteurs à la noradrénaline. En effet les patients porteurs d'un des variants du récepteur β -adrénergique ont présenté un taux de réponse 5 fois supérieur par rapport aux patients ne présentant pas ce variant (Firouzabadi et al., 2017).

À la lumière de ces données chez l'humain et dans les modèles animaux de dépression, il ressort que les systèmes sérotoninergique et noradrénergique semblent au cœur de la pathologie dépressive. Les principales stratégies médicamenteuses efficaces pour traiter le trouble dépressif ciblent donc ces deux systèmes dans le but de rétablir une neurotransmission normale qui serait déficitaire en conditions pathologiques.

II. Stratégies thérapeutiques pharmacologiques

Depuis la découverte dans les années 50 des premiers antidépresseurs, les cliniciens disposent de tout un arsenal de stratégies et traitement thérapeutiques afin de prendre en charge les patients atteints de TDM. Parmi ces différentes stratégies, on retrouve notamment des approches pharmacologiques avec les médicaments antidépresseurs ainsi que des approches non pharmacologiques efficaces notamment dans les cas de dépression résistante. Dans cette partie, je décrirai les différentes classes d'antidépresseurs en m'attardant plus

particulièrement sur le cas de la venlafaxine (Effexor®), qui a été choisie au cours de ma thèse comme agent pharmacologique pour contrecarrer les effets de la CORT en raison de ses propriétés pharmacologiques. Les principaux traitements non pharmacologiques seront ensuite abordés, notamment les stratégies dites « environnementales » connues pour exercer un effet bénéfique sur l'humeur. Enfin les stratégies de combinaisons seront traitées afin de préciser dans quelle mesure la combinaison d'interventions pharmacologiques et non pharmacologique offre un avantage thérapeutique.

II.1 Les inhibiteurs de la Monoamine Oxydase (IMAO)

La sérendipité a joué un rôle important dans la découverte du premier traitement pharmacologique de la dépression. Des observations cliniques ont fait état d'effets secondaires marqués de l'iproniazide chez des patients traités pour la tuberculose, notamment une euphorie, un effet psychostimulant, une augmentation de l'appétit et une amélioration du sommeil. Par la suite, une étude clinique a testé l'iproniazide pendant plusieurs semaines chez des patients souffrant de dépression. Une amélioration significative des symptômes a ainsi été rapportée chez 70 % de ces patients (Loomer et al., 1957). C'est ainsi que cet agent pharmacologique est devenu le premier traitement contre la dépression dont les propriétés reposent sur la capacité à bloquer l'activité des monoamines oxydase (IMAO non-sélectif et irréversible).

En effet, il existe deux isoenzymes, la MAO-A et la MAO-B. La MAO-A est principalement responsable de l'activité enzymatique pour la désamination de la sérotonine et de la noradrénaline. En revanche, les deux isoenzymes désaminent la dopamine. Les MAOs responsables de la dégradation des amines sont situées dans la partie terminale du neurone présynaptique. L'inhibition de la MAO entraîne ainsi une augmentation des quantités de monoamines (Grabowski, 2021). En raison de ses propriétés pharmacologiques, l'iproniazide est responsable d'effets indésirables majeurs dont des crises d'hypertension. Ces effets ont finalement conduit à son retrait du marché. Il a été montré par la suite que l'inhibition de la MAO-A était fonctionnellement impliquée dans les effets antidépresseurs des IMAOs (Shulman et al., 2013). Dans le but d'améliorer la sécurité de ces inhibiteurs, le développement de médicaments s'est focalisé sur molécules réversibles et sélectives telles que le moclobémide (Manerix®). Une méta-analyse révèle que le moclobémide est significativement plus efficace que le placebo. Au niveau préclinique, le moclobémide s'est

également montré efficace pour réduire les symptômes pseudo-dépressifs dont la résignation dans un test de nage forcé chez la souris saine, ou encore restaure les déficits cognitifs observés dans un modèle de stress chronique (Nowakowska et al., 2001; Tatarczyńska et al., 2004). Cette capacité à améliorer l'état dépressif des animaux est en lien avec la capacité de cette classe d'antidépresseurs à augmenter les concentrations extracellulaires des monoamines dans différentes régions impliquées dans la régulation des émotions (Celada and Artigas, 1993).

II.2 Les tricycliques (TCA)

L'antidépresseur appartenant à la classe des tricycliques (TCA) le plus connu est l'imipramine (Tofranil®). Ce TCA a été approuvé en 1959 par la Food and Drug Administration (FDA) pour le traitement de la dépression majeure en raison de sa capacité à réduire les symptômes dépressifs chez les patients souffrant de dépression majeure (Kuhn, 1958). Le mécanisme d'action des TCAs, encore inconnu au moment de sa découverte, est associé à une action pharmacologique significative sur les deux transporteurs de recapture des monoamines. En effet, au niveau de l'élément présynaptique on retrouve une inhibition des transporteurs du NAT et du SERT. Il est communément admis que l'inhibition de la recapture de NA et de 5-HT au niveau des protéines de transport est à l'origine des effets thérapeutiques des TCA via l'augmentation des concentrations extracellulaires de ces deux neurotransmetteurs dans la fente synaptique (Koch et al., 2003). Au niveau préclinique, il a été montré que les TCAs présentent des effets antidépresseurs après une administration aigüe chez des animaux non déprimés (imipramine : 5mg/kg, i.p.) (Kulkarni and Dhir, 2007) ainsi qu'après un traitement chronique dans le modèle d'UCMS (imipramine : 20mg/kg/j, i.p. ; desipramine : 10mg/kg/j, i.p.) (Yalcin et al., 2008). Toutefois, ces agents pharmacologiques présentent une cardiotoxicité liée au blocage du NAT et sont peu sélectifs et leur action antagoniste sur les récepteurs adrénergiques α1, muscariniques M1 et histaminergiques H1 sont responsables d'effets indésirables qui limitent leur utilisation dont l'hypotension, la rétention urinaire ou encore la somnolence (Cusack et al., 1994; Owens et al., 1997; Sánchez and Hyttel, 1999).

II.3 Les Inhibiteurs Sélectifs de Recapture de la Sérotonine (ISRS)

Les ISRS inhibent sélectivement le transporteur de la sérotonine (SERT) avec des affinités variables pour cette cible (Wong et al., 1995). De façon générale, les ISRS sont 10 à 3000 fois plus sélectifs pour inhiber la recapture de 5-HT que celle de la noradrénaline et ont une très faible affinité de liaison pour les autres récepteurs tels que les récepteurs sérotoninergiques, adrénergiques α1, α2 et β, histaminergiques H1, muscariniques et dopaminergiques D2 (Thomas et al., 1987; Wong et al., 1995; Owens et al., 1997; Sánchez and Hyttel, 1999). Grace à cette sélectivité, les effets indésirables des ISRS sont atténués comparés à ceux des IMAOs ou des TCA même s'ils sont parfois responsables d'effets centraux comme l'insomnie, les nausées et les troubles de la libido (Papakostas, 2008).

Concernant leurs effets thérapeutiques, l'administration aigüe d'ISRS (fluoxétine, citalopram, escitalopram) entraîne une augmentation drastique des concentrations extracellulaires de sérotonine ([5-HT]ext) dans la fente synaptique des régions de projections permettant la stimulation des récepteurs sérotoninergiques postsynaptiques (Cuadra et al., 2001; Bymaster et al., 2002a; Nguyen et al., 2013; Ortega et al., 2013). Cette augmentation du tonus sérotoninergique est un mécanisme essentiel dans l'efficacité des ISRS puisqu'il a été montré que la déplétion en sérotonine à l'aide de la PCPA (un inhibiteur sélectif et irréversible de l'enzyme de synthèse de sérotonine), prévient l'effet antidépresseur de la fluoxétine (Page et al., 1999). Des études de microdialyse intracérébrale montrent que les ISRS sont également capables d'augmenter les concentrations extracellulaires de 5-HT ([5-HT]ext) dans le DRN, c'est-à-dire autour des corps cellulaires des neurones sérotoninergiques et ce de manière plus importante que dans les aires de projections (PFC/hippocampe) (Bel and Artigas, 1992; Hervás and Artigas, 1998). Cette différence peut s'expliquer par le fait que le SERT est fortement exprimé dans le DRN comparé à d'autres structures (Bengel et al., 1997). Or, l'accumulation de 5-HT autour des corps cellulaires constitue un frein majeur à l'activité thérapeutique des ISRS. En effet, des études électrophysiologiques *in vitro* ou *in vivo* montrent que l'augmentation de 5-HT dans cette région en réponse à l'application ou l'administration d'un ISRS, diminue l'activité de décharge des neurones 5-HT (Blier et al., 1984; Czachura and Rasmussen, 2000; Sprouse et al., 2000). On sait aujourd'hui que cette inhibition est médiée par la sur-activation de l'autorécepteur somatodendritique 5HT1A (Artigas, 1993; Romero et al., 2003). Cette diminution de l'activité de décharge des neurones

du DRN a pour conséquence de limiter l'augmentation des [5-HT]ext dans les aires de projection pourtant fondamentale pour que les effets bénéfiques des ISRS se manifestent. L'utilisation de souris mutantes privées de l'autorécepteur 5-HT1A dans le DRN présente une meilleure résilience face au stress ainsi qu'une meilleure réponse aux antidépresseurs (Richardson-Jones et al., 2010). Par ailleurs, l'utilisation de nouvelles stratégies basées sur l'injection icv de petits ARN interférents (ARNsi) ayant pour but d'inactiver l'autorécepteur 5-HT1A a permis de confirmer le rôle de cette cible dans le mécanisme d'action des antidépresseurs. Ainsi il a été rapporté que la diminution d'expression des autorécepteurs 5-HT1A à l'aide de ces outils entraîne une potentialisation de l'effet de la fluoxétine sur l'augmentation des [5-HT]ext corticales comme chez des souris KO pour ce récepteur (Bortolozzi et al., 2012).

Au fur et à mesure que le traitement par ISRS se prolonge, notamment après 28 jours d'administration, on observe un rétablissement progressif de la fréquence de décharge des neurones 5-HT du DRN (Blier et al., 1984, 1987). Cette normalisation s'explique par une levée d'inhibition imputée à la désensibilisation de l'autorécepteur 5-HT1A liée à l'accumulation de 5-HT endogène dans le DRN. De manière intéressante, des études indiquent que l'apparition des effets thérapeutiques comportementaux des ISRS chez l'animal est concomitante à la désensibilisation des récepteurs 5-HT1A (Popa et al., 2010)(Figure 12).

Ce phénomène de désensibilisation s'observe au travers de la réponse induite par un agoniste du 5-HT1A, le 8-OHDPAT sur la décharge électrique des neurones sérotoninergiques. En effet, si l'administration de 8-OHDPAT inhibe complètement l'activité électrique de ces neurones, la dose nécessaire de 8-OHDPAT pour induire une diminution de la fréquence de décharge des neurones 5-HT du DRN est plus importante après un traitement à long terme avec un ISRS (Chaput et al., 1986; Rainer et al., 2012). En accord avec ces données, les études de microdialyse intracérébrale rapportent une diminution des $[5\text{-HT}]_{ext}$ en réponse au 8-OHDPAT plus faible suite à un traitement chronique à la sertraline, un autre ISRS, comparé aux animaux n'ayant pas reçu d'antidépresseur de façon prolongée (Invernizzi et al., 1994; Rossi et al., 2008). Cette désensibilisation a également été observée en utilisant d'autres paradigmes. Par exemple, il a été montré que la capacité du 8-OHDPAT à réduire l'activité électrique des neurones sérotoninergiques du DRN ou à diminuer la température corporelle est fortement atténuée par l'administration chronique de fluoxétine comparée à des animaux n'ayant pas reçu cet ISRS (Rainer et al., 2012).

Toutefois le récepteur 5-HT1A n'est pas le seul autorécepteur permettant de réguler le tonus sérotoninergique. Dans les zones de projection de la sérotonine, la fixation de la 5-HT sur l'autorécepteur 5-HT1B entraîne une inhibition de sa propre libération. Ainsi, les souris mutantes privées des récepteurs 5-HT1B présentent une augmentation des $[5\text{-HT}]_{ext}$ en réponse à un ISRS et un phénotype de type antidépresseur plus prononcé que chez des souris sauvages (Gardier et al., 2003; Nautiyal et al., 2016). En accord avec ces données, la fluoxétine induit une désensibilisation du récepteur 5-HT1B correspondant à l'apparition retardée des effets antidépresseurs dans les études cliniques (Lifschytz et al., 2004; Newman et al., 2004) mais cette idée de perte de fonction du 5-HT1B n'est pas encore clairement démontrée.

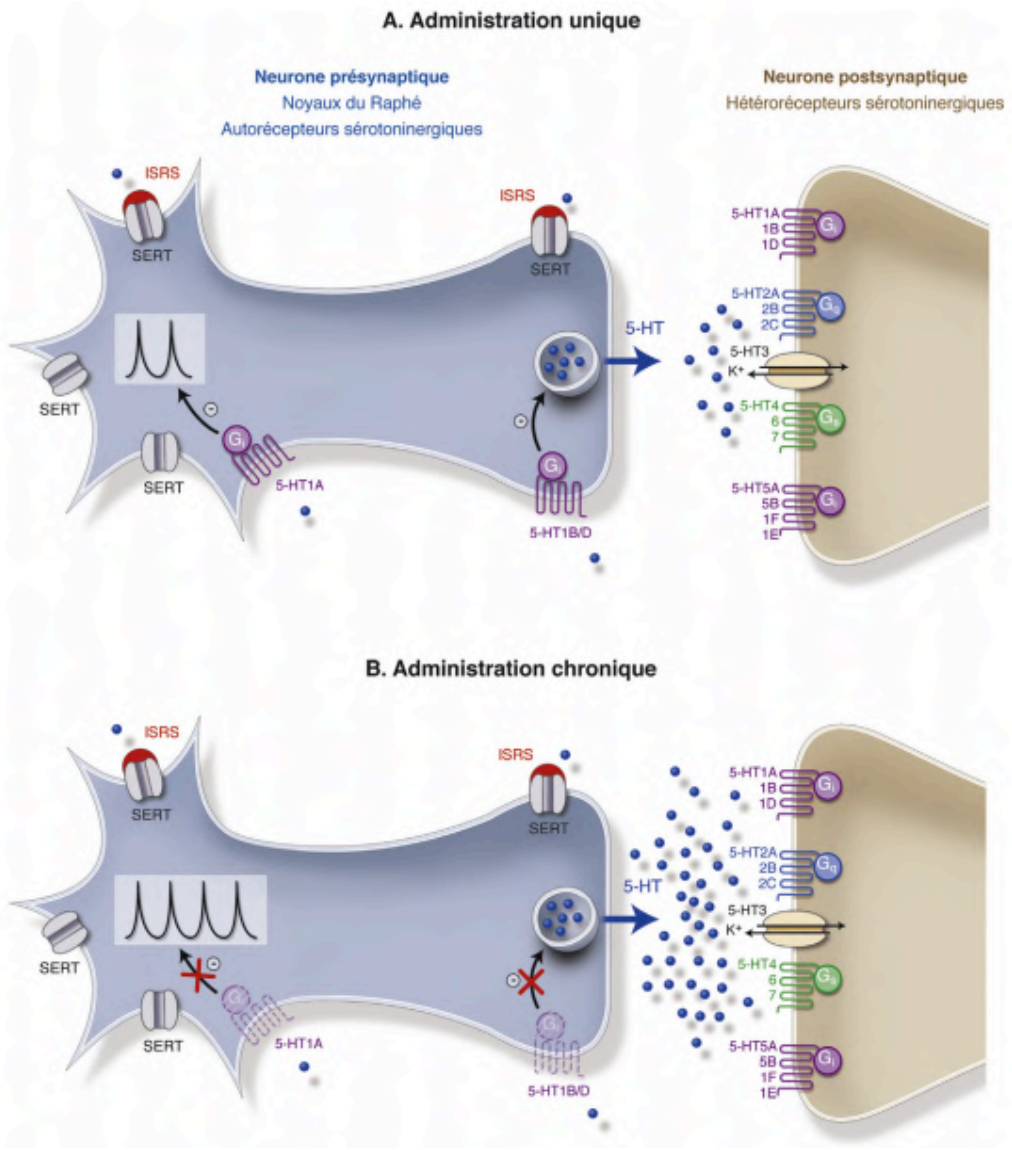


Figure 12 Représentation schématique du mode d'action des ISRS. Contrairement à l'administration unique (A), l'administration chronique (B) d'un ISRS engendre une désensibilisation fonctionnelle de l'autorécepteur 5-HT1A conditionnant son effet antidépresseur (D'après(David and Gardier, 2016)

L'activité des neurones 5-HT du DRN peut également être modulée positivement par les récepteurs 5-HT2B couplés positivement à une protéine Gq. Les neurones sérotoninergiques du raphé expriment à la fois les récepteurs 5-HT1A et 5-HT2B, indiquant que ces 2 récepteurs pourraient tous les deux participer à la régulation du tonus sérotoninergique (Diaz et al., 2012). En particulier, il a été rapporté que la stimulation du récepteur 5-HT2B augmente les $[5\text{-HT}]_{ext}$ hippocampiques tandis que les effets des ISRS sont perdus chez les souris mutantes privées du récepteur 5-HT2B, soutenant un rôle excitateur de ce récepteur sur l'activité des neurones sérotoninergiques (Doly et al., 2008; Diaz and Maroteaux, 2011; Diaz et al., 2012). De même, chez des souris invalidées pour le récepteur 5-HT2B uniquement dans les neurones sérotoninergiques, on reproduit l'absence d'effets des ISRS. Ces souris présentent également une diminution de la décharge des neurones sérotoninergiques du DRN (Belmer et al., 2018).

II.4 Les inhibiteurs de recapture de la noradrénaline et les inhibiteurs mixtes de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline

Deux autres classes d'antidépresseurs ont vu le jour. Ces antidépresseurs exercent leurs effets thérapeutiques via le blocage de la recapture de NA et/ou celle de la 5-HT. Si les inhibiteurs de recapture de la noradrénaline (IRN) ciblent le transporteur NAT, les inhibiteurs mixtes de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN) ont le même mécanisme d'action que les TCAs mais présentent une meilleure balance bénéfique/risque en raison d'effets indésirables moins importants notamment au sujet de la cardiotoxicité.

Le premier agent noradrénergique purement sélectif disponible à ce jour est la reboxétine (Wong et al., 2000a). Lorsqu'elle est administrée de manière aigüe, la reboxétine diminue la fréquence de décharge des neurones noradrénergiques. Le blocage du NAT induit une augmentation des concentrations extracellulaires de NA ([NA]ext) notamment dans le LC. Dans cette structure on retrouve des autorécepteurs α2 régulant de manière négative le tonus noradrénergique (Starke, 2001). Ces données sont cohérentes avec des études de microdialyse intracérébrale réalisées chez le rongeur montrent que la réboxetine ainsi que l'atomoxétine augmentent les [NA]ext dans les aires de projections noradrénergiques telles que le PFC et l'hippocampe (Sacchetti et al., 1999; Bymaster et al., 2002b; Page and Lucki, 2002).

Des résultats similaires ont également été retrouvés avec les IRSN (Invernizzi and Garattini, 2004). Cependant, comme pour les ISRS, les effets bénéfiques chez l'humain apparaissent qu'après un traitement au long cours. Contrairement aux ISRS, la reboxetine (IRN) ou encore le milnacipran (IRSN) n'induisent pas de changement adaptatif sur la sensibilité des autorécepteurs $\alpha 2$ présents au niveau des somas des neurones puisque ces derniers n'auraient pas la capacité de se désensibiliser (Lacroix et al., 1991; Mongeau et al., 1998; Szabo and Blier, 2001). Toutefois, il est intéressant de noter que les récepteurs $\alpha 2$ terminaux sont capables de se désensibiliser (Parini et al., 2005). Toutefois malgré des mécanismes qu'il reste encore à décrire de manière plus fine, il apparaît que cette classe d'antidépresseur et notamment les IRSN agissent sur les symptômes dépressifs chez l'humain (Partie 2 - section II.5) ainsi que dans les modèles précliniques.

Ces antidépresseurs viennent ainsi compléter l'arsenal des traitements antidépresseurs avec l'espoir pour les inhibiteurs mixtes d'une meilleure efficacité que les ISRS en raison d'une action sur deux systèmes monoaminergiques. Au sein de cette classe d'antidépresseurs on retrouve :

- les IRN bloquant exclusivement le NAT telle la reboxetine (Edronax®) ou l'atomoxétine (Strattera®) (Bymaster et al., 2002b; Page, 2003).
- les IRSN bloquant à la fois la recapture de la sérotonine et de la noradrenaline telle la venlafaxine (Effexor®), la duloxétine (Cymbalta®) et le milnacipram (Ixel®) (Sánchez and Hyttel, 1999; Bymaster et al., 2001; Millan et al., 2001; Vaishnavi et al., 2004).

II.5 Le cas de la venlafaxine

Au cours de mes travaux de thèse, j'ai utilisé la venlafaxine comme antidépresseur de référence. Cette revue de la littérature écrite pendant le confinement, décrit le profil pharmacologique de cet IRSN depuis ses propriétés *in vitro* jusqu'à ses effets antidépresseurs dans les modèles animaux de dépression. De plus, cette revue synthétise également les données concernant l'efficacité de la venlafaxine chez le patient dépressif et présente les mécanismes neurobiologiques sous-jacents. Des travaux récents suggèrent que l'efficacité de la venlafaxine reposerait sur sa capacité à remodeler la matrice extracellulaire des interneurones GABAergiques, une piste que nous avons explorés au cours de mes expériences de thèse.

Revue – « Propriétés psychopharmacologiques et profil thérapeutique de la venlafaxine »

Psychopharmacology

Basile Coutens[1], Antoine Yrondi[2], Claire Rampon[1,†], Bruno P. Guiard[1,†,*]

[1] Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, 31000 Toulouse, France.

[2] Département de psychiatrie, CHU Toulouse-Purpan, Toulouse NeuroImaging Center, ToNIC, Université de Toulouse, Inserm, 31059 Toulouse, France

Cette revue de la littérature est soumise et en cours de révision.

Résumé

La dépression majeure est l'un des troubles psychiatriques les plus courants dans le monde. Les antidépresseurs actuellement disponibles ciblent le système sérotoninergique mais présentent d'importantes limites thérapeutiques. De nombreux traitements ont été développés pour contourner ces problèmes comme la venlafaxine, un inhibiteur mixte de recapture de la sérotonine (5-HT) et de la noradrénaline (NA). Cet agent se lie et bloque les transporteurs de SERT et NAT de la 5-HT et de la NA. Malgré ce profil pharmacologique, il est difficile d'avoir un aperçu valable de sa capacité à produire une efficacité plus robuste que les inhibiteurs sélectifs de recapture. Dans cette revue, nous fournissons une caractérisation approfondie des propriétés de la venlafaxine, depuis données *in vitro* jusqu'à l'efficacité clinique chez les patients déprimés.
Les études précliniques montrent que l'effet antidépresseur de la venlafaxine est souvent associé à une augmentation de la neurotransmission sérotoninergique à faibles doses. En revanche, des doses élevées provoquent une augmentation concomitante des concentrations extracellulaires de 5-HT et NA dans différentes régions cérébrales. L'hippocampe semble jouer un rôle crucial dans les effets antidépresseurs de la venlafaxine en stimulant plusieurs processus de neuroplasticité. Bien qu'il n'existe pas d'études comparatives entre la venlafaxine et les autres antidépresseurs, plusieurs méta-analyses montrent une aussi bonne efficacité clinique sur les symptômes dépressifs que les antidépresseurs classiques mais une tolérance plus faible. En conclusion, il apparait que la venlafaxine représente un des traitements les plus efficaces pour lutter contre la dépression majeure bien que des études comparatives complémentaires sont nécessaires pour fournir des conclusions définitives sur sa supériorité.

Psychopharmacological properties and therapeutic profile of the antidepressant venlafaxine

Psychopharmacology

Basile Coutens[1], Antoine Yrondi[2], Claire Rampon[1,†], Bruno P. Guiard[1,†,*]

Affiliations

[1] Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, 31000 Toulouse, France.

[2] Département de psychiatrie, CHU Toulouse-Purpan, Toulouse NeuroImaging Center, ToNIC, Université de Toulouse, Inserm, 31059 Toulouse, France

[†] Co-direction of this review

[*] Correspondence should be addressed to Bruno P. Guiard at bruno.guiard@univ-tlse3.fr.

Contributors. B.P. Guiard and C. Rampon designed the study. B. Coutens and A. Yrondi managed the literature searches and wrote the first draft of the manuscript. All authors contributed to and have approved the final manuscript.

Acknowledgment. Illustrations were created using Biorender image database.

Role of the Funding source. The authors declare no competing financial interests.

Conflicts of interests. The authors declare no conflicts of interests

Abstract

Major depression is one of the most common psychiatric disorders worldwide. Currently, available antidepressants target the serotonin system but have important limitations. Numerous treatments have been developed to circumvent these issues as venlafaxine, a mixed serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor that binds and blocks monoamine transporters. Despite this pharmacological profile, it is difficult to have a valuable insight into its ability to produce more robust efficacy than single-acting agents.

In this review, we provide an in-depth characterization of the properties of venlafaxine from in vitro data to preclinical and clinical efficacy in depressed patients and relevant animal models to compare it to the most common antidepressants.

Preclinical studies show that its antidepressant effect is often associated with enhancing serotonergic neurotransmission at low doses. In contrast, high doses elicit a concomitant increase in 5-HT and NE tones in different brain structures. The hippocampus appears to play a crucial role in venlafaxine-mediated antidepressant effects stimulating several neuroplasticity processes. Although there are no comparative studies between venlafaxine and the other antidepressant drugs, venlafaxine appears to be one of the most effective treatments. It also shows a high efficacy on depressive symptoms at the clinical level but to the same extent as common antidepressants depending on the dose used. However, these data are counterbalanced by a lower tolerance. In conclusion, venlafaxine appears to be one of the most effective treatments for treatment of major depression. Still, direct comparative studies are warranted to provide definitive conclusions about its superiority.

Abbreviations

5-HT, 5-hydrotryptamine or serotonin; 5-HT1A, serotonin 1A receptor; 5-HT1B, serotonin 1B receptor; $[5\text{-HT}]_{ext}$, extracellular serotonin; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; CA3, Ammon's horn 3; cFST, chronic forced swim test; CI, confidence interval; CNS, central nervous system; CORT, corticosterone; CSD, chronic social defeat; DA, dopamine; DAT, dopamine transporter; $[DA]_{ext}$, extracellular dopamine; DRN; dorsal raphe nucleus; ED50, median effective dose; EPM, elevated plus maze; EZM, elevated zero maze; FST, forced swim test; HAM-D, Hamilton depressive rating scale; HPA, Hypothalamic–pituitary–adrenal axis; LC, locus coeruleus; LPS, lipopolysaccharide; MADRS, Montgomery-Asberg rating scale; MD, mean difference; MDD, major depressive disorder; MED, minimal effective dose; MMP, matrix metalloproteinase; MS, maternal separation ; NE, norepinephrine or noradrenaline; NET, norepinephrine transporter ; $[NE]_{ext}$, extracellular norepinephrine, NNT, number needed to treat; NRI, norepinephrine reuptake inhibitor; NSF, novelty suppress feeding; OB, olfactory bulbectomy; OCT2, organic cation transporter 2; OF, open field; OR, odd ratio; OVX, ovariectomy; PNN, perineuronal net; POCD, post-operative cognitive dysfunction; PV, parvalbumine; RCT, random control trial; RR, risk ratio; RT50, recovery time 50; SERT, serotonin transporter; SMD, standard mean difference; SNRI, serotonin-noradrenaline reuptake inhibitor; SPT, sucrose preference test; SSRI, selective serotonin reuptake inhibitor; ST, splash test; TCA, tricyclic antidepressant; TST, tail suspension test; UCMS, unpredictable chronic mild stress; VTA, ventral tegmental area; WHO, world health organization

Keywords: Venlafaxine, 5-HT, NE, Major Depression Disorder, Antidepressants

1. INTRODUCTION

Major depressive disorder (MDD) is a mental disorder characterized by numerous and persistent symptoms such as anhedonia, anxiety, despair, social withdrawal, cognitive deficits, sleep disturbance, and feelings of guilt. According to the World Health Organization (WHO), more than 250 million patients will suffer from MDD in the coming years worldwide. The pathophysiological mechanisms underlying MDD are not yet fully understood, but the monoamine-deficiency hypothesis is now well accepted. This hypothesis stipulates that the occurrence of MDD is associated with deficiencies of the three main monoamine neurotransmitters, namely 5-hydroxytryptamine (5-HT), norepinephrine (NE), and dopamine (DA). On the contrary, stimulating monoaminergic transmission using monoamine reuptake inhibitors or monoamine oxidase inhibitors have proven to be effective in improving mood [1]. By inhibiting the serotonin transporter (SERT), the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) such as fluoxetine, paroxetine, or (es)-citalopram block 5-HT reabsorption into neurons, thereby increasing extracellular serotonin concentrations in the synaptic cleft. Although the monoamine-deficiency hypothesis does not fully capture the complex dimension of MDD, efforts are still underway to improve the effectiveness of SSRIs [2]. It is well documented that this class of antidepressants effectively relieves the symptoms of depression in 60%–65% of the cases. However, a significant proportion of depressed patients does not respond appropriately to these treatments [3]. Moreover, the remission rate of ~30% is low, and even if antidepressants rapidly increase the extracellular levels of monoamines in the central nervous system (CNS), the first therapeutic signs often take several weeks (i.e., 4-6) to appear.

Owing to the etiological heterogeneity of MDD and the obvious therapeutic limits of SSRIs, it is difficult to conceive that modulating serotonergic neurotransmission alone can generate beneficial and enduring effects in all patients [4]. In this context, research in neuropsychopharmacology aims to improve the therapeutic activity of pharmacological drugs that enhance serotonergic tone. It has been postulated that the concomitant inactivation of the SERT and NE transporters (NET) could produce more potent effects than single-acting compounds [5]. However, it is still unclear whether adding the noradrenergic component yields more robust antidepressant effects. This review provides a synthetic overview of current knowledge of the pharmacological properties of venlafaxine from preclinical and clinical studies. Preclinical studies have focused on the mechanisms of action of venlafaxine and its behavioral effects. In contrast, clinical trials or meta-analyses were designed to compare this drug's efficacy with other conventional antidepressant treatment options and highlight its potential superiority.

2. PHARMACOLOGICAL PROFILE OF VENLAFAXINE

The venlafaxine binding profile was initially conducted in vitro and its affinity for different pharmacological targets was evaluated. In rats and humans, a preferential interaction of venlafaxine with SERT compared to NET was reported, whereas its affinity for DAT is very low and insignificant in both species [6,7]. Venlafaxine displays a preferential (30-fold higher) affinity for the SERT compared to NET (i.e., KiSERT: 82 nM vs. KiNET: 2480 nM) in the rat brain [6]. The affinity of venlafaxine towards other pharmacological targets involved in the modulation of cerebral monoaminergic neurotransmission (serotonergic, adrenergic, dopaminergic, muscarinic, and histaminergic receptors) was also evaluated. It appears that venlafaxine displays a negligible off-target affinity supporting the idea that it could lack of side effects, notably those observed with the tricyclics (TCAs).

Regarding its functional activity, venlafaxine blocks the SERT at the dose of 8 mg/kg in mice, while a twice higher dose is necessary to inhibit the NET [8]. In line with the latter observations, it inhibits 5-HT reuptake in a potent and robust manner at the dose of 75 mg in depressed patients, whereas higher doses (i.e., 150-225 mg) are required to induce NE reuptake inhibition [9]. These data demonstrate that depending on the dose, venlafaxine can specifically target serotonergic neurotransmission alone or both serotonergic and noradrenergic tones without acting on off-targets.

3. IN VIVO PRECLINICAL STUDIES OF VENLAFAXINE PROPERTIES

3.1. Electrophysiological properties of venlafaxine

The electrophysiological properties of venlafaxine on monoaminergic neurons have been extensively investigated. Due to its ability to block the SERT and the NET, this compound produces a strong impact on both 5-HT and NE systems, associated with different acute and chronic effects. To understand the *in vivo* electrophysiological properties of venlafaxine, it is essential to bear in mind that monoamine transporters are expressed in the cell bodies regions (either on collaterals or directly on soma) and that their inhibition influences neuronal firing rate due to the presence of presynaptic inhibitory autoreceptors (Figure 1, Table 1).

- *3.1.1 Acute in vivo studies on monoaminergic neurons*

Initial electrophysiological studies demonstrate that the acute administration of venlafaxine dose-dependently inhibits the spontaneous firing rate of dorsal raphe nucleus (DRN) 5-HT neurons with an ED50 value of 233 µg/kg i.v. in anesthetized rats [10]. Evidence shows that the 5-HT1A receptor antagonist WAY 100635 abolishes this inhibitory response [7,11–13]. This demonstrates that venlafaxine leads to an accumulation of 5-HT around 5-HT cell bodies, which in turn, stimulates inhibitory somatodendritic 5-HT1A autoreceptors. Regarding noradrenergic neurons, studies show that they are also dose-dependently inhibited by venlafaxine, but to a lesser degree. Indeed, the spontaneous firing of locus coeruleus (LC) NE neurons is inhibited by venlafaxine with an ED50 of 727 µg/kg i.v [10]. This response is abolished in the presence of alpha2-adrenergic receptor antagonist, idazoxan [14], raising the possibility that the over-activation of inhibitory somatodendritic alpha2-adrenergic receptors mediates such response.

- *3.1.2 Sub-chronic and chronic in vivo studies on monoaminergic neurons*

Single-unit recordings in the rat DRN show that two days of subcutaneous administration of venlafaxine (10 mg/kg) decreases the activity of 5-HT neurons and to a lesser extent, NE neurons [15], as observed after acute administration [10]. In marked contrast, this effect is no longer observed after 21 days of treatment, suggesting a progressive attenuation of the inhibitory feedback exerted by somatodendritic 5-HT1A autoreceptors. This is evidenced by the fact that venlafaxine desensitizes these autoreceptors after 21 days of treatment at doses of 10 to 40 mg/kg [15]. In contrast, single-unit recordings in the LC show that the inhibitory action of venlafaxine persists after 14 and 21 days of treatment (10 – 40 mg/kg). Although the reasons for such differences between the 5-HT

and NE systems remain debatable, it was proposed that the alpha-2-adrenergic autoreceptors do not have the peculiarity to desensitize [14,16].

- *3.2.1 In vivo studies on postsynaptic monoaminergic neurons*

At the nerve terminals and particularly in the hippocampus, postsynaptic pyramidal CA3 neurons are sensitive to 5-HT and NE. These post-synaptic neurons express 5-HT1A and alpha-2 heteroreceptors which mediate inhibitory responses. Accordingly, acute intravenous administration of venlafaxine (5 mg/kg) in rats results in a massive (73%) suppression of CA3 pyramidal neurons firing, similar to the effects of the SSRI paroxetine [15]. Interestingly, this effect is reversed by the 5-HT1A antagonist WAY100635 [15]. Hence, any increase in extracellular 5-HT levels, but also of NE, results in the progressive attenuation of postsynaptic neuronal activity. This property has been successfully used to assess the in vivo potency of pharmacological agents known to inhibit monoaminergic transporters. Indeed, the time required for the firing activity to recover 50% of the initial firing rate after application of 5-HT or NE (recovery time: RT50 value) is an indication of reuptake inhibitors' ability to maintain 5-HT and/or NE in the synaptic cleft. The higher the RT50 value, the higher the ability to block the transporters. Of note, the subcutaneous administration of venlafaxine at 16 mg/kg significantly increased the RT50 after the microiontophoretic application of 5-HT or NE [8]. This highlights the ability of venlafaxine to prolong inhibitory actions of 5-HT and NE onto CA3 pyramidal cells by blocking their respective transporters. Interestingly, the genetic depletion of the organic cation transporter 2 (OCT2), a transporter exhibiting low affinity for monoamines, potentiates venlafaxine-induced increase in RT50 [8]. This suggests that residual 5-HT and NE could be removed from the synaptic cleft by OCT2.

Chronic administration of venlafaxine (21 days by osmotic minipumps at either 10 or 40 mg/kg/day) increases RT50 for 5-HT [15]. The authors show an enhancement of serotonergic neurotransmission after 21-days of treatment with venlafaxine, and this effect is only achieved under conditions where the desensitization of the terminal 5-HT1B autoreceptors is appended to the somatodendritic 5-HT1A receptors [15]. Remarkably, RT50 for NE is increased only at the dose of 40 mg/kg/day, corroborating a preferential effect on SERT inhibition over NET inhibition [15]. Taken together, these data confirm the above-mentioned *in vitro* data that venlafaxine blocks the reuptake of 5-HT and to a lesser degree NE.

3.3. Neurochemical properties of venlafaxine

- *3.3.1. Monoamine's neurotransmission and autoreceptors*

The neurochemical effects of venlafaxine on extracellular monoamines have been assessed in different brain structures using *in vivo* microdialysis in rodents.

In the rat frontal cortex, Millan and collaborators examined the acute effects of increasing doses of subcutaneous venlafaxine on the extracellular concentrations of the three monoamines ([5-HT]ext, [NE]ext and [DA]ext). In agreement with venlafaxine ability to block the SERT and the NET, the authors observed a significant and dose-dependent increase of [5HT]ext starting from 0.63 mg/kg up to 40 mg/kg of venlafaxine with a maximal increase of 400% from baseline. Likewise, venlafaxine increases [NE]ext approximately by 500% which remains elevated for up to 3 hours after subcutaneous administration of the antidepressant at the dose of 40 mg/kg. Although

venlafaxine has no affinity for the DAT, increases of cortical [DA]ext are also detected in response to venlafaxine from 2.5 mg/kg up to 40 mg/kg [7]. It was proposed that the pharmacological inactivation of the NET might prevent DA reuptake by a heterologous reuptake process [17,18]. Regarding NE, a significant increase of [NE]ext was detected in the rat brain following administration of 3 to 30 mg/kg of venlafaxine [19,20]. Similar results were obtained from mice in which intraperitoneal administration of venlafaxine at the dose of 30 mg/kg also increased the cortical extracellular concentrations of the three monoamines [21]. In mice, the effects of venlafaxine on [5HT]ext (but not on [NE]ext) were even observed at a lower dose (i.e. 8 mg/kg) [22]. It should be noted that all these data originate from non-depressed mice. In the rat hippocampus, another brain region critically involved in MDD, the acute subcutaneous administration of venlafaxine (5, 10, and 20 mg/kg) fosters [5HT]ext and [NE]ext [7,23]. In the rat striatum and nucleus accumbens, venlafaxine (10 mg/kg, s.c) induces an increase in [5HT]ext whereas [DA]ext remains unchanged [7].

Only a few studies assessed the effect of chronic venlafaxine on monoaminergic neurotransmission. Surprisingly, a 14 or 21 day-period of subcutaneous or intraperitoneal administration of venlafaxine at the doses of 10 and 30 mg/kg does not affect cortical [5HT]ext, [NE]ext, and [DA]ext basal levels [7,21]. Gur and colleagues also evaluated the effect of the intraperitoneal administration of venlafaxine at the dose of 5 mg/kg for 28 days and again, they did not observe significant effects on [5HT]ext [24]. However, another study reports that the chronic subcutaneous administration of venlafaxine for 14 days at the dose of 10 mg/kg increases cortical [5HT]ext and [NE]ext and that such effects could be potentiated by an OCT2 pharmacological blocker [25]. This finding further confirms that OCT2 contributes to the clearance of the remaining 5-HT and NE in the synaptic cleft.

3.4. Behavioral effects of venlafaxine

Preclinical studies have explored its antidepressant properties in naïve non-stressed animals and in various animal models of depression. These include animals submitted to unpredictable chronic mild stress (UCMS), chronic social defeat (CSD), maternal separation (MS), olfactory bulbectomy (OB), ovariectomy (OVX) or to prolonged administration of corticosterone (CORT). This part of the review focuses on the behavioral effects of venlafaxine on mice.

• *3.4.1. In healthy mice*

The efficacy of venlafaxine on mice depressive-like behavior was mainly evaluated using the FST and the TST tests and a wide range of doses was screened (from 1 up to 80 mg/kg). Michel Bourin's group was the first to evaluate the behavioral effects of venlafaxine in mice and reported that its acute venlafaxine (8 mg/kg to 64 mg/kg) elicits antidepressant-like effects in the FST and TST as evidenced by a reduction of animal's immobility time. This study also showed that 8 mg/kg of venlafaxine blocks 5-HT reuptake inhibition, while doses above 16 mg/kg seem to inhibit the SERT and the NET [26]. Such beneficial effects are unlikely to result from a psychostimulant effect since high doses of venlafaxine do not influence locomotor activity [14]. Of note, most of the subsequent studies did not demonstrate the antidepressant-like effects of venlafaxine when doses below 8 mg/kg were used [27–30] (Table 2). However, some studies report beneficial effects of venlafaxine intraperitoneal administration at doses of 4 [31] (Table 2). To explain these mixed results, the importance of mice strain and gender was explored

(variables not shown in Table 2). It appears that most studies used males and that C57BL6 and albino (CD1/SWISS/LACA) mice were more prone to respond to low doses (<8 mg/kg) of venlafaxine. The mode of administration could be another important parameter of venlafaxine efficacy since its antidepressant-like effects appear at 80 mg/kg but not at 20 mg/kg when given orally [32].

Collectively, these data suggest that in non-pathological conditions, the acute administration of venlafaxine produces antidepressant-like effects at doses ranging from 8 to 80 mg/kg and that the expression of its beneficial effects does not necessarily require the noradrenergic system.

With respect to sub-chronic (< 7 days) administration, two studies tested whether prolonged treatment with venlafaxine could produce more robust effects than those observed after acute administration [33,34]. It is noteworthy that the antidepressant-like effects of venlafaxine (10 mg/kg; i.p.) were observed in both FST and TST, following daily drug administration during three consecutive days [33]. In another work, venlafaxine was administered for five days at either 10 or 30 mg/kg, and despair was evaluated each day in the FST [34]. Remarkably, at 10 mg/kg venlafaxine produced antidepressant-like effects observable from the first day of treatment, and this response persisted to the fourth day. In contrast, at 30 mg/kg venlafaxine triggered antidepressant-like effects only after three and four days of treatment. Considering these data, one would anticipate that chronic administration of venlafaxine also promotes positive effects in the FST and TST. Indeed, such beneficial effects were observed from the seventh day of treatment in the TST and after two weeks of exposure in the FST and TST [35]. It is plausible that such delay coincides with the time required for the cellular and structural adaptations that underlie the therapeutic effect of antidepressants and contribute to the adaptive plasticity induced in the brain by these drugs. In another study, two weeks of venlafaxine at the dose of 16 mg/kg had no antidepressant-like effect [36]. However, after three weeks of treatment, venlafaxine 4 [37] and 5 [38] mg/kg elicited antidepressant-like effects in the FST and TST. Higher doses were also tested (10 – 20 mg/kg), revealing a dose-response relationship [38]. After 4 weeks of treatment with venlafaxine (10 mg/kg, p.o.) antidepressant-like effects were also observed in the TST [39]. Although interesting, these data focused on despair and further experiments are needed to determine whether venlafaxine also acts on other symptoms of depression.

The acute anxiolytic effect of venlafaxine was assessed using a large spectrum of concentrations (i.e. 10 – 60 mg/kg) and found from 30mg/kg [40]. Despite the beneficial effect on anxiety of a single administration of venlafaxine, several studies failed to demonstrate anxiolytic-like effects of this drug when administered chronically. Indeed, two or four weeks of venlafaxine at the dose of 10 or 16 mg/kg had no effect on the time spent in the open arms or in the center of the arena in the EPM, OF or EZM test [39,41,42].

Altogether, studies using acute, sub-chronic, and chronic administration of venlafaxine in naive mice suggest that over 8 mg/kg, venlafaxine elicits antidepressant-like effects on despair (Table 2). Furthermore, additional anxiolytic effects of venlafaxine are observed after acute administration when administered at high dose, whereas prolonged treatment does not.

- *3.4.2. In mouse models of depression*

A review of the literature reveals 12 publications evaluating the effects of venlafaxine in mouse models of depression. Among them, 3 used the chronic forced swimming test (cFST) model which involves subjecting mice

to repeated swimming stress. In one study, mice are submitted to this protocol for 21 consecutive days while receiving low doses of venlafaxine (from 2 to 16 mg/kg) [37]. Antidepressant-like effects in the FST and tail suspension test (TST) were observed only after three weeks of treatment at the dose of 4 mg/kg. At higher doses (8 and 16 mg/kg), the antidepressant-like effects occur after two weeks of treatment [37,43]. In another study, the cFST is applied for one week while mice receive venlafaxine at doses of 5 and 10 mg/kg. An immediate beneficial effect persisting for seven days was revealed [44]. At the end of this experimental procedure, anxiolytic effects were also found in the elevated plus maze (EPM) and the Mirror Chamber Test (approach-avoidance test when animals are confronted by a mirror), whatever the dose administered [44].

The behavioral effects of venlafaxine were also tested in the chronic social defeat (CSD) model of depression which consists in repeatedly exposing naïve mice to aggressor mice. Venzala and colleagues treated mice with venlafaxine for four weeks at a dose of 20 mg/kg before submitting them to a battery of behavioral tests. They observed antidepressant-like effects in the FST and Sucrose Preference Test (SPT), anxiolytic responses in the EPM and Novelty Suppressed Feeding (NSF). However, venlafaxine did not abolish the deficit in the social interaction test [45]. In a different study, mice were treated with venlafaxine for six weeks at the dose of 16 mg/kg before evaluating their behavior [46]. While no antidepressant nor anxiolytic effects were seen in the FST and TST or EPM, an improved capacity for social interaction was observed in these animals [46]. Moreover, in postoperative cognitive dysfunction (POCD), venlafaxine (16 mg/kg; i.p.) was shown to increase working memory in the Y-maze [47]. Furthermore, mice submitted to mechanical and cold hyperalgesia induced by repeated injection of oxaliplatin, developed traits characteristic of an anxiety-depressive phenotype, whereas the acute venlafaxine treatment (16 mg/kg, s.c) alleviated neuropathic pain and promoted antidepressant-like effects in these animals [48].

In two other studies, mice submitted to the Unpredictable chronic mild stress (UCMS) were used to address venlafaxine's antidepressant properties. After 7-days of venlafaxine (10 mg/kg, i.p.) treatment, antidepressant-like effects were observed in the FST and TST, while only 3 days of treatment were not sufficient to elicit such effects [33]. As expected, prolonged treatment of UCMS mice with venlafaxine 10 mg/kg (i.e., 8 weeks, i.p.) also produced antidepressant-like effects in these behavioral paradigms [49].

Chronic administration of corticosterone (CORT) in the drinking water of mice is a widely used model depression, which allows screening the effects of antidepressant drugs. For instance, an eight week-period of CORT exposure induces depressive-like behaviors which are reversed by monoaminergic antidepressant drugs [50]. Indeed, 3 weeks (16mg/kg) chronic administration of venlafaxine exerted antidepressant- and anxiolytic-like effects in the splash test (ST) and the zero-maze respectively [8]. Interestingly, studies showed that ovariectomy (OVX)-induced depressive-like symptoms in females are reversed by long-term intragastric administration of venlafaxine. In a first study, depressive-like behaviors occurred 8 weeks only after ovariectomy, and venlafaxine (70 mg/kg, intragastric) therapeutic action in the TST is observed as early as after 1 and 2 weeks of treatment in OVX mice compared to vehicle mice while depressive-like behavior occurred only 8 weeks after ovariectomy [51]. More recently, these authors reported that intragastric administration of venlafaxine (9.75 mg/kg) in OVX females had no effect in the EPM [52]. Last, Poretti et al (2016) used bulbectomy-induced depressive-like behavior in mice. In this model, the oral administration of venlafaxine (5 to 20 mg/kg) elicited antidepressant effects in the TST after 3-weeks of chronic treatment at the highest dose (20 mg/kg) while antidepressant effects were observed after 4-

weeks of treatment at 10 to 20 mg/kg [53]. The lowest dose (5 mg/kg) did not induce a change in immobility time in this test.

The literature review indicates that venlafaxine displays antidepressant-like effects in various mouse models of depression, when administered acutely, sub-chronically as well as chronically (Table 3). The effective dose, i.e., the dose that promotes beneficial behavioral effects on anxiety, was found to start at 8 mg/kg, although a few studies have documented antidepressant-like effects at lower doses. Interestingly, most studies of chronic venlafaxine administration show that venlafaxine becomes effective after a minimum of three weeks of treatment, as is the case with conventional antidepressants (i.e., SSRI).

4. MECHANISM OF ACTION VENLAFAXINE: EMPHASIS ON BRAIN PLASTICITY

4.1. Impact of venlafaxine on adult hippocampal neurogenesis

Ex vivo studies evaluated the influence of animal models of depression on Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF). They showed that corticosterone, mimicking an increased HPA reactivity and LPS induce a significant reduction of BDNF gene and protein expression in the frontal cortex and hippocampus [54–56]. Going one step further, several studies evaluated the effects of venlafaxine on BDNF expression and on hippocampal adult neurogenesis. After 7 days of administration, venlafaxine increases BDNF expression in the hippocampus [57] while fluoxetine fails to do so. In another study, 7 days of venlafaxine (10 mg/kg, p.o.) fails to modify hippocampal or cortical BDNF protein level [58]. Nevertheless, the authors reported enhanced cortical BDNF protein levels in response to the chronic administration of venlafaxine (21 days, 10 mg/kg, p.o.), while citalopram had no effect. Cortical and hippocampal BDNF levels were also increased after a 5-week period of venlafaxine treatment in rat (20 mg/kg, p.o) [59]. Interestingly, a 28-day period of venlafaxine treatment (10 mg/kg, p.o.) followed by 28 days of chronic restrained stress (CRS) without treatment in rat, enhanced BDNF expression [60]. In the same model of depression, systemic administrations of venlafaxine (5 mg/kg) for 14 and 21 days rescued hippocampal BDNF expression [61]. Following UCMS, a marked increase of BDNF expression was observed in the rat hippocampus after 28, but not 7 days, of venlafaxine [49,62].

Regarding the influence of venlafaxine on hippocampal neurogenesis, it was shown that the administration of a high (but not low) dose of venlafaxine (40 mg/kg) for 14 days increased cell proliferation in the dentate gyrus of rats [63]. In the chronic Chronic Restraint Stress (CRS) rat model, a 21-day treatment with venlafaxine (5 mg/kg, i.p.) rescues the impairment of hippocampal progenitors' proliferation [61]. Accordingly, Zhang and colleagues showed that the deleterious effects of UCMS on hippocampal cell proliferation were abolished by 21 days of venlafaxine (15 mg/kg, i.p.) [64]. Similar effects were found in the MS and UCMS models of depression after 14 days of venlafaxine treatment (respectively 20 & 5 mg.kg; p.o.) [65,66].

Another important step of adult neurogenesis is the survival of adult-born cells. While the expression of pro-apoptotic or anti-apoptotic molecules such as Bax or Bcl-xl are respectively up- and down-regulated in the hippocampus of UCMS submitted animals, a 21-day treatment with venlafaxine (15 mg/kg, p.o.) counteracts these effects [67]. Two studies confirm the anti-apoptotic role of venlafaxine. Indeed, in the UCMS, 28 days of

venlafaxine administration (10 mg/kg, i.p.) prevents the increase of apoptotic neurons in the hippocampus [62]. Moreover, Saad et al (2019) report that after 28-day of venlafaxine treatment, ovariectomized rats exhibit a marked reduction of hippocampal Bax/Bcl2 ratio, caspase-3 activity, and tumor necrosis factor alpha levels [68].
The ability of venlafaxine to influence cell fate choice during adult neurogenesis process was also studied. For this, primary astrocyte cultures were treated with different antidepressants including venlafaxine, imipramine, and fluoxetine [69]. In the presence of each of these drugs, cultured astrocytes rapidly acquired a neuronal morphology and expressed neuronal markers. This reveals a process that might contribute to the antidepressant-like effect of venlafaxine.

4.2. Impact of venlafaxine on fast-spiking interneurons extracellular matrix remodeling

Emerging evidence suggests that MDD impacts the remodeling of extracellular matrix in various brain regions. The extracellular matrix is the major constituent of perineuronal nets (PNNs) enwrapping parvalbumin (PV) expressing cells [70], a subpopulation of GABAergic interneurons. Although the role of PNNs is not fully understood, it has been proposed that they contribute to reinforce the activation of these GABAergic interneurons, through a better sensitivity to glutamatergic inputs [71,72]. As PV interneurons contact excitatory pyramidal cells in the hippocampus, PNNs significantly influence the excitatory/inhibitory (E/I) balance. Most notably, they alter this balance [73], an endpoint relevant to stress-induced depressive-like state [74,75]. In support of this assumption, an increase of PNNs has been reported in several animal models of depression such as the CSD or CORT models[76].
On the contrary, the digestion of PNNs with chondroitinase (ChABC) reduces the excitability of GABAergic interneurons [71,77] thereby increasing hippocampal activity. Interestingly, a chronic treatment with venlafaxine has been shown to reverse CORT-induced increase in PNNs as the result of an upregulation of metalloproteases (MMPs) such as MMP-9 [78–80]. MMPs are enzymes that cleave PNNs and subsequently reduce the activation of inhibitory PV interneurons [81]. As depicted in Figure 2, a new hypothesis in the field of neuropsychopharmacology posits that venlafaxine would attenuate the PNNs which in turn would restore a normal E/I balance in CORT-exposed mice (Figure 2). Interestingly, elevated MMP-9 levels were found in autopsy-derived prefrontal cortex samples of MDD patients treated with antidepressants compared to controls [79]. The involvement of MMP-9 in the regulation of emotional state is further supported by pharmacological or genetic studies showing that the inactivation of MMP-9 increases basal anxiety [82] but also despair and sociability in stressed animals [83]. Moreover, single nucleotide polymorphisms of MMP-9 have been unveiled in human and they have been associated with MDD [84,85] but also to treatment response [86].

5. EFFICACY OF VENLAFAXINE IN THE TREATMENT OF DEPRESSED PATIENTS

This is, now, well-established in clinics that venlafaxine is an efficient antidepressant treatment. Compared with placebo, a recent meta-analysis highlighted an odds-ratio (OR) of 1.78 [95% confidence intervals (95% CI)1.61-1.96] [87]. In the early 90's, a number of studies compared venlafaxine with SSRIs. A first study showed a greatest improvement of depressive symptoms (Montgomery Asberg Rating Scale (MADRS) and Hamilton Depressive

Rating Scale (HAM-D)) in the venlafaxine group (200mg/day) versus fluoxetine (40mg/day) after 4 and 6 weeks treatment, in a population with melancholic features [88]. However, this first study focused only in 34 patients in each group. A second study compared venlafaxine 75mg (n=153) to fluoxetine 25mg (n=161). A clinical improvement was reported in the two groups, without difference between groups. There was a subgroup analysis focusing on 88 patients for which there was an increase of venlafaxine from 75mg to 150mg and so targeting both monoaminergic systems. Significant differences were described in favor of venlafaxine about the HAM-D total from weeks 3 to 8 [89]. A first meta-analysis focusing on the efficacy of venlafaxine compared with SSRIs and other antidepressants highlighted that venlafaxine seemed more efficient than SSRIs. However, these results were less clear, focusing on other antidepressants such as TCAs. Moreover, this meta-analysis showed that venlafaxine carried an advantage of about 1.2 HAM-D points compared with all other antidepressants (total size effect: 0.14) and even a little more, when focusing specifically on SSRIs (size effect: 0.17). This decrease seemed too small to be clinically pertinent. In addition, the NNT (Number Needed to Treat) was of 19 (95%CI 11-63) for response and of 14 (95%CI 9-29) for remission [90]. Another meta-analysis, focusing on 17 randomized controlled studies, showed a trend towards superiority of venlafaxine over SSRIs in remission rates (risk ratio [RR]= 1.07, 95%CI=0.99 to 1.15), and a slight superiority in response rates (RR=1.06, 95%CI=1.01 to 1.12) over SSRIs. However, the NNT were 34 and 27 for remission and response, respectively. There was also a modest advantage for venlafaxine in change scores (using MADRS or HAM-D) (effect size=−0.09, 95% CI=−0.16 to −0.02, p=0.013; [91]. In addition, a meta-analysis of data from 39 published and unpublished clinical trials randomized 8659 patients (n = 4644 to venlafaxine; n = 4015 to an SSRI). This meta-analysis found that venlafaxine had a higher response rate than SSRIs (RR=1.084 95% CI=1.019–1.101) [92]. Another meta-analysis of 34 randomized, double-blind studies focusing only on remission rates, included 8744 patients (4191 patients treated with venlafaxine and 3621 treated with SSRIs). It showed that the difference in remission rates was 5.9% in favor of venlafaxine over SSRIs, as a class (95% CI= 0.038–0.081: p 0 .001). The NNT was 17 (95% CI: 12–26). Focusing on specific SSRIs, the difference from fluoxetine was significant (6.6% [95% CI: 0.030 –0.095]). The difference between paroxetine, sertraline and citalopram was not significant [93]. More recently, two other meta-analyses have addressed the efficacy of venlafaxine versus SSRIs. One focused on published studies. De Silva et al. noted that venlafaxine was superior to SSRIs by focusing on remission [odds ratio (OR= 1.13, 95% CI = 1.0–1.28, p = 0.05] and response (OR = 1.17, 95% CI = 1.03–1.34, p = 0.02). In addition, venlafaxine seemed to have a significantly better response rate than fluoxetine (OR = 1.28, 95% CI = 1.05–1.55, p = 0.01). There were no significant differences in response or remission between venlafaxine and other individual SSRIs [94]. The second meta-analysis included unpublished data. It showed that response rates were significantly higher for venlafaxine than for SSRIs (OR = 1.20, 95% CI 1.07–1.35). But, the remission rate was not higher for venlafaxine than for SSRIs (OR = 1.12, 95% CI 0.98–1.28) [95]. Recently, Cipriani et al. showed, in a network meta-analysis focused on comparing the efficacy of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with MDD, that fluoxetine is less effective than venlafaxine (OR= 0.84, 95% CI = 0.73-0.97) [87]. Interestingly, a very recent meta-analysis of venlafaxine and duloxetine, showed that non-RCTs (random clinical trials) are generally better suited to describe a drug efficacy in clinical practice than RCTs. However, it appears that non-RCTs are associated with a smaller size-effect than RCT [96]. In conclusion, it seems that venlafaxine is more effective than SSRIs (mainly fluoxetine which is one of the most prescribed) in terms of response rate, despite a relatively weak size effect measured on depression scales.

6. EFFECTIVENESS OF VENLAFAXINE COMPARED TO OTHER ANTIDEPRESSANT

In vitro binding studies report that venlafaxine displays a strong affinity for the human/rat SERT although a higher affinity is observed with an SSRI and a TCA (i.e., citalopram and clomipramine). Similarly, human NET/rat binding assays indicate that venlafaxine displays a good affinity for this target but to a lower extent than the NRI reboxetine [7]. Compared with other SNRIs (duloxetine and levomilnacipram), venlafaxine has also less affinity for the SERT and NET transporters [97,98] indicating that it represents a reliable SERT and NET blocker but not the best. *In vivo,* electrophysiological approaches show that venlafaxine and the SSRI paroxetine share the same potency at inhibiting the SERT even though there is no direct comparison [98]. This property worth mentioning because paroxetine is recognized as the most potent SSRI currently available. However, this remarkable pharmacological property is limited to the 5HT system because studies demonstrate that several antidepressants are more potent than venlafaxine at blocking the NET. Indeed, venlafaxine is less potent at blocking the NET than reboxetine or desipramine [97,98]. This *in vivo* electrophysiological profile can be compared with neurochemical studies using microdialysis. Comparing the minimal effective doses (MED) required to increase cortical extracellular 5-HT concentrations, Millan and collaborators showed that venlafaxine has a similar profile than citalopram but is four-fold lower than that of clomipramine [7], levomilnacipran and duloxetine [97]. As regards cortical extracellular NE concentrations, similar MED are found between venlafaxine and other SNRIs levomilnacipran and duloxetine [97] which is quite unexpected considering the *in vitro* binding studies and *in vivo* electrophysiological data. This likely emphasizes the fact that mechanisms occurring at the nerve terminals might change our predictions regarding the net effects of venlafaxine noradrenergic neurotransmissions and behavioral properties. Indeed, in terms of behavior, only few differences were detected between antidepressants when comparing venlafaxine with the SSRIs fluoxetine, sertraline, escitalopram, fluvoxamine), the SNRI duloxetine, the TCAs desipramine/imipramine) or other atypical antidepressants such as bupropion. Nevertheless, behavioral studies showed that venlafaxine has the lowest MED of the above-mentioned antidepressants in the TST and/or FST [28,99]. Such a difference could negatively reverberate on the onset of action of venlafaxine. In support of this hypothesis, it was shown in an animal model of depression, that the antidepressant-like effects of venlafaxine (20 mg/kg) occurred as soon as 21 days of treatment whereas a 14-day period is required with fluoxetine (20 mg/kg) to promote beneficial behavioral effects [53].

Collectively, it appears that venlafaxine is a potent SERT inhibitor and at higher doses, is also able to block NET as NRIs do. Behavioral studies did not yield strong evidence regarding the greater effects of venlafaxine compared to the other antidepressants. With respect to clinical practice, it appears that at higher doses, thus acting as a mixt SERT/NET inhibitor, venlafaxine shows superior effects than SSRIs on response rate, but these results have yet to be confirmed. However, these potential beneficial effects are accompanied by a weaker tolerance than SSRIs, especially during the first week of treatment, thus reducing compliance and possibly attenuating its response rate [100,101].

REFERENCES

1. Blier P. Rational site-directed pharmacotherapy for major depressive disorder. Int J Neuropsychopharm. 2014;17:997–1008.
2. Liu B, Liu J, Wang M, Zhang Y, Li L. From Serotonin to Neuroplasticity: Evolvement of Theories for Major Depressive Disorder. Front Cell Neurosci. 2017;11:305.
3. Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Stewart JW, Warden D, et al. Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR*D report. Am J Psychiatry. 2006;163:1905–17.
4. Hasler G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? World Psychiatry. 2010;9:155–61.
5. Guiard B, Mansari M, Blier P. Prospect of a Dopamine Contribution in the Next Generation of Antidepressant Drugs: The Triple Reuptake Inhibitors. CDT. 2009;10:1069–84.
6. Bymaster FP, Dreshfield-Ahmad LJ, Threlkeld PG, Shaw JL, Thompson L, Nelson DL, et al. Comparative affinity of duloxetine and venlafaxine for serotonin and norepinephrine transporters in vitro and in vivo, human serotonin receptor subtypes, and other neuronal receptors. Neuropsychopharmacology. 2001;25:871–80.
7. Millan MJ, Gobert A, Lejeune F, Newman-Tancredi A, Rivet JM, Auclair A, et al. S33005, a novel ligand at both serotonin and norepinephrine transporters: I. Receptor binding, electrophysiological, and neurochemical profile in comparison with venlafaxine, reboxetine, citalopram, and clomipramine. J Pharmacol Exp Ther. 2001;298:565–80.
8. Bacq A, Balasse L, Biala G, Guiard B, Gardier AM, Schinkel A, et al. Organic cation transporter 2 controls brain norepinephrine and serotonin clearance and antidepressant response. Mol Psychiatry. 2012;17:926–39.
9. Debonnel G, Saint-André E, Hébert C, de Montigny C, Lavoie N, Blier P. Differential physiological effects of a low dose and high doses of venlafaxine in major depression. Int J Neuropsychopharmacol. 2007;10:51–61.
10. Béïque JC, de Montigny C, Blier P, Debonnel G. Venlafaxine: discrepancy between in vivo 5-HT and NE reuptake blockade and affinity for reuptake sites. Synapse. 1999;32:198–211.
11. Artaiz I, Zazpe A, Innerárity A, Del Olmo E, Díaz A, Ruiz-Ortega JA, et al. Preclinical pharmacology of F-98214-TA, a novel potent serotonin and norepinephrine uptake inhibitor with antidepressant and anxiolytic properties. Psychopharmacology (Berl). 2005;182:400–13.
12. Béïque JC, Blier P, de Montigny C, Debonnel G. Potentiation by (-)Pindolol of the activation of postsynaptic 5-HT(1A) receptors induced by venlafaxine. Neuropsychopharmacology. 2000;23:294–306.
13. Gartside SE, Umbers V, Sharp T. Inhibition of 5-HT cell firing in the DRN by non-selective 5-HT reuptake inhibitors: studies on the role of 5-HT1A autoreceptors and noradrenergic mechanisms. Psychopharmacology (Berl). 1997;130:261–8.
14. Berrocoso E, Mico JA. In vivo effect of venlafaxine on locus coeruleus neurons: role of opioid, alpha(2)-adrenergic, and 5-hydroxytryptamine(1A) receptors. J Pharmacol Exp Ther. 2007;322:101–7.
15. Béïque J, de Montigny C, Blier P, Debonnel G. Effects of sustained administration of the serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor venlafaxine: I. in vivo electrophysiological studies in the rat. Neuropharmacology. 2000;39:1800–12.
16. Béïque J, de Montigny C, Blier P, Debonnel G. Effects of sustained administration of the serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor venlafaxine: II. In vitro studies in the rat. Neuropharmacology. 2000;39:1813–22.
17. Guiard BP, El Mansari M, Blier P. Cross-talk between dopaminergic and noradrenergic systems in the rat ventral tegmental area, locus ceruleus, and dorsal hippocampus. Mol

Pharmacol. 2008;74:1463–75.
18. Morón JA, Brockington A, Wise RA, Rocha BA, Hope BT. Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. J Neurosci. 2002;22:389–95.
19. Koch S, Hemrick-Luecke SK, Thompson LK, Evans DC, Threlkeld PG, Nelson DL, et al. Comparison of effects of dual transporter inhibitors on monoamine transporters and extracellular levels in rats. Neuropharmacology. 2003;45:935–44.
20. Beyer CE, Boikess S, Luo B, Dawson LA. Comparison of the effects of antidepressants on norepinephrine and serotonin concentrations in the rat frontal cortex: an in-vivo microdialysis study. J Psychopharmacol. 2002;16:297–304.
21. Higashino K, Ago Y, Umehara M, Kita Y, Fujita K, Takuma K, et al. Effects of acute and chronic administration of venlafaxine and desipramine on extracellular monoamine levels in the mouse prefrontal cortex and striatum. Eur J Pharmacol. 2014;729:86–93.
22. David DJP, Bourin M, Jego G, Przybylski C, Jolliet P, Gardier AM. Effects of acute treatment with paroxetine, citalopram and venlafaxine in vivo on noradrenaline and serotonin outflow: a microdialysis study in Swiss mice. Br J Pharmacol. 2003;140:1128–36.
23. Sánchez C, Brennum LT, Stórustovu S í, Kreilgård M, Mørk A. Depression and poor sleep: The effect of monoaminergic antidepressants in a pre-clinical model in rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2007;86:468–76.
24. Gur E, Dremencov E, Lerer B, Newman ME. Venlafaxine: acute and chronic effects on 5-hydroxytryptamine levels in rat brain in vivo. Eur J Pharmacol. 1999;372:17–24.
25. Rahman Z, Ring RH, Young K, Platt B, Lin Q, Schechter LE, et al. Inhibition of uptake 2 (or extraneuronal monoamine transporter) by normetanephrine potentiates the neurochemical effects of venlafaxine. Brain Research. 2008;1203:68–78.
26. Redrobe JP, Bourin M, Colombel MC, Baker GB. Dose-dependent noradrenergic and serotonergic properties of venlafaxine in animal models indicative of antidepressant activity. Psychopharmacology (Berl). 1998;138:1–8.
27. Bortolatto CF, Jesse CR, Wilhelm EA, Nogueira CW. Involvement of potassium channels in the antidepressant-like effect of venlafaxine in mice. Life Sci. 2010;86:372–6.
28. Castagné V, Porsolt RD, Moser P. Use of latency to immobility improves detection of antidepressant-like activity in the behavioral despair test in the mouse. Eur J Pharmacol. 2009;616:128–33.
29. Bourin M, Chenu F, Prica C, Hascoët M. Augmentation effect of combination therapy of aripiprazole and antidepressants on forced swimming test in mice. Psychopharmacology (Berl). 2009;206:97–107.
30. David DJ, Bourin M, Hascoët M, Colombel MC, Baker GB, Jolliet P. Comparison of antidepressant activity in 4- and 40-week-old male mice in the forced swimming test: involvement of 5-HT1A and 5-HT1B receptors in old mice. Psychopharmacology (Berl). 2001;153:443–9.
31. Kulkarni SK, Dhir A. Effect of various classes of antidepressants in behavioral paradigms of despair. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007;31:1248–54.
32. Yamada K, Kobayashi M, Mori A, Jenner P, Kanda T. Antidepressant-like activity of the adenosine A(2A) receptor antagonist, istradefylline (KW-6002), in the forced swim test and the tail suspension test in rodents. Pharmacol Biochem Behav. 2013;114–115:23–30.
33. Ren Z, Yan P, Zhu L, Yang H, Zhao Y, Kirby BP, et al. Dihydromyricetin exerts a rapid antidepressant-like effect in association with enhancement of BDNF expression and inhibition of neuroinflammation. Psychopharmacology (Berl). 2018;235:233–44.
34. Ide S, Fujiwara S, Fujiwara M, Sora I, Ikeda K, Minami M, et al. Antidepressant-like effect of venlafaxine is abolished in μ-opioid receptor-knockout mice. J Pharmacol Sci. 2010;114:107–10.

35. Liu J, Qiao W, Yang Y, Ren L, Sun Y, Wang S. Antidepressant-like effect of the ethanolic extract from Suanzaorenhehuan Formula in mice models of depression. J Ethnopharmacol. 2012;141:257–64.
36. Liang Z, Bai S, Shen P, Hu Q, Wang X, Dong M, et al. GC-MS-based metabolomic study on the antidepressant-like effects of diterpene ginkgolides in mouse hippocampus. Behav Brain Res. 2016;314:116–24.
37. Thomas J, Khanam R, Vohora D. Augmentation of antidepressant effects of venlafaxine by agomelatine in mice are independent of kynurenine pathway. Neurochem Int. 2016;99:103–9.
38. Abdel-Wahab BA, Salama RH. Venlafaxine protects against stress-induced oxidative DNA damage in hippocampus during antidepressant testing in mice. Pharmacol Biochem Behav. 2011;100:59–65.
39. Carlini VP, Poretti MB, Rask-Andersen M, Chavan RA, Ponzio MF, Sawant RS, et al. Differential effects of fluoxetine and venlafaxine on memory recognition: possible mechanisms of action. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2012;38:159–67.
40. Li X, Morrow D, Witkin JM. Decreases in nestlet shredding of mice by serotonin uptake inhibitors: Comparison with marble burying. Life Sciences. 2006;78:1933–9.
41. Hu Q, Shen P, Bai S, Dong M, Liang Z, Chen Z, et al. Metabolite-related antidepressant action of diterpene ginkgolides in the prefrontal cortex. Neuropsychiatr Dis Treat. 2018;14:999–1011.
42. Mirza NR, Nielsen EØ, Troelsen KB. Serotonin transporter density and anxiolytic-like effects of antidepressants in mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007;31:858–66.
43. Thomas J, Khanam R, Vohora D. Activation of indoleamine 2, 3- dioxygenase pathway by olanzapine augments antidepressant effects of venlafaxine in mice. Psychiatry Res. 2017;258:444–8.
44. Kumar A, Garg R, Gaur V, Kumar P. Venlafaxine involves nitric oxide modulatory mechanism in experimental model of chronic behavior despair in mice. Brain Res. 2010;1311:73–80.
45. Venzala E, García-García AL, Elizalde N, Delagrange P, Tordera RM. Chronic social defeat stress model: behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. Psychopharmacology (Berl). 2012;224:313–25.
46. Bai S, Zhang X, Chen Z, Wang W, Hu Q, Liang Z, et al. Insight into the metabolic mechanism of Diterpene Ginkgolides on antidepressant effects for attenuating behavioural deficits compared with venlafaxine. Sci Rep. 2017;7:9591.
47. Li L, Zhang C. Venlafaxine Attenuated the Cognitive and Memory Deficit in Mice Exposed to Isoflurane Alone. Front Neurol. 2021;12:591223.
48. Hache G, Guiard BP, Nguyen TH, Quesseveur G, Gardier AM, Peters D, et al. Antinociceptive activity of the new triple reuptake inhibitor NS18283 in a mouse model of chemotherapy-induced neuropathic pain. Eur J Pain. 2015;19:322–33.
49. Wang C-H, Gu J-Y, Zhang X-L, Dong J, Yang J, Zhang Y-L, et al. Venlafaxine ameliorates the depression-like behaviors and hippocampal S100B expression in a rat depression model. Behav Brain Funct. 2016;12:34.
50. David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang J-W, Marsteller D, Mendez I, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron. 2009;62:479–93.
51. Ye Y, Liu C, Liu X, Huang S. Ovariectomy changes the response to antidepressant drugs in tail suspension test in mice. Gynecol Endocrinol. 2016;32:986–90.
52. Xu H, Li W, Zhang B, Huang S, Liu X. Long-term estrogen deprivation changes the response to antianxiety drugs in mice in the elevated plus maze test. Gynecol Endocrinol.

2019;35:1054–8.
53. Poretti MB, Sawant RS, Rask-Andersen M, de Cuneo MF, Schiöth HB, Perez MF, et al. Reduced vasopressin receptors activation mediates the anti-depressant effects of fluoxetine and venlafaxine in bulbectomy model of depression. Psychopharmacology (Berl). 2016;233:1077–86.
54. Domínguez-Rivas E, Ávila-Muñoz E, Schwarzacher SW, Zepeda A. Adult hippocampal neurogenesis in the context of lipopolysaccharide-induced neuroinflammation: A molecular, cellular and behavioral review. Brain Behav Immun. 2021;S0889-1591(21)00245-2.
55. Lin LY, Luo SY, Al-Hawwas M, Herselman MF, Zhou XF, Bobrovskaya L. The Long-Term Effects of Ethanol and Corticosterone on the Mood-Related Behaviours and the Balance Between Mature BDNF and proBDNF in Mice. J Mol Neurosci. 2019;69:60–8.
56. Huang Z, Zhong X-M, Li Z-Y, Feng C-R, Pan A-J, Mao Q-Q. Curcumin reverses corticosterone-induced depressive-like behavior and decrease in brain BDNF levels in rats. Neuroscience Letters. 2011;493:145–8.
57. Larsen MH, Hay-Schmidt A, Rønn LCB, Mikkelsen JD. Temporal expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA in the rat hippocampus after treatment with selective and mixed monoaminergic antidepressants. Eur J Pharmacol. 2008;578:114–22.
58. Cooke JD, Grover LM, Spangler PR. Venlafaxine treatment stimulates expression of brain-derived neurotrophic factor protein in frontal cortex and inhibits long-term potentiation in hippocampus. Neuroscience. 2009;162:1411–9.
59. Czubak A, Nowakowska E, Kus K, Burda K, Metelska J, Baer-Dubowska W, et al. Influences of chronic venlafaxine, olanzapine and nicotine on the hippocampal and cortical concentrations of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Pharmacol Rep. 2009;61:1017–23.
60. Lapmanee S, Charoenphandhu J, Teerapornpuntakit J, Krishnamra N, Charoenphandhu N. Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety- and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats. PLoS One. 2017;12:e0187671.
61. Xu H, Luo C, Richardson JS, Li XM. Recovery of hippocampal cell proliferation and BDNF levels, both of which are reduced by repeated restraint stress, is accelerated by chronic venlafaxine. Pharmacogenomics J. 2004;4:322–31.
62. Huang X, Mao Y-S, Li C, Wang H, Ji J-L. Venlafaxine inhibits apoptosis of hippocampal neurons by up-regulating brain-derived neurotrophic factor in a rat depression model. Int J Clin Exp Pathol. 2014;7:4577–86.
63. Mostany R, Valdizán EM, Pazos A. A role for nuclear beta-catenin in SNRI antidepressant-induced hippocampal cell proliferation. Neuropharmacology. 2008;55:18–26.
64. Zhang X, Li X, Li M, Ren J, Yun K, An Y, et al. Venlafaxine increases cell proliferation and regulates DISC1, PDE4B and NMDA receptor 2B expression in the hippocampus in chronic mild stress mice. Eur J Pharmacol. 2015;755:58–65.
65. Belovicova K, Bogi E, Koprdova R, Ujhazy E, Mach M, Dubovicky M. Effects of venlafaxine and chronic unpredictable stress on behavior and hippocampal neurogenesis of rat dams. Neuro Endocrinol Lett. 2017;38:19–26.
66. Martisova E, Aisa B, Tordera RM, Puerta E, Solas M, Ramirez MJ. Venlafaxine reverses decreased proliferation in the subventricular zone in a rat model of early life stress. Behav Brain Res. 2015;292:79–82.
67. Wang Y, Xiao Z, Liu X, Berk M. Venlafaxine modulates depression-induced behaviour and the expression of Bax mRNA and Bcl-xl mRNA in both hippocampus and myocardium. Hum Psychopharmacol. 2011;26:95–101.
68. Saad MA, El-Sahar AE, Sayed RH, Elbaz EM, Helmy HS, Senousy MA. Venlafaxine Mitigates Depressive-Like Behavior in Ovariectomized Rats by Activating the

EPO/EPOR/JAK2 Signaling Pathway and Increasing the Serum Estradiol Level. Neurotherapeutics. 2019;16:404–15.
69. Cabras S, Saba F, Reali C, Scorciapino ML, Sirigu A, Talani G, et al. Antidepressant imipramine induces human astrocytes to differentiate into cells with neuronal phenotype. Int J Neuropsychopharmacol. 2010;13:603–15.
70. Sorg BA, Berretta S, Blacktop JM, Fawcett JW, Kitagawa H, Kwok JCF, et al. Casting a Wide Net: Role of Perineuronal Nets in Neural Plasticity. J Neurosci. 2016;36:11459–68.
71. Tewari BP, Chaunsali L, Campbell SL, Patel DC, Goode AE, Sontheimer H. Perineuronal nets decrease membrane capacitance of peritumoral fast spiking interneurons in a model of epilepsy. Nat Commun. 2018;9:4724.
72. Frischknecht R, Heine M, Perrais D, Seidenbecher CI, Choquet D, Gundelfinger ED. Brain extracellular matrix affects AMPA receptor lateral mobility and short-term synaptic plasticity. Nat Neurosci. 2009;12:897–904.
73. Yizhar O, Fenno LE, Prigge M, Schneider F, Davidson TJ, O'Shea DJ, et al. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. Nature. 2011;477:171–8.
74. Wang H-L, Sun Y-X, Liu X, Wang H, Ma Y-N, Su Y-A, et al. Adolescent stress increases depression-like behaviors and alters the excitatory-inhibitory balance in aged mice. Chin Med J (Engl). 2019;132:1689–99.
75. Albrecht A, Ivens S, Papageorgiou IE, Çalışkan G, Saiepour N, Brück W, et al. Shifts in excitatory/inhibitory balance by juvenile stress: A role for neuron-astrocyte interaction in the dentate gyrus. Glia. 2016;64:911–22.
76. Riga D, Kramvis I, Koskinen MK, van Bokhoven P, van der Harst JE, Heistek TS, et al. Hippocampal extracellular matrix alterations contribute to cognitive impairment associated with a chronic depressive-like state in rats. Sci Transl Med. 2017;9:eaai8753.
77. Favuzzi E, Marques-Smith A, Deogracias R, Winterflood CM, Sánchez-Aguilera A, Mantoan L, et al. Activity-Dependent Gating of Parvalbumin Interneuron Function by the Perineuronal Net Protein Brevican. Neuron. 2017;95:639-655.e10.
78. Alaiyed S, Bozzelli PL, Caccavano A, Wu JY, Conant K. Venlafaxine stimulates PNN proteolysis and MMP-9-dependent enhancement of gamma power; relevance to antidepressant efficacy. J Neurochem. 2019;148:810–21.
79. Alaiyed S, McCann M, Mahajan G, Rajkowska G, Stockmeier CA, Kellar KJ, et al. Venlafaxine Stimulates an MMP-9-Dependent Increase in Excitatory/Inhibitory Balance in a Stress Model of Depression. J Neurosci. 2020;40:4418–31.
80. Bijata M, Labus J, Guseva D, Stawarski M, Butzlaff M, Dzwonek J, et al. Synaptic Remodeling Depends on Signaling between Serotonin Receptors and the Extracellular Matrix. Cell Reports. 2017;19:1767–82.
81. Bozzelli PL, Caccavano A, Avdoshina V, Mocchetti I, Wu J-Y, Conant K. Increased matrix metalloproteinase levels and perineuronal net proteolysis in the HIV-infected brain; relevance to altered neuronal population dynamics. Exp Neurol. 2020;323:113077.
82. Ringland C, Schweig JE, Eisenbaum M, Paris D, Ait-Ghezala G, Mullan M, et al. MMP9 modulation improves specific neurobehavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. BMC Neurosci. 2021;22:39.
83. Vafadari B, Mitra S, Stefaniuk M, Kaczmarek L. Psychosocial Stress Induces Schizophrenia-Like Behavior in Mice With Reduced MMP-9 Activity. Front Behav Neurosci. 2019;13:195.
84. Bobińska K, Szemraj J, Czarny P, Gałecki P. Role of MMP-2, MMP-7, MMP-9 and TIMP-2 in the development of recurrent depressive disorder. J Affect Disord. 2016;205:119–29.
85. Bobińska K, Szemraj J, Czarny P, Gałecki P. Expression and Activity of

Metalloproteinases in Depression. Med Sci Monit. 2016;22:1334–41.
86. Rybakowski JK, Skibinska M, Suwalska A, Leszczynska-Rodziewicz A, Kaczmarek L, Hauser J. Functional polymorphism of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene and response to lithium prophylaxis in bipolar patients. Hum Psychopharmacol. 2011;26:168–71.
87. Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Chaimani A, Atkinson LZ, Ogawa Y, et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. Lancet. 2018;391:1357–66.
88. Clerc GE, Ruimy P, Verdeau-Pallès J. A double-blind comparison of venlafaxine and fluoxetine in patients hospitalized for major depression and melancholia. The Venlafaxine French Inpatient Study Group. Int Clin Psychopharmacol. 1994;9:139–43.
89. Dierick M, Ravizza L, Realini R, Martin A. A double-blind comparison of venlafaxine and fluoxetine for treatment of major depression in outpatients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1996;20:57–71.
90. Smith D, Dempster C, Glanville J, Freemantle N, Anderson I. Efficacy and tolerability of venlafaxine compared with selective serotonin reuptake inhibitors and other antidepressants: a meta-analysis. Br J Psychiatry. 2002;180:396–404.
91. Weinmann S, Becker T, Koesters M. Re-evaluation of the efficacy and tolerability of venlafaxine vs SSRI: meta-analysis. Psychopharmacology (Berl). 2008;196:511–20; discussion 521-522.
92. Papakostas GI, Thase ME, Fava M, Nelson JC, Shelton RC. Are antidepressant drugs that combine serotonergic and noradrenergic mechanisms of action more effective than the selective serotonin reuptake inhibitors in treating major depressive disorder? A meta-analysis of studies of newer agents. Biol Psychiatry. 2007;62:1217–27.
93. Nemeroff CB, Entsuah R, Benattia I, Demitrack M, Sloan DM, Thase ME. Comprehensive analysis of remission (COMPARE) with venlafaxine versus SSRIs. Biol Psychiatry. 2008;63:424–34.
94. de Silva VA, Hanwella R. Efficacy and tolerability of venlafaxine versus specific serotonin reuptake inhibitors in treatment of major depressive disorder: a meta-analysis of published studies. Int Clin Psychopharmacol. 2012;27:8–16.
95. Schueler Y-B, Koesters M, Wieseler B, Grouven U, Kromp M, Kerekes MF, et al. A systematic review of duloxetine and venlafaxine in major depression, including unpublished data. Acta Psychiatr Scand. 2011;123:247–65.
96. Schneider AC, Breilmann J, Reuter B, Becker T, Kösters M. Systematic evaluation of the "efficacy-effectiveness gap" in the treatment of depression with venlafaxine and duloxetine. Acta Psychiatr Scand. 2021;
97. Auclair AL, Martel JC, Assié MB, Bardin L, Heusler P, Cussac D, et al. Levomilnacipran (F2695), a norepinephrine-preferring SNRI: profile in vitro and in models of depression and anxiety. Neuropharmacology. 2013;70:338–47.
98. Béïque JC, de Montigny C, Blier P, Debonnel G. Blockade of 5-hydroxytryptamine and noradrenaline uptake by venlafaxine: a comparative study with paroxetine and desipramine. Br J Pharmacol. 1998;125:526–32.
99. Socała K, Nieoczym D, Wyska E, Poleszak E, Wlaź P. Influence of sildenafil on the antidepressant activity of bupropion and venlafaxine in the forced swim test in mice. Pharmacol Biochem Behav. 2012;103:273–8.
100. Dierick M, Ravizza L, Realini R, Martin A. A double-blind comparison of venlafaxine and fluoxetine for treatment of major depression in outpatients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1996;20:57–71.
101. Weinmann S, Becker T, Koesters M. Re-evaluation of the efficacy and tolerability of venlafaxine vs SSRI: meta-analysis. Psychopharmacology (Berl). 2008;196:511–20;

discussion 521-522.

Duration of treatment	Route of administration	Recording Site	Methods	Electrophysiological effect		References
Acute	i.v.	VTA	Dose effect curve	=	N.A.	*[7]*
Acute	i.v.	DRN	Dose effect curve	↓	ED50= 233 ± 12 µg/kg	*[10]*
Acute	i.v.	DRN	Dose effect curve	↓	ED50= 125 µg/kg *	*[7]*
Acute	i.v.	DRN	Dose effect curve	↓	ED50= 358 ± 44 µg/kg	*[11]*
Acute	i.v.	DRN	Dose effect curve	↓	ED50= 160 ± 23 µg/kg	*[13]*
Acute	i.v.	LC	Dose effect curve	↓	ED50= 1800 µg/kg	*[14]*
Acute	i.v.	LC	Dose effect curve	↓	ED50= 737 ± 68 µg/kg	*[10]*
Acute	i.v.	LC	Dose effect curve	↓	ED50= 1000 µg/kg *	*[7]*
2-day	osmotic pump (10 mg/kg)	DRN	Basal firing rate recording	↓	N.A.	*[15]*
2-day	osmotic pump (10- 40 mg/kg)	LC	Basal firing rate recording	↓	N.A.	
14-day	osmotic pump (40 mg/kg)	LC	Dose effect curve	↓	ED50= 2000 ± 500 µg/kg	*[14]*
21-day	osmotic pump (10 mg/kg)	DRN	Basal firing rate recording	=	N.A.	*[15]*
21-day	osmotic pump (10- 40 mg/kg)	LC	Basal firing rate recording	↓	N.A.	

TABLE 1. Synthesis of the electrophysiological properties of venlafaxine on monoaminergic neurons. Venlafaxine was delivered either by systemic (i.v.) or delivered by osmotic pump. Electrophysiological recordings were performed within the dorsal raphe nucleus, locus coeruleus and ventral tegmental area which are the place of monoaminergic neuron cell bodies (respectively 5-HT, NE and DA). ***** Extrapolation of ED50 value from dose-effect curve. Arrows (↓) mean that venlafaxine induces a decrease in neuronal firing rate, while (=) means that the discharge rate remains unchanged

Acute vs. Chronic	Dose - Route of administration	Behavioral test	Behavioral effect	References
Acute	1 - 2 - 4 - 8 -16 - 32 - 64 mg/kg	FST	Antidepressant effect from 8 mg/kg	*[26]*
Acute	2 mg/kg; i.p.	FST	Antidepressant effect	*[99]*
Acute	2 - 8 mg/kg; i.p	FST	Antidepressant effect only at 8 mg/kg	*[27]*
Acute	2 - 4 - 8 - 16 - 32 - 64 mg/kg; i.p.	FST	Antidepressant effect from 8 mg/kg	*[28]*
Acute	4 – 8 - 16 mg/kg; i.p.	FST	4-week-old mice: Antidepressant effect 8 mg/kg 40-week-old mice: Antidepressant effect only at 16 mg/kg	*[30]*
Acute	4 – 8 - 16 mg/kg; i.p.	FST	Antidepressant effect	*[31]*
Acute	4 - 8 - 16 mg/kg; i.p.	FST	Antidepressant effect only at 16 mg/kg	*[29]*
Acute	10 - 20 - 40 mg/kg; i.p.	TST - FST	Antidepressant effect at 20 and 40 mg/kg only in FST	*[97]*
Acute	10 - 30 - 60 mg/kg; p.o.	FST - TST	Antidepressant effect from 30 mg/kg	*[11]*
Acute	10 up to 60 mg/kg; i.p.	Marble - Nestlet shredding	Anxiolytic effect from 30 mg/kg	*[40]*
Acute	20- 80 mg/kg; per os	FST	Antidepressant effect at 80 mg/kg	*[32]*
Acute	10 mg/kg; i.p.	TST	Antidepressant effect	*[33]*
3 days		FST		
1 to 5 days	10 - 30 mg/kg; s.c.	FST	10 mg/kg: Antidepressant effect day 1 to 4 30 mg/kg: Antidepressant effect day 3 & 4	*[34]*
7 – 14 - 21 days	4 mg/kg; i.p.	TST - FST	Antidepressant effect	*[37]*
7 - 14 days	9.4 mg/kg; i.p.	FST - TST	Antidepressant effect at 7 days only in TST & 14 days in both tests	*[35]*
14 days	16 mg/kg; i.p.	EPM – OF - SPT	No anxiolytic but hedonic effect	*[41]*
14 days	16 mg/kg; i.p.	SPT	Hedonic effect	*[36]*
		TST		
21 days	5 - 10 - 20 mg/ kg; i.p	FST - TST	Antidepressant effect	*[38]*
28 days	10 mg/ kg; p.o.	TST	Antidepressant effect	*[39]*
		OF	No anxiolytic effect	
28 days	10 mg/ kg; p.o	EZM	No effect	*[42]*

TABLE 2. Antidepressant-like effects of venlafaxine in naïve, non-depressed mice. FST: Forced swim test, TST: Tail Suspension Test, EPM: Elevated Plus Maze, OF: Open Field, EZM: Elevated Zero Maze, NSF: Novelty Suppress Feeding test, SPT: Sucrose Preference Test.

Model of depression	Treatment duration	Dose - Route of administration	Behavioral test	Behavioral effect	References
Chronic FST	1 to 7 days	5 - 10 mg/kg; i.p.	FST EPM – Mirror chamber test	Antidepressant effect in FST from 1 day Anxiolytic effect	*[44]*
Chronic FST	7 - 14 - 21 days	2 – 4 – 8 - 16 mg/kg; i.p.	FST - TST	14 days: Antidepressant effect from 8 mg/kg 21 days: Antidepressant effect at each dose	*[37]*
Chronic FST	7 - 14 - 21 days	2 - 4 mg/kg; i.p.	FST	Antidepressant effect after 21 days of venlafaxine 4 mg/kg	*[43]*
OVX	1 - 2 -8 weeks	71.92 mg/kg; p.o..	TST	Antidepressant effect after 1 weeks	*[51]*
OVX	8 weeks	9.75 mg/kg; p.o.	EPM	No effect	*[52]*
UCMS	3 – 7 days	10 mg/kg; i.p.	TST – FST - SPT	Antidepressant effect only at 7 days	*[33]*
UCMS	8 weeks	10 mg/ kg; i.p.	FST - TST	Antidepressant effect	*[67]*
Chronic social defeat	30 days	20 mg/kg; i.p.	FST OR - EPM - NSF- Social - SPT	Antidepressant effect in FST Anxiolytic and Hedonic effect in EPM & NSF	*[45]*
Chronic social defeat	6 weeks	16 mg/kg; i.p.	SPT - OF - TST - EPM - YM - FST	No effect	*[46]*
CORT	21 days	16 mg/kg; i.p.	SPT - O maze - Coat state - ST	Anxiolytic effect – Hedonic effect – Decrease mice coat degradation	*[8]*
Bulbectomy	14 - 21 - 28 days	5 - 10 - 20 mg/ kg; p.o.	TST	Antidepressant effect from 21 days (20mg/kg) and at 28 days (10 - 20mg/kg)	*[53]*

TABLE 3. Antidepressant-like effects of venlafaxine in different mouse models of depression. FST: Forced swim test, TST: Tail Suspension Test, EPM: Elevated Plus Maze, OF: Open Field, EZM: Elevated Zero Maze, NSF: Novelty Suppress Feeding test, SPT: Sucrose Preference Test, YM: Y-maze. OVX: ovariectomized female mice, UCMS: Unpredictable chronic mild stress. Route of administration: i.p. for intraperitoneal, p.o. for per os.

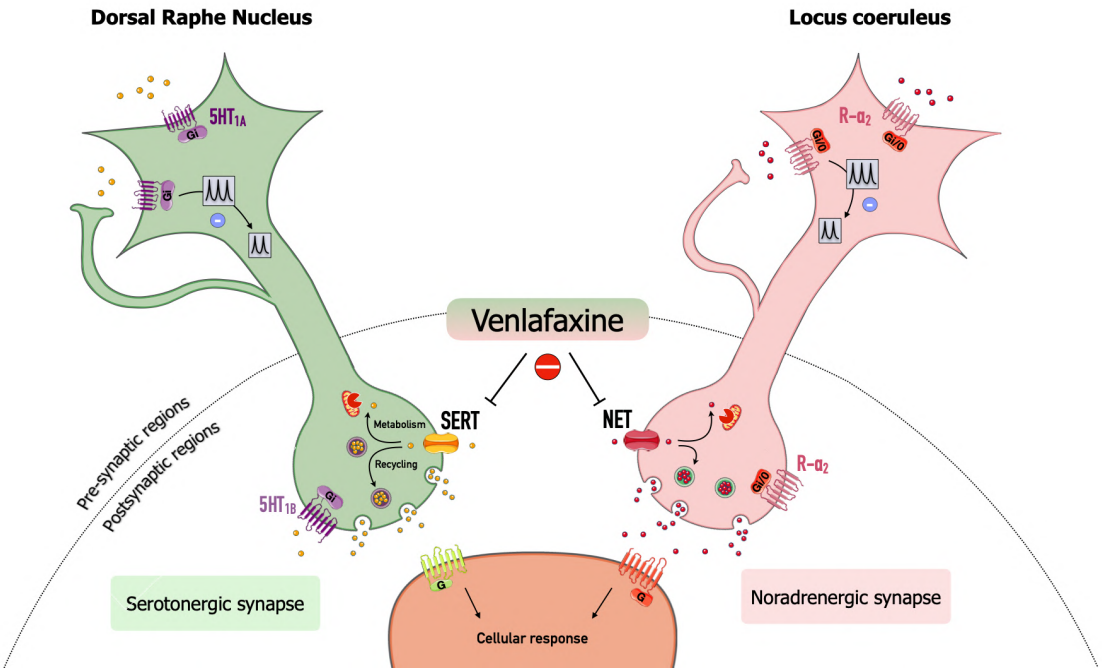


Figure 1. Mechanism of action of Venlafaxine. 5-HT and NE are stored into presynaptic vesicles. Incoming action potentials trigger their release into the synaptic cleft after melding with the cell membrane. 5-HT/NE can then bind to postsynaptic serotonergic and adrenergic G-coupled receptors. In parallel of the activation of these postsynaptic elements, 5-HT/NE can return into the presynaptic neurons through serotonin/norepinephrine transporters (SERT/NET) through a high affinity reuptake process. 5-HT/NE can also be removed from the synaptic cleft by neighboring glial cells such as astrocytes (not shown here). Into the presynaptic neuron, 5-HT and NE can penetrate into exocytosis vesicles through a vesicular monoamine transporter or degraded by the monoamine oxidase (MAO). Serotonergic and noradrenergic neurons have multiple ways to up- and downregulate monoamines response thereby maintaining a normal excitatory/inhibitory balance and protecting the brain from a sub-or over-stimulation. Receptors are not only found on the postsynaptic neuronal membrane, but also presynaptically. In particular, autoreceptors are found on axon terminals (i.e. 5HT1B and A2R) or on the soma (i.e. 5HT1A and A2R). If too many neurotransmitters accumulate in the synaptic cleft, these Gi-coupled autoreceptors are activated to mediate an inhibitory signal on the firing or release activities of the presynaptic serotonergic and adrenergic neurons. By inhibiting the SERT and NET transporters, venlafaxine can simultaneously increase extracellular 5-HT/NE levels in various brain regions involved and therefore to activate postsynaptic receptors involved in the regulation of emotional states. However, this action is limited by the recruitment of the autoreceptors after an acute administration of venlafaxine. While the treatment is prolonged, such inhibitory feedbacks desensitize thereby producing a higher rate of monoamines in the synaptic cleft necessary to promote beneficial behavioral effects.

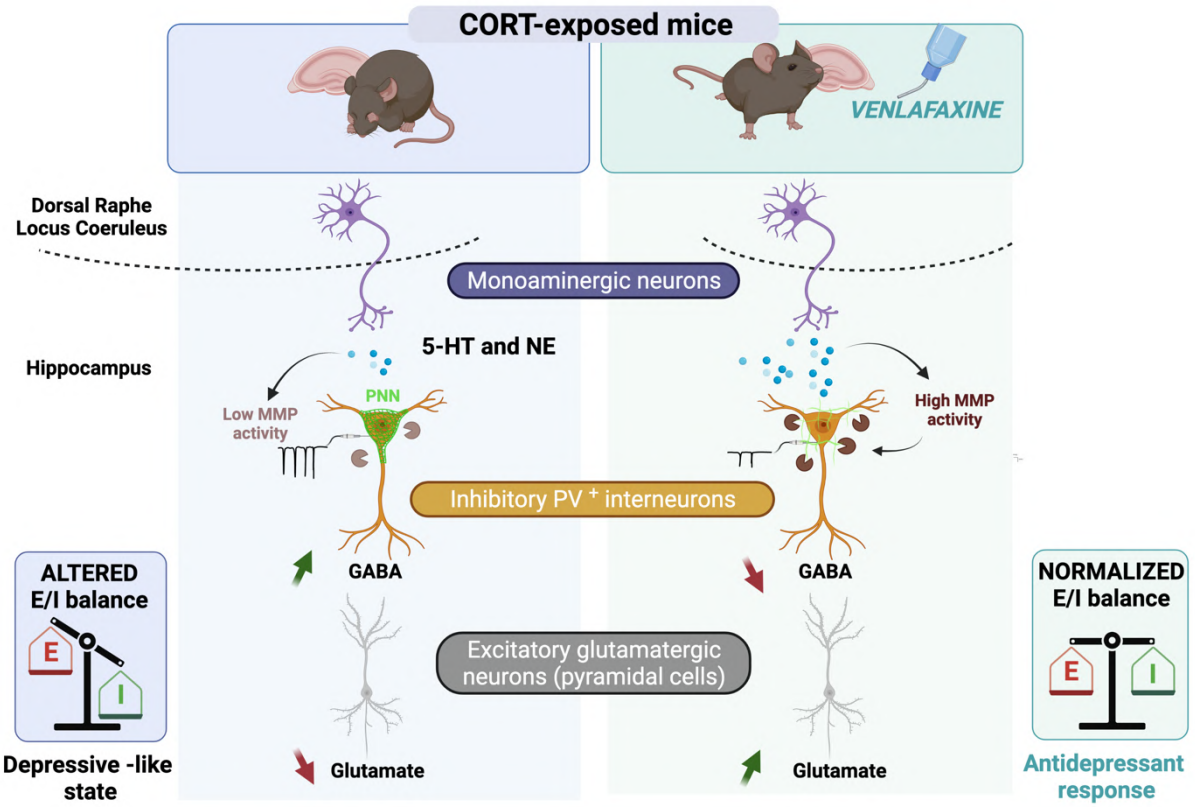


Figure 2: Impact of venlafaxine on the excitatory/inhibitory (E/I) balance in the hippocampus. Stress increases perineuronal nets (PNNs) deposition around parvalbumin positive (PV+) GABAergic interneurons in the hippocampus due to the inactivation of metalloproteases (MMP) such as MMP9. This reinforces the excitatory synapses upon PV+ GABAergic interneurons thereby leading to their hyperactivity. Such a process would be associated to an increase release of GABA in the hippocampus. As PV+ GABAergic interneurons contact excitatory pyramidal cells, their hyperactivity induces a local inhibition of pyramidal cells. Overall altered E/I balance is observed in animal models of depression (left panel). Venlafaxine, through the inhibition of serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE) reuptake, promotes the accumulation of these monoamines in the synaptic cleft. Evidence demonstrates that both 5-HT and NE favor the activity of MMP9, which in turn, leads to PNNs degradation. In that condition, the activation of PV+ GABAergic interneurons is attenuated. A decrease release of GABA is then expected causing the disinhibition of pyramidal glutamatergic neurons. As a functional consequence, the E/I balance is rescued (right panel), a process necessary for antidepressant response.

III. Les stimulations non pharmacologiques : Les stimulations cérébrales

En plus de l'arsenal pharmacologique présenté ci-dessus, de nombreuses techniques de stimulations cérébrales (Figure 13) se sont avérées efficaces notamment dans le cas des dépressions résistantes. C'est le cas de l'electroconvulsivothérapie (ECT) mais plus récemment de la stimulation du nerf vague (VNS pour vagus nerve stimulation), la stimulation profonde (DBS pour deep brain stimulation) ou encore la stimulation magnétique trans-crânienne répétée (TMS pour transcranial magnetic stimulation).

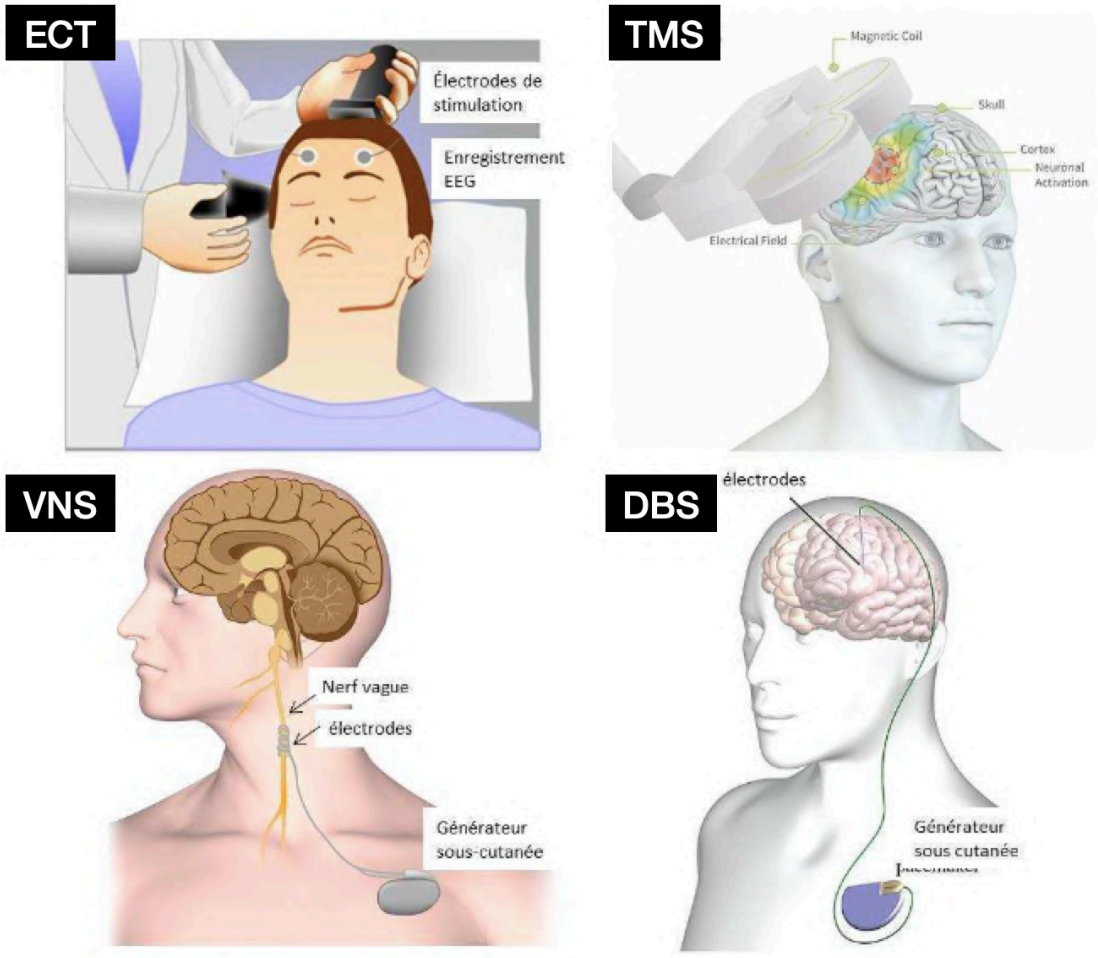


Figure 13 Techniques de stimulation cérébrale. L'électroconvulsivothérapie (ECT), la stimulation magnétique transcrânienne (TMS), la stimulation du nerf vague (VNS) et la stimulation cérébrale profonde (DBS)

III.1 L'électroconvulsivothérapie (ECT)

L'ECT est considérée comme la "référence" des interventions non pharmacologiques pour traiter les dépressions résistantes. Ce type de traitement repose sur l'application d'un stimulus électrique à la surface du crâne, visant à provoquer une crise d'épilepsie. Cette technique d'intervention cérébrale a démontré une efficacité à la fois rapide et durable (Kellner et al., 2010; Cusin and Dougherty, 2012). L'ECT possède des effets indésirables mais généralement temporaires. Cette stratégie est associée à des maux de tête, des nausées, des douleurs musculaires, des arythmies ainsi que des atteintes cognitives transitoires. Au niveau préclinique, cette technique a également fait ses preuves. Les premières preuves de son efficacité remontent aux années 1990, où un protocole de 5 jour au ECT a été capable de provoquer une diminution de la résignation chez la souris dans le test de suspension caudale (Teste et al., 1990). Par la suite, des effets antidépresseurs des ECT ont également été mis en évidence dans le modèle d'exposition à la CORT (Schloesser et al., 2015) alors que ces effets bénéfiques étaient bloqués chez les souris dépourvues de neurogenèse adulte hippocampique.

III.2 La stimulation du nerf vague (VNS)

Cette technique de stimulation est invasive puisqu'elle nécessite l'implantation d'un générateur d'impulsions électriques situé dans la paroi thoracique gauche, et suit le même concept de fonctionnement que les stimulateurs cardiaques. Ici, la cible est le nerf vague qui va être activé avec un protocole de stimulation précis par le biais d'une électrode. Initialement, cette stratégie a été mise en place pour traiter les patients souffrant d'épilepsie mais certains d'entre eux ont montré une amélioration de leur humeur. Son utilisation s'est donc étendue à la psychiatrie et plus particulièrement à la dépression majeure (Vonck et al., 2014). Des études préliminaires ont montré son efficacité à court et long terme chez des patients souffrant de dépression résistante avec un taux de réponse allant de 30 à 50% (Nemeroff et al., 2006). Les modes d'action de la VNS sont peu connus mais il a été proposé que cette méthode de stimulation augmenterait la neurotransmission monoaminergique et aurait un impact positif sur la plasticité cérébrale notamment au sein de l'hippocampe (Manta et al., 2013; Grimonprez et al., 2015).

III.3 La stimulation cérébrale profonde (DBS)

La technique de DBS consiste à placer des électrodes à la suite d'un acte neuro-chirurgique dans une région spécifique du cerveau dont le cortex cingulaire. Ces électrodes sont connectées à un générateur d'impulsions implanté en sous-cutané dans la paroi thoracique, qui fournit des stimulations électriques continues contrôlées. Cette technique est utilisée fréquemment chez les patients Parkinsoniens. Cependant différentes régions cérébrales atteintes dans la dépression ont été ciblées afin d'évaluer les possibles effets antidépresseurs de la DBS. Quelques études ne suivant qu'un nombre très réduit de patients sur plusieurs années, montrent des effets encourageants sur la symptomatologie dépressive (Altinay et al., 2015), mais les mécanismes d'actions de cette technique très invasive restent encore mal connus.

III.4 La stimulation magnétique transcrânienne (TMS)

Contrairement aux techniques précédentes, la TMS n'implique pas directement un courant électrique sur le crâne ou dans le cerveau. Cette technique est basée sur la génération d'un champ électromagnétique visant à stimuler les circuits neuronaux dans les couches superficielles du cortex cérébral (Horvath et al., 2011; Chail et al., 2018). Bien que le mécanisme d'action précis ne soit pas encore établi, les données indiquent qu'à basse fréquence, c'est-à-dire (<1 Hz), la TMS produit un effet inhibiteur sur la zone corticale ciblée, tandis qu'une stimulation à haute fréquence (>5 Hz), produit un effet excitateur (Berlim et al., 2013). En clinique, les effets antidépresseurs de la TMS ont été largement étudiés et semblent présenter un réel intérêt clinique (Berlim et al., 2014; Lefaucheur et al., 2020). Par rapport à l'ECT, la TMS possède moins d'effets secondaires, si ce n'est que son application doit être tenue à l'écart des personnes ayant des implants magnétiques ou des événements neurologiques ou cardiaques indésirables récents (Chail et al., 2018). Concernant l'application psychiatrique, plusieurs semaines de TMS quotidienne sont nécessaires et parmi toutes les applications psychiatriques, les preuves les plus solides des effets bénéfiques ont été montrés pour le traitement de la dépression unipolaire résistante (Chail et al., 2018). Au niveau préclinique, il a récemment été montré que la TMS diminuait la résignation dans le test de suspension caudale, mais qu'elle n'affectait pas les comportements de type anxieux et bien

qu'elle semble stimuler la maturation neuronale, elle n'améliore pas la prolifération cellulaire comme c'est le cas pour les ECT (Cambiaghi et al., 2020; Zhang et al., 2021).

En raison des limites thérapeutiques des traitements pharmacologiques antidépresseurs actuels (taux de non répondeurs élevé, long délai d'action, risque de rechute), les stratégies non pharmacologiques sont de plus en plus sollicitées et notamment les méthodes de stimulations. Mais d'autres approches sont aussi possibles et font l'objet d'une attention croissante au cours de ces dernières années. Le style de vie étant un facteur dans le déclenchement de la dépression majeure, de nombreux travaux portent sur les effets d'un mode de vie sain chez les patients dont la santé mentale est fragile. De plus en plus d'arguments sont mis en avant pour louer les effets bénéfiques d'une alimentation saine (enrichie en acides gras polyinsaturés : omega 3 par exemple), d'une vie sociale riche et de l'exercice physique (Blumenthal et al., 2007; Sarris et al., 2014; Morres et al., 2019; Mueller et al., 2020). Ceci stimule les recherches qui visent à évaluer les mécanismes moléculaires et cellulaires mis en jeu par ces stratégies et à déterminer leur efficacité en association avec les traitements actuels. Ces stratégies non-pharmacologiques sont modélisables chez le rongeur. Des conditions d'hébergement d' « environnement enrichi » (EE) permettent ainsi de modéliser des stimulations de nature physiques, sociales, cognitives et/ou sensorielles.

IV. Les traitements non pharmacologiques : l'Enrichissement Environnemental

IV.1 Historique

Lors de ses recherches, Donald Hebb en 1949, s'est aperçu que des rats qu'il avait rapportés chez lui en tant qu'animaux de compagnie pour ses enfants, présentaient de retour au laboratoire, de meilleures performances comportementales que des rats restés au laboratoire. Il a ainsi formulé l'hypothèse qu'élever des animaux dans un environnement stimulant conférait aux animaux des capacités permettant de mieux résoudre toutes sortes de problèmes. Par la suite dans les années 1970, les premiers prototypes d'environnements enrichis ont été mis au point permettant de valider les effets pro-cognitifs chez des animaux élevés d'un environnement enrichi par rapport à des conditions standard ou bien isolée (pour revue (Rosenzweig, 2003) Sur la base de ses observations, de nombreux protocoles

d'enrichissement du milieu d'élevage des animaux de laboratoire ont été développés (Van de Weerd et al., 2002). Aujourd'hui, l'environnement enrichi (EE), essentiellement utilisé chez les rongeurs, est défini comme la combinaison de stimulations complexes et sociales (Kempermann, 2019). Concrètement, cela consiste à élever ou à faire séjourner un groupe d'animaux dans de larges enceintes contenant de nombreux objets de forme et de matière variées et dont l'agencement est modifié fréquemment afin de stimuler le comportement exploratoire des animaux. Ce milieu, enrichi en stimulations physiques, multi-sensorielles et sociales, confère aux rongeurs des opportunités d'apprentissage et d'interactions sociales accrues comparées aux conditions d'hébergement standard de laboratoire (Nithianantharajah and Hannan, 2006).

De nombreux protocoles et dispositifs d'EE ont vu le jour et l'un des inconvénients majeurs est leur grande diversité pouvant impacter sa reproductibilité. La majorité des travaux sur le sujet utilise des environnements enrichis « faits maison » avec des cages de tailles très variables, tout comme les stimulations sensorielles utilisées, la durée et la fréquence de l'exposition. Dans ce contexte et pour pallier ces variations, des cages d'environnement enrichi pour rongeur standardisés et validées pour l'étude des effets de l'EE ont été développées (Cage Marlau, Viewpoint,(Fares et al., 2013)).

Dans la partie suivante, nous décrivons les effets d'EE qui incluent la plupart du temps une stimulation physique (avec des roues d'activité), puis nous décrirons l'effet de l'Exercice physique *per se*. Plus précisément, il s'agira ici de décrire les effets comportementaux de l'EE et de l'Ex en conditions physiologiques et sur les symptômes pseudo-dépressifs dans différents modèles murins ainsi que leurs effets observés dans le cerveau.

IV.2 Impact des conditions d'hébergement en condition physiologique

IV.2.1 Impact sur les comportements anxio-dépressif

La pratique d'activités stimulantes (activités physiques, intellectuelles, sensorielles et impliquant un lien social) fait partie des stratégies thérapeutiques utilisées en complément des traitements pharmacologiques classiques et la preuve de son efficacité dans le traitement de la dépression est aujourd'hui bien documentée (Wiles et al., 2013; Abdollahi et al., 2017). Chez l'animal, les activités physiques sont modélisées en hébergeant les animaux dans un EE qui typiquement offre un large espace favorisant l'activité motrice notamment par le biais de

roues d'activités. Si différentes formes d'activité physique ont été étudiées dans la littérature, nous nous limiterons ici aux effets de l'exercice physique volontaire. En effet, l'exercice physique forcé peut engendrer des effets délétères sur l'état émotionnel des animaux (Leasure and Jones, 2008; Matsunaga et al., 2021).

Chez les rongeurs, l'EE exerce des effets anxiolytiques, antidépresseurs ainsi que pro-cognitifs. Ces mêmes effets sont retrouvés avec l'exercice physique. Dans le test de champ ouvert (OF), les souris exposées à ces deux types d'enrichissement s'habituent plus rapidement à la nouveauté que leurs congénères hébergés dans un environnement standard, ce qui se traduit par une augmentation du temps passé au centre de l'arène et par une diminution de la locomotion (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Urakawa et al., 2013; Morgan et al., 2018). Une diminution du comportement anxieux est également observée dans les tests d'EPM et de Dark/light chez les animaux exposés à l'EE ou à l'exercice physique (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Fulk et al., 2004; Friske and Gammie, 2005; Dubreucq et al., 2015). Toutefois, il faut noter que certains travaux rapportent au contraire que l'EE peut entraîner des réponse opposées aux effets anxiolytiques généralement observés, sans que cela n'indique un effet anxiogène (Verret et al., 2013).

Les effets antidépresseurs de l'EE sont également visibles sur les symptômes de résignation et d'anhédonie. En effet, l'EE entraîne une diminution de l'anhédonie dans le test de préférence au sucrose (Brenes and Fornaguera, 2008; Green et al., 2010) ainsi qu'une diminution de la résignation dans les tests de nage forcée (FST) et de suspension caudale (TST) (Brenes and Fornaguera, 2008; Green et al., 2010; Seong et al., 2018). L'Exercice physique induit également une diminution de la résignation dans ces deux mêmes tests (Bjørnebekk et al., 2008; Cunha et al., 2013), or l'anhédonie n'est pas modifiée chez les souris exposées à ce type d'enrichissement (Mul et al., 2018).

Les effets pro-cognitifs de l'EE et de l'exercice physique se manifestent par l'amélioration de la mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe, évaluée par exemple dans le test du labyrinthe aquatique de Morris (Bouet et al., 2011; Muller et al., 2011; Hendershott et al., 2016). L'EE induit également une amélioration de la mémoire dans le test d'évitement passif (Leger et al., 2012) ainsi que de la sociabilité dans le test à 3 chambres (Zheng et al., 2020) par rapport aux souris hébergées dans des conditions standards. En revanche, l'exercice physique seul n'induit ni amélioration de la mémoire dans le test d'évitement passif, ni d'augmentation des interactions sociales (Liu et al., 2009; Pagliusi et al., 2020).

Certains effets bénéfiques observés en conditions physiologiques, ont également été retrouvés dans des modèles murins de dépression. Par exemple, dans les modèle de CRS, d'UCMS ou celui de défaite sociale, l'EE et l'exercice physique contrecarrent l'anxiété mesurée dans l'OF, l'EPM et le Dark/light (Lehmann and Herkenham, 2011; Lapmanee et al., 2013; Novaes et al., 2018; Shen et al., 2019). De la même façon, ces deux enrichissements diminuent l'anhédonie dans le test de préférence au sucrose ainsi que la résignation dans le FST et le TST (Solberg et al., 1999; Lehmann and Herkenham, 2011; Lapmanee et al., 2013; Shilpa et al., 2017; Huang et al., 2018; Shen et al., 2019). L'EE et l'exercice physique préviennent et restaurent également les déficits causés sur la mémoire hippocampo- et non-hippocampo-dépendante (Wright and Conrad, 2008; Yau et al., 2012; Lapmanee et al., 2013; Shilpa et al., 2017). Enfin, dans le modèle d'exposition prolongée à la CORT dans l'eau de boisson, il a également été montré que l'EE permettait de supprimer les effets anxiogènes du modèle dans l'EPM et le Dark/light ainsi que l'état pseudo-dépressif des animaux dans le test d'alimentation supprimé par la nouveauté (Nicolas et al., 2015) alors que les effets de l'exercice physique n'ont pas été testés dans ce modèle.

Bien que les expositions à l'EE et à l'exercice induisent des effets bénéfiques, ces effets peuvent varier selon certains paramètres tels que l'âge, la lignée, le sexe ou encore la durée d'exposition. Par exemple, concernant l'âge des animaux, une étude a montré que les effets pro-cognitifs de l'exercice physique sont très prononcés lorsque l'exposition a lieu pendant l'adolescence comparée à une exposition initiée à l'âge adulte (O'Leary et al., 2019). La lignée est également un critère à prendre en compte. En effet, une étude analysant différentes souches de souris a observé que les souris C57BL/6J courent significativement plus et à une vitesse moyenne plus élevée que six autres souches de souris (Lerman et al., 2002). Cette différence d'activité peut entraîner des différences dans les effets observés selon la lignée étudiée tant au niveau comportemental que dans la modulation des mécanismes cérébraux. Enfin la durée d'exposition est également un facteur très important dans la variabilité des résultats. En effet, alors qu'une courte exposition à l'EE (24 h) serait suffisante pour améliorer les performances mnésiques dans un test de reconnaissance d'objets, une exposition de 3 semaines serait quant à elle nécessaire pour réduire le comportement de type anxieux dans les tests du Dark/light et de l'EPM (Leger et al., 2015).

Malgré une certaine variabilité, ces résultats ne changent rien au fait que l'EE et l'exercice physique sont globalement bénéfiques sur les comportements de type anxio-dépressif chez le rongeur.

- Retrait de l'environnement enrichi

Alors que certains des effets bénéfiques de l'EE semblent subsister si les animaux sont retirés de l'EE et placés dans un environnement standard (Vega-Rivera et al., 2016; Kempermann, 2019), la perte de l'EE ou de l'exercice peut avoir des conséquences néfastes. En effet, l'arrêt de l'EE peut induire des comportements pseudo-dépressifs et de l'anxiété par rapport à des animaux élevés dans des conditions standard n'ayant jamais été hébergés dans des cages d'EE (Nishijima et al., 2013; Smith et al., 2017; Morano et al., 2018). C'est pourquoi lors de la conception des expériences impliquant des cages d'EE, les effets du retrait de ces dernières ne doivent pas être négligés, puisqu'avant les tests comportementaux ils pourraient biaiser les résultats obtenus notamment dans l'étude du phénotype pseudo-dépressif.

IV.2.2 Impact de l'environnement enrichi sur l'activité de l'axe HPA

Les expositions à un EE ou à l'exercice physique modulent de nombreux facteurs biologiques qui pourraient participer aux effets bénéfiques comportementaux et notamment l'axe HPA. Dans les modèles non pathologiques, il n'existe pas de consensus concernant les effets de l'EE et de l'exercice physique sur les taux plasmatiques de corticostérone. En effet, si des études suggèrent que l'EE, tout comme l'exercice physique, augmente la taille des glandes surrénales et les taux de base de CORT plasmatique (Moncek et al., 2004; Hare et al., 2014), d'autres études s'accordent sur le fait, qu'au contraire, l'EE diminue ces paramètres (Belz et al., 2003; Seo et al., 2016) ou ne les modifie pas (Roy et al., 2001; Ghalandari-Shamami et al., 2019). Une explication à ces différences pourrait être liée aux protocoles utilisés pour doser la CORT. En effet, différents travaux montrent qu'une dérégulation de l'axe HPA se mesure en réponse à un stress aigu. En accord avec ce concept, il a été montré que l'EE atténue l'augmentation de CORT en réponse à ce type de stress (Roy et al., 2001; Moncek et al., 2004; Konkle et al., 2010; Hare et al., 2014). Des résultats similaires ont été observés à la suite d'une stimulation de l'axe HPA par l'ACTH, à la fois en conditions basales et en réponse à un stress aigu (Roy et al., 2001; Belz et al., 2003). De plus, on note des variabilités inter-espèces, par exemple, les souris exposées à l'exercice physique pendant 4 semaines ont une expression réduite de l'ARNm de CRH dans le PVN par rapport aux souris témoins sédentaires, ce qui suggère une

réponse atténuée au stress, alors que cela n'a pas été observé chez les rats exposés à l'exercice physique pendant la même durée. Une telle différence pourrait s'expliquer par une différence d'activité sur les roues d'activités entre les espèces (Droste et al., 2003, 2007).

Dans les modèles pathologiques, il est clairement admis que l'EE et l'exercice physique exercent des effets bénéfiques sur l'axe HPA. En effet, dans un modèle de stress prénatal, l'exposition à un EE durant l'adolescence permet de rétablir les concentrations plasmatiques de CORT, en atténuant l'hyperactivité de l'axe HPA (Morley-Fletcher et al., 2003). Des résultats similaires ont été rapportés avec l'EE et l'exercice physique dans les modèles de stress chronique de contrainte et le stress pré- ou péri-natal (Ilin and Richter-Levin, 2009; Thamizhoviya and Vanisree, 2019; Zolfaghari et al., 2021). Dans le modèle de défaite sociale, l'exposition à un EE réduit également les taux plasmatiques de CORT ainsi que l'expression de CRH hippocampique chez la souris (McQuaid et al., 2013). Quant à l'exercice physique, cette procédure réduit l'augmentation des taux plasmatiques de CORT dans le modèle d'UCMS (Zheng et al., 2006).

L'ensemble de ces données suggère que les effets bénéfiques de ces stratégies thérapeutiques non pharmacologiques seraient liés à leurs effets sur l'axe HPA. Bien que les mécanismes ne soient pas encore complètement élucidés, le rôle des récepteurs au GR exerçant des effets inhibiteurs sur l'axe HPA a été envisagé. A cet effet, il a été montré que l'EE et l'exercice Physique restaurent l'expression des récepteurs GR dans l'hippocampe, ce qui permettrait de maintenir un rétrocontrôle négatif sur l'axe HPA (Zheng et al., 2006; Zanca et al., 2015; Shilpa et al., 2017).

IV.2.3 Impact de l'environnement enrichi sur la plasticité cérébrale

Puisque le stress entraîne des altérations de la plasticité cérébrale dans diverses régions cérébrales telles que le PFC, l'amygdale ou encore l'hippocampe, l'hypothèse selon laquelle les effets bénéfiques de l'EE et l'exercice physique passent par une stimulation de la plasticité cérébrale a été soulevée.

IV.2.3.1 Modifications morphologiques des neurones

En conditions physiologiques, d'un point de vue morphologique, une exposition à un EE s'accompagne tout d'abord d'une augmentation du poids et/ou du volume du cerveau

(Diamond et al., 1966; Rosenzweig and Bennett, 1969; van Praag et al., 2005). Au niveau du PFC, notamment des sous-régions telles que le mPFC et l'OFC, l'exposition à un EE ou à l'exercice physique induit une complexification de l'arborisation dendritique des neurones pyramidaux, ainsi qu'une augmentation du nombre d'épines dendritiques et de synapses (Comeau et al., 2010; Brockett et al., 2015; Ashokan et al., 2018a). De même il a été montré que l'exposition à un EE rétablit l'expression de marqueurs des épines dendritiques dans le PFC de rats mâles knockout pour le SERT ($SERT^{-/-}$), dont le phénotype anxieux est largement décrit (Sbrini et al., 2020). Au sein de l'amygdale, l'hypertrophie de l'arborisation dendritique observée dans cette région est contrecarrée par l'EE. En effet, l'EE diminue l'augmentation de l'arborisation dendritique observée à l'âge adulte dans un modèle de séparation maternelle et celui d'un stress chronique de contrainte (Ashokan et al., 2016; Koe et al., 2016). En revanche, l'EE n'empêche pas les effets d'un stress aigu sur l'augmentation de la densité des épines dendritiques dans l'amygdale (Novaes et al., 2018).

Enfin, au niveau de l'hippocampe, les données de la littérature sont semblables à celles décrites dans le PFC aussi bien pour une exposition à l'EE (Rampon et al., 2000; Rojas et al., 2013; Moreno-Jiménez et al., 2019) qu'avec l'exercice physique (Stranahan et al., 2009; Dostes et al., 2016; Mojtahedi et al., 2020). Dans le modèle UCMS chez le rat, les expositions à un EE ou à l'exercice physique rétablissent la densité d'épines dendritiques ainsi que la complexité de l'arborisation dendritique des neurones de l'hippocampe et du PFC (Liang et al., 2019; Shen et al., 2019; Zhuang et al., 2019). Des résultats similaires ont été observés dans le modèle CRS chez le rat (Ashokan et al., 2018b; Ghalandari-Shamami et al., 2019; Moradi-Kor et al., 2019). De même, chez des souris génétiquement modifiées, privées du promoteur IV du gène codant pour le BDNF (BDNF-KIV) et présentant un phénotype anxio-dépressif, trois semaines d'EE induisent une augmentation de l'arborisation dendritique des neurones immatures du DG (Jha et al., 2011).

IV.2.3.2 Modifications moléculaires hippocampique

On a vu précédemment que l'hippocampe est le siège de la neurogenèse hippocampique adulte, un processus de plasticité cérébrale qui apparaît essentiel aux effets bénéfiques des antidépresseurs (Santarelli et al., 2003). De nombreuses études ont montré que l'EE augmente la neurogenèse hippocampique (Kempermann et al., 1997; Rossi et al., 2006), notamment en stimulant la prolifération cellulaire au sein du DG (Leal-Galicia et al., 2007)

mais également en augmentant la survie des cellules nouvellement générées (Fan et al., 2007; Leger et al., 2015). C'est aussi le cas de l'exercice physique qui favorise la prolifération, la différenciation neuronale et la survie des nouvelles cellules (Eadie et al., 2005; Fabel and Kempermann, 2008; Opendak and Gould, 2015). L'EE agit aussi sur la destinée des cellules nouvellement formées, en diminuant leur engagement vers une différentiation en microglie ou d'astrocytes au sein de l'hippocampe (Soffié et al., 1999; Ehninger et al., 2011). Une autre étude n'a pas permis de mettre en évidence d'effet de l'EE sur la production d'astrocytes, alors que l'exercice physique augmente significativement la production de nouveaux astrocytes au sein de l'hippocampe (Steiner et al., 2004) ainsi que leurs ramifications (Saur et al., 2014). Quant aux facteurs neurotrophiques, fortement associés à la stimulation de la neurogenèse hippocampique comme nous l'avons vu précédemment, il a été montré que l'EE et l'exercice physique favorisent l'expression de facteurs trophiques comme le BDNF (Falkenberg et al., 1992; Rossi et al., 2006; Berchtold et al., 2010), le NGF (Pham et al., 1999; de Sousa Fernandes et al., 2020) ou le GDNF (Young et al., 1999) et l'expression de protéines synaptiques telles que la synaptophysine et la PSD-95 dans l'hippocampe et le PFC (Lambert et al., 2005; Hu et al., 2009; Shen et al., 2019). Ceci est en accord avec l'augmentation de la synaptogénèse induite par l'EE (Rampon et al., 2000).

Dans les modèles de la pathologie, l'EE et l'exercice Physique possèdent également des effets bénéfiques sur la neurogenèse adulte hippocampique ainsi que des effets moléculaires associés à cette plasticité dans cette structure (voir Table 5). En effet, chez la souris, la stimulation de la neurogenèse hippocampique est un mécanisme indispensable aux effets antidépresseurs de l'EE dans le modèle de défaite sociale (Schloesser et al., 2010) bien que remis en question (Segovia et al., 2006).

Dans un modèle d'UCMS chez la souris, l'hébergement en EE pendant 6 semaines améliore également la prolifération cellulaire et la survie neuronale dans l'hippocampe (Tanti et al., 2013). En revanche, dans ce même modèle une exposition de 4 semaines à des roues d'activité n'induit aucun effet (Hutton et al., 2015). Toutefois, les rats FLS modèle génétique de la dépression, présentent des altérations de la prolifération cellulaire qui sont contrecarrées par l'exercice physique (Bjørnebekk et al., 2005). Dans les différents modèles d'exposition chronique à la CORT, il a également été mis en évidence un effet bénéfique de l'Exercice physique sur la prolifération et la différenciation neuronale alors que la survie des nouveaux neurones n'a pas été étudiée (Yau et al., 2012; Lee et al., 2016). Enfin, chez des

souris génétiquement modifiées, privées de BDNF, trois semaines d'exposition à un EE induisent une augmentation de la prolifération ainsi que de la survie des nouveaux neurones (Jha et al., 2011). De plus, l'EE restaure la prolifération cellulaire dans l'hippocampe ainsi que la survie et la différentiation des cellules nouvellement générées vers une destinée neuronale chez les rats soumis à un stress chronique de contrainte alors que l'exercice physique semble restaurer uniquement la prolifération cellulaire dans ce modèle (Veena et al., 2009a, 2009b; Nakajima et al., 2010). L'EE tout comme l'Exercice physique préviennent les diminutions d'expression de BDNF ainsi que de son récepteur TrkB induites par différents modèles de dépression (Zheng et al., 2006; Lapmanee et al., 2017; Seong et al., 2018). Or l'absence d'effet de l'exercice physique sur la prolifération cellulaire s'accompagne également d'absence de changement au niveau de l'expression du BDNF (Hutton et al., 2015).

Modèle	Type d'enrichissement (durée)	Effets morphologiques			Effets moléculaires	Références
		Prolifération	Survie	Différenciation neuronale		
Stress chronique de contrainte	Environnement enrichie (10 jours)	+++	+++	+++		*Veena 2009a,b*
Stress chronique de	Exercice physique (8 semaines)	+++	=			*Nakajima et al., 2010*
UCMS	Environnement enrichie (28 jours)	+++	+++			*Tanti et al., 2013*
UMCS	Exercice physique (4 semaines)	=			BDNF expression =	*Hutton et al., 2015*
KO promoteur Bndf$^{-/-}$	Environnement enrichie (23 jours)	+++	+++			*Jha et al., 2011*
Flinders Sensitive Line	Exercice physique (5 semaines)	+++				*Bjornebekk et al., 2005*
CORT chronic	Exercice physique (4 semaines)	+++			Bdnf =	*You et al., 2012*
CORT chronic	Exercice physique (4 semaines)	+++		+++		*Lee et al., 2016*
UCMS	Environnement enrichie (24 jours)				Bdnf expression ++ TrkB expression ++ VEGF expression +	*Seong et al., 2018*
Stress chronique de	Exercice physique (4 semaines)				Bdnf expression ++	*Lapmanee et al., 2017*
UCMS	Exercice physique (4 semaines)				Bdnf expression ++	*Zheng et al., 2006*

Tableau 5. Impact des conditions d'hébergement sur la neurogenèse hippocampique adulte et les modifications moléculaires engendrées dans les modèles murins de la dépression. +, effet positif ; = aucun effet.

Les altérations des niveaux de BDNF et de VEGF induites par des modèles de stress sont également retrouvées dans d'autres structures tel que le PFC mais sont restaurées par l'EE et l'exercice physique (Marais et al., 2009; Shilpa et al., 2017; McQuaid et al., 2018).

Au niveau de l'amygdale, ces facteurs neurotrophiques sont également affectés par l'application d'un stress chronique modélisant la pathologie dépressive, mais cette région montre des effets opposés à ceux observés dans l'hippocampe et le PFC. Alors que l'EE n'a pas d'impact sur les niveaux de base de BDNF dans l'amygdale (O'Leary et al., 2019), un stress chronique de contrainte augmente le BDNF. Or l'EE ne restaure pas cette altération (Shilpa et al., 2017). Ces effets opposés à ceux de l'hippocampe et du PFC suggèrent ainsi que l'augmentation du BDNF dans l'amygdale favoriserait le stress, plutôt que de l'atténuer.

IV.2.3.3 Modification de la balance E/I

Comme les antidépresseurs, les stratégies non pharmacologiques sont capables de moduler la balance E/I par l'intermédiaire des interneurones PV et de leurs PNN. Étant donné que les PNN favorisent l'excitabilité des interneurones GABAergique PV^+ (Balmer, 2016) ainsi que la fréquence des courants inhibiteurs des neurones pyramidaux (Slaker et al., 2015), menant à une diminution de la balance E/I, il a été proposé que les effets bénéfiques de l'EE pourraient reposer sur une ré-augmentation de cette balance E/I. Conceptuellement, une augmentation de cette balance peut être obtenue via une augmentation de la transmission glutamatergique et/ou une diminution de la neurotransmission GABAergique. En accord avec cette hypothèse, des travaux récents montrent que le système PV/PNN est modulable selon l'expérience (Cattaud et al., 2018; Favuzzi et al., 2017; Foggetti et al., 2019). Ainsi l'exposition à un EE entraînerait une diminution du nombre d'interneurones PV^+ et des PNN associés dans l'hippocampe, réduisant ainsi l'inhibition de ces cellules sur les neurones pyramidaux. Il a également été retrouvé une diminution du nombre de PNN ainsi que de l'épaisseur du maillage PNN autour des neurones des régions CA1 et CA3 de l'hippocampe chez des rats soumis à 6 semaines d'Ex (Smith et al., 2015). Ces résultats pourraient s'expliquer par une augmentation de l'activité protéolytique médiée par les métalloprotéases 9 et 2 (MMP-9 et MMP-2) sur les PNN hippocampiques (Nishijima et al., 2015). Bien que séduisante, cette hypothèse mérite de plus amples investigations puisque certains travaux n'ont pas permis de mettre en évidence de modification du nombre d'interneurones PV dans l'hippocampe et le PFC en réponse à l'exposition à un EE ou à l'Ex (Sampedro-Piquero et al., 2016; Sun et al., 2016; Anstötz et al., 2018).

Dans l'amygdale, région hyperactive chez le patient dépressif, il a été montré que l'EE induit une diminution de la proportion d'interneurones PV c-Fos+ dans la BLA par rapport à des rats

élevés en cage standard, indiquant une diminution de l'activité neuronale associée au interneurones PV (Vazquez-Sanroman et al., 2021). Toutefois, l'EE induisant des effets anxiolytiques entraîne une augmentation du nombre d'interneurones PV dans l'amygdale, contredisant ainsi cette précédente étude (Urakawa et al., 2013).

Concernant l'altération de la balance E/I dans un contexte pathologique, peu de travaux se sont penchés sur l'effet des différents types d'hébergement sur le système PV/PNN. Seule une étude menée dans un modèle de stress chronique chez le rat a observé un déficit de mémoire spatiale qui s'accompagne d'une diminution de l'expression de la PV hippocampique alors que cet effet est restauré par une exposition à un EE (Sun et al., 2016). Au vu des résultats de la littérature, il apparaît urgent d'étudier cette balance E/I contrôlée par les PNN dans des modèles murins de dépression et de définir les effets des différentes stratégies antidépressives (pharmacologique ou non) sur ce paramètre.

IV.2.4 Modifications des systèmes monoaminergiques

Ayant précédemment décrit l'impact de la dépression sur les systèmes monoaminergiques, il s'agira maintenant de comprendre comment ces thérapies non pharmacologiques agissent sur ces différents systèmes bien que leurs effets soient encore sujet à débat.

En conditions physiologiques, alors qu'une exposition à un EE semble augmenter les concentrations tissulaires de 5-HT dans l'hippocampe (Naka et al., 2002; Brenes et al., 2009), d'autres études observent une diminution ou encore une absence d'effet (Galani et al., 2007; Hendriksen et al., 2010; Chourbaji et al., 2012). Or, l'EE semble avoir des effets différents selon la sous-région de l'hippocampe. En effet, alors qu'une absence d'effet de l'EE sur les concentrations tissulaires de 5-HT est observée dans l'hippocampe dorsal, celui-ci les diminue dans sa partie ventrale (Galani et al., 2007). Il est à noter que l'EE n'a pas d'effets dans le PFC sur les taux de 5-HT (Chourbaji et al., 2012). Concernant les effets de l'exercice physique, 4 semaines d'accès volontaire aux roues d'activité induisent une augmentation des taux tissulaires de 5-HT hippocampiques chez le rat (Wang et al., 2013). Les augmentations de [5HT]ext, dans l'hippocampe et le PFC, sont retrouvées également plus précocement chez les animaux ayant accès aux roues d'activité (Gomez-Merino et al., 2001). En accord avec ces données, 6 semaines d'exercice physique induisent une diminution de l'expression du SERT ainsi que de l'autorécepteur inhibiteur 5-HT1B (Greenwood et al., 2005).

La neurotransmission noradrénergique, l'EE entraîne une augmentation des concentrations tissulaires de NA dans l'hippocampe (Galani et al., 2007; Brenes et al., 2009) et une diminution dans l'amygdale et le PFC (Hendriksen et al., 2010). Enfin concernant la neurotransmission dopaminergique, l'EE induit une stimulation de la voie mésolimbique chez le rat se traduisant par une augmentation des concentrations tissulaires de DA dans le NAc (Segovia et al., 2010). Par ailleurs, cette augmentation des concentrations de DA dans le NAc a été retrouvée en réponse à l'Exercice physique et elle était corrélé à une diminution de l'expression du DAT dans cette même structure. De plus, une élévation des concentrations tissulaires de DA ont également été retrouvé dans l'hippocampe et le PFC (Freed and Yamamoto, 1985; Goekint et al., 2012; Chen et al., 2016).

En lien avec les données neurochimique, il existe peu d'études ayant mesuré les effets d'une exposition à l'EE et à l'exercice physique sur l'excitabilité des neurones monoaminergiques. Cependant il a été montré que chez des rats exposés trois semaines à l'Exercice physique, l'activité des neurones sérotoninergique dans le DRN été stimulée, mais pas celle des neurones noradrénergiques du LC ni dopaminergiques de la VTA. De plus, dans cette même étude, alors que l'administration aigüe de l'escitalopram chez des rats témoins a entraîné une suppression complète de la décharge des neurones sérotoninergiques, l'escitalopram n'a induit qu'une inhibition partielle des neurones sérotoninergiques indiquant que l'effet bénéfique de l'exercice physique sur l'humeur serait médié par l'activation des neurones sérotoninergiques (Dremencov et al., 2017).

En condition de stress, il a été rapporté qu'un stress prénatal chez le rat induit une diminution des taux des trois monoamines chez la descendance au niveau de l'hippocampe alors que ces altérations sont rétablies par une exposition de 30 jours à un EE (Guan et al., 2017). Par ailleurs, 30 jours d'EE rétablissent les concentrations tissulaires de 5-HT hippocampique à la suite d'un stress d'isolation sociale. Ces données font écho à celles observées avec la fluoxétine alors que l'exercice physique ne permet pas de rétablir cette diminution (Brenes et al., 2020).

L'activation neuronale induite par le stress dans le système noradrénergique et notamment dans le LC est réduite à la suite de six semaines d'exercice physique. Ces résultats suggèrent que l'exercice physique provoque une adaptation neuronale en réponse à un stress chronique (Greenwood et al., 2003). Le mécanisme de protection de l'exercice physique contre le stress a été attribué à une augmentation de l'expression de la galanine dans le LC (Sciolino et al.,

2012). La galanine est connue pour son rôle hyperpolarisant sur les neurones noradrénergiques et donc sa capacité à inhiber la décharge des neurones du LC (Pieribone et al., 1995). Enfin, bien que peu d'études aient examiné les effets des stratégies non pharmacologiques sur la transmission dopaminergique, il a été rapporté que 6 semaines d'Exercice physique potentialisaient les [DA]ext dans le striatum en réponse à un stress (Clark et al., 2015). De plus, le modèle de défaite sociale altérant la préférence sociale est lié à une diminution de l'expression de tyrosine hydroxylase dans l'ATV et du récepteur D2 dans le NAc, or ces altérations sont corrigées par une exposition de 21 jour à l'Exercice physique (Zhang et al., 2019a).

Dans l'ensemble, le fait que l'EE et l'Exercice physique modulent les différents systèmes de neurotransmetteurs dans les zones cérébrales impliquées dans les émotions confortent leur rôle dans l'amélioration de la pathologie dépressive bien que leurs effets sur la neurotransmission monoaminergique nécessitent d'être précisés notamment par des approches électrophysiologiques, neurochimiques et l'étude du rôle des différents récepteurs mobilisés.

Peu d'études se sont intéressées aux effets des stratégies environnementales sur la balance E/I. Les acteurs principaux de cette balance sont les interneurones inhibiteurs GABAergiques et les neurones glutamatergiques, notamment les neurones pyramidaux. Les modifications induites par les stratégies environnementales comme l'augmentation du tonus sérotoninergique et/ou noradrénergique dans l'hippocampe pourrait contribuer à moduler l'activité électrique de ces populations neuronales et ainsi impacter significativement la balance E/I.

Les neurones sérotoninergiques du DRN projettent dans l'hippocampe pour communiquer avec les interneurones GABAergiques et les neurones pyramidaux. Ces deux populations neuronales expriment différents récepteurs sérotoninergiques dont les récepteurs 5HT1A et 5HT2A respectivement inhibiteurs et excitateurs (Bombardi and Di Giovanni, 2013; Dale et al., 2016). Ainsi, par l'intermédiaire d'une activation des neurones sérotoninergiques et d'une augmentation des [5-HT]ext, l'EE ou l'Exercice physique pourraient moduler la balance E/I. Or, comme les récepteurs 5HT1A et 5HT2A sont souvent co-exprimés, il est difficile d'anticiper l'effet net de ces stratégies. En général, les données électrophysiologiques montrent que l'application de 5-HT inhibe les cellules pyramidales de CA1 par le biais des récepteurs 5HT1A et stimule la transmission GABAergique (Andrade and Nicoll, 1987). Toutefois, des effets

excitateurs de la 5-HT sur les interneurones GABAergiques (Shen and Andrade, 1998) et les cellules pyramidales ont pu être mis en évidence par l'intermédiaire des récepteurs 5HT2A (Uneyama et al., 1992). En conclusion, la régulation de la balance E/I par les monoamines semble reposer sur des mécanismes complexes et finement régulés grâce aux différents sous-types de récepteurs excitateurs et inhibiteurs exprimés sur des cellules excitatrices et inhibitrices.

IV.3 Enrichissement Olfactif

Les traitements allopathiques de la dépression majeure ont de nombreux défauts notamment de nombreux effets indésirables qui peuvent impacter la qualité de vie des patients. De plus, malgré un nombre important de molécules disponibles, ces traitements montrent un taux d'efficacité faible. C'est pourquoi, la recherche s'intéresse aux stratégies thérapeutiques alternatives non conventionnelles telles que l'aromathérapie ou la phytothérapie afin de prévenir ou traiter le stress avant l'apparition du TDM. Il s'agira ici de décrire le lien entre les émotions et l'olfaction, étant donné que des preuves montrent les effets bénéfiques d'un enrichissement olfactif sur les comportements anxio-dépressifs.

IV.3.1 Liens entre émotion et olfaction

Différentes études cliniques et précliniques ont permis de mettre en évidence que les odeurs peuvent changer de valence émotionnelle en fonction de l'état de stress. Ce principe a récemment été illustré par une étude d'imagerie au cours de laquelle les participants ont dû observer des images anxiogènes et évaluer un panel d'odeurs neutres. Les résultats montrent que certaines odeurs sont perçues de manière négative en rapport avec l'activation d'aires cérébrales impliquées dans le contrôle des émotions (Krusemark and Li, 2012). Ainsi, ces travaux apportent une preuve expérimentale du lien étroit entre les centres des émotions et ceux du traitement des odeurs. Ils soulignent également qu'il existe des circuits neuronaux sous-tendant les interactions anatomiques et fonctionnelles entre les régions dédiées au traitement de ces informations (Krusemark et al., 2013). Ces données cliniques rappellent différents travaux menés chez les rongeurs. En particulier, une étude menée chez des souris stressées de manière chronique montre que celles-ci présentent des déficits d'acuité et de

mémoire olfactive ainsi que des problèmes dans leur capacité à discriminer les odeurs (Siopi et al., 2016).

Un corollaire à ces interactions est le fait que les odeurs peuvent également moduler les émotions de manière positive ou négative selon qu'elles inhibent ou stimulent l'état de stress (Masuo et al., 2021). Chez les mammifères, les circuits neuronaux des voies olfactives régulant les émotions ont été largement étudiés. Ceux-ci mettent en jeu des voies spécifiques partant des neurones sensitifs de l'épithélium olfactif qui expriment un grand nombre de récepteurs olfactifs. Ces neurones projettent ensuite vers le bulbe olfactif composé de différentes populations neuronales qui innervent à leur tour des régions impliquées dans la régulation des émotions telles que le cortex, l'amygdale ou l'hippocampe (Figure 14).

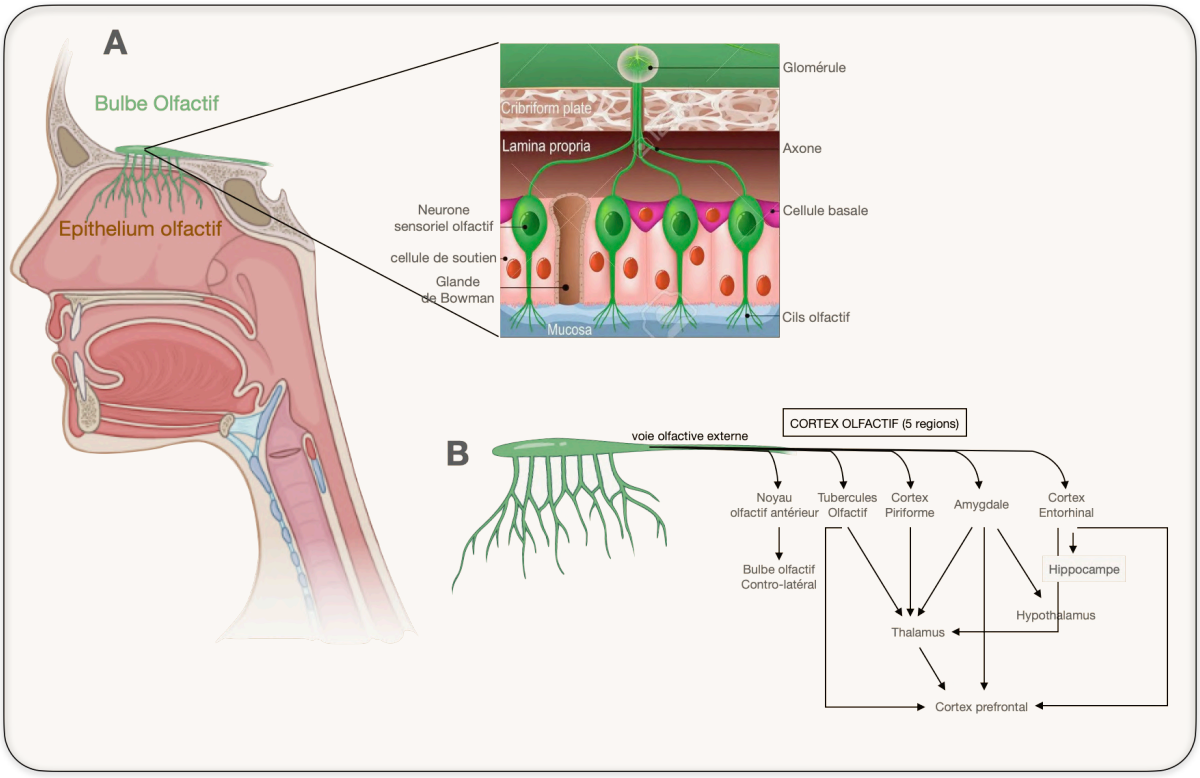


Figure 14. Représentation schématique du système olfactif humain. (**A**) Structure de l'épithélium olfactif. Il existe 50 millions de neurones sensoriels dans l'épithélium olfactif nasal. Chaque neurone exprime un type de récepteur olfactif à l'une de ses extrémités, tandis que l'autre extrémité envoie une projection axonale vers un glomérule olfactif situé à l'intérieur du bulbe olfactif. Dans cette région une connexion synaptique s'établi notamment avec les cellules mitrales. (**B**) Diagramme représentant les voies olfactives. La voie olfactive externe projette sur 5 régions cérébrales incluant les tubercules olfactifs, le cortex piriforme, l'amygdale et le CE. Quatre de ces régions sont connectées au thalamus et au PFC. Les aspects émotionnels de l'olfaction dérivent des projections limbiques (amygdale, hippocampe et hypothalamus). D'après (Masuo et al., 2021).

IV.3.2 Effets bénéfiques des extraits d'agrumes

Ces alternatives non conventionnelles sont utilisées depuis des siècles dans la médecine traditionnelle chinoise, qui utilise des extraits végétaux ou d'épices. Les ingrédients utilisés sont les extraits d'épices comme le curcuma et les extraits d'agrumes. Du fait du développement de ces thérapies alternatives, de plus en plus d'études se sont intéressées à leurs effets antidépresseurs et/ou anxiolytiques ainsi qu'aux mécanismes responsables de leurs effets bénéfiques sur la santé mentale. Ici, il s'agira de décrire les effets bénéfiques des extraits d'agrumes (*utilisés au cours de ma thèse*) bien que les extraits d'épices montrent également un intérêt dans ce type d'approches thérapeutiques.

Cette famille d'agrumes regroupe plusieurs variétés d'orange, de citrons, de pamplemousse, etc. Ils ont la particularité de partager des caractéristiques communes mais ont également des principes actifs qui leur sont propres. Une partie de mes travaux de thèse a porté sur les effets bénéfiques d'un des extraits d'orange : *Citrus sinensis*. Le composant principal de *Citrus sinensis* est le D-limonène (Niedz et al., 1997; Zhang et al., 2019b) capable d'activer des récepteurs olfactifs. Des études chez l'humain ont montré un effet bénéfique du limonène dans le cadre du trouble de l'humeur notamment une diminution de niveau d'anxiété dans un modèle de stress à la suite d'une exposition aérienne brève (Lehrner et al., 2000). D'autres composés actifs également présents dans *Citrus sinensis* tels que les flavonoïdes *(naringine, naringinine, etc)* ont montré des effets positifs sur la régulation du stress et de l'humeur chez l'humain (Rani et al., 2016).

Au niveau préclinique, des études ont également mis en évidence les propriétés neurocomportementales des extraits de *Citrus sinensis* sur l'humeur. Par exemple, en conditions physiologiques l'exposition aérienne de courte durée au *Citrus sinensis* avec une composante majeure de limonène, entraîne des effets anxiolytiques dans les tests d'EPM et de Dark/light (Faturi et al., 2010; Wolffenbüttel et al., 2018). Les effets propres du limonène contenu dans le *Citrus sinensis* sur l'humeur ont également été mis en évidence par d'autres voies d'administration. L'effet bénéfique du limonène sur les comportements anxieux et dépressifs dans des modèles non pathologiques est associé à une diminution de la réactivité de l'axe HPA après un stress aigu (Zhou et al., 2009; Coelho et al., 2013; Lima et al., 2013). Cet effet bénéfique sur le comportement a également été observé dans un modèle de stress de

contrainte chronique accompagné d'effets neuro-protecteurs (Bigdeli et al., 2019) ou encore dans le modèle d'UCMS (Zhang et al., 2019b) associé à une amélioration des niveaux hippocampiques et corticaux de 5HT, NA et DA réduits par le modèle. Par ailleurs, une réduction de l'hyperactivité de l'axe HPA ainsi qu'une augmentation de l'expression hippocampique des récepteurs au BDNF ont été observée en réponse à l'exposition au limonène dans ce modèle (Zhang et al., 2019b). Enfin, les autres composés de *Citrus sinensis* tel que la naringenine, possèdent également des effets anxiolytiques et antidépresseurs à la fois en conditions physiologiques et pathologiques après une administration aigüe et chronique (Yi et al., 2010, 2012, 2014). Ces effets bénéfiques sont associés à une augmentation de l'expression hippocampique de BDNF mais ont été totalement abolis par l'administration de K252a, un inhibiteur du récepteur au BDNF (TrkB) suggérant ainsi que l'effet antidépresseur de la naringenine peut être médié, au moins en partie, par l'activation de la signalisation du BDNF dans l'hippocampe (Yi et al., 2014). De plus une augmentation des niveaux de 5HT et NA hippocampique ainsi qu'une augmentation de l'expression des récepteurs aux GR dans des conditions standards après 14 jours d'exposition ont été observées proposant ainsi un mécanisme liant ces composés à ceux des médicaments antidépresseurs (Yi et al., 2012). En dépit de ces quelques études, les effets bénéfiques de ce type d'enrichissement olfactif restent encore peu documentés dans des modèles animaux de dépression.

IV.4 Combinaison de stratégies thérapeutiques

Bien qu'efficace les antidépresseurs pharmacologiques présentent une réponse tardive du fait du temps nécessaire à la mise en place de processus tels que la désensibilisation des autorécepteurs 5-HT1A, la stimulation de la neurogenèse adulte hippocampique ou encore l'amélioration de la balance E/I dans différentes régions du système limbique. Par conséquent, des stratégies pharmacologiques ont été testées afin d'optimiser l'efficacité des antidépresseurs et ainsi développer des stratégies dites de « potentialisation ». L'administration concomitante d'un antagoniste des récepteurs 5-HT1A a été la première stratégie utilisée dans ce sens. En effet, les patients dépressifs résistants aux ISRS ayant reçu une administration de pindolol, antagoniste des récepteurs 5-HT1A, ont montré un raccourcissement du délai d'action de cette classe d'antidépresseur d'une à deux semaines selon les études (Blier and Bergeron, 1998). Cette stratégie a également été testée en

préclinique avec la venlafaxine. Les auteurs ont mis en évidence une potentialisation des effets de la venlafaxine sur la résignation des animaux (FST et TST) lorsque celle-ci est administrée avec du pindolol (Yaman and Bal, 2022). Depuis, de nombreuses stratégies de potentialisation ont été testées avec succès notamment la combinaison d'ISRS avec les antipsychotiques atypiques (Moret, 2005). Quant aux stratégies thérapeutiques non pharmacologiques utilisées en clinique (activités physique, intellectuelles, sensorielles, artistiques ou impliquant un renforcement du lien social) celles-ci présentent une efficacité modérée sur les formes de dépressions sévères (Knapen et al., 2015; Abdollahi et al., 2017). En revanche, leur capacité à améliorer la réponse des antidépresseurs a été beaucoup moins étudiée.

Au niveau préclinique, une étude menée chez le rat a rapporté qu'un ISRS, la sertraline, exerce des effets de type antidépresseurs lorsque les animaux sont exposés à un EE par rapport à des conditions d'isolement social (Yildirim et al., 2012). Des résultats similaires ont été retrouvés dans un modèle de dépression post-partum chez le rongeur. En effet, chez des souris déprimées, l'exposition à un EE en combinaison avec un traitement par la fluoxétine entraîne une diminution de l'anxiété, de la résignation, de l'anhédonie ainsi qu'une augmentation de la sociabilité alors que ces réponses comportementales ne sont pas observées avec la fluoxétine seule (Bashiri et al., 2021). D'un point du vue mécanistique, l'effet bénéfique de cette combinaison s'accompagne d'une amélioration de la réactivité de l'axe HPA avec une diminution des taux plasmatiques d'ACTH et de corticostérone. De la même manière, dans un modèle d'UCMS, les animaux traités à la fluoxétine montrent une diminution de l'anhédonie dans le test de préférence au sucrose uniquement dans des conditions d'exposition à un EE mais pas lorsque les animaux sont hébergés en conditions de stress (Poggini et al., 2021). Des résultats concordants ont été retrouvés dans deux autres études utilisant le même modèle de dépression (Ramirez and Sheridan, 2016; Liu et al., 2017). Enfin, les auteurs de ces travaux montrent que l'effet bénéfique de la combinaison d'un EE avec la fluoxétine est associé à un effet pro-neurogénique renforcé par rapport aux stratégies prises indépendamment.

L'amélioration des effets bénéfiques comportementaux des antidépresseurs combinés aux interventions non pharmacologiques a été montré en comparaison aux monothérapies. Cependant, aucune de ces études ne s'est intéressée au délai d'action des antidépresseurs.

Une analyse plus fine de la littérature montre toutefois que dans certaines études, 3 semaines de traitement suffisent pour obtenir des effets de type antidépresseurs lorsque les animaux sont hébergés dans un EE, même si la question du délai d'action n'était pas l'objectif principal du travail (Liu et al., 2017; Poggini et al., 2021). À ce jour, aucun lien, ni aucun mécanisme neurobiologique n'a été scientifiquement décrit afin d'expliquer les effets bénéfiques des stratégies non-pharmacologiques sur le raccourcissement du délai d'action des antidépresseurs. Cette constatation, partagée avec nos collègues cliniciens, a motivé mon projet de thèse.

OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THÈSE

OBJECTIFS DES TRAVAUX DE THÈSE

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, la dépression majeure est caractérisée par une multitude de symptômes et conduit à l'altération de diverses structures cérébrales chez l'humain. Les traitements pharmacologiques de cette pathologie sont divers et variés, de par leur nombre ainsi que par les mécanismes d'action mis en jeu, et ciblant pour la plupart d'entre eux les systèmes monoaminergiques. Cependant, le fait que les traitements pharmacologiques actuellement disponibles ne permettent pas toujours une prise en charge efficace de la pathologie reste un problème majeur. C'est notamment le cas du long délai d'action des antidépresseurs, qui peut parfois conduire au suicide lors des premières semaines de traitement.

Des stratégies non pharmacologiques ont été développées pour pallier les échecs thérapeutiques des antidépresseurs. Celles-ci concernant notamment les stimulations cérébrales ou environnementales qui semblent induire moins d'effets secondaires que les traitements pharmacologiques. Toutefois, l'efficacité de ces stratégies non pharmacologiques semble inférieure à celle des antidépresseurs notamment dans les formes sévères de dépression et mérite encore d'être mieux définie. C'est pourquoi la recherche de pistes innovantes pour le traitement de la dépression reste aujourd'hui un enjeu majeur de santé publique.

L'idée de ma thèse est partie d'une collaboration naissante entre notre laboratoire et une clinique Toulousaine spécialisée dans le traitement de la dépression. Les psychiatres de la clinique nous ont confié avoir le sentiment que les nombreuses activités (exercice physique, ergothérapie, jeux de société en groupe, atelier méditation, etc ...) proposées aux patients, en complément de leurs traitements médicamenteux, permettaient d'atteindre plus rapidement la disparition des symptômes de la dépression et peut-être de limiter le risque de rechute. Nous avons alors imaginé quantifier ces effets de façon rigoureuse dans le cadre d'une étude menée dans leur clinique. En parallèle et pour aller plus loin dans la compréhension des mécanismes biologiques impliqués, nous avons décidé d'étudier ces phénomènes sur une cohorte de souris modèles de la dépression. Ma thèse a donc eu lieu dans le cadre d'un contrat CIFRE, entre le groupe CLINEA et le CRCA.

Pour des raisons administratives et du fait de la crise sanitaire, le volant clinique de mon projet est resté limité. J'ai écrit le CPP, j'ai conduit de nombreuses réunions avec les équipes de la clinique mais je n'ai pas pu démarrer les expériences prévues. C'est donc seulement la partie préclinique de mon travail que je présente ici.

Au cours de ma thèse, j'ai étudié les effets comportementaux de plusieurs stratégies non pharmacologiques et recherché les processus neurobiologiques sous-tendant leurs effets antidépresseurs chez la souris. Concrètement, mes travaux ont porté sur les effets bénéfiques de stratégies environnementales (environnement enrichi, exercice physique) et sensorielle (olfaction) utilisées dans un modèle murin de dépression, et donnent lieu à 3 chapitres présentés dans la partie « Résultats » de ce manuscrit :

Chapitre 1 : Quel est l'effet d'une exposition à un environnement enrichi sur la réponse à un antidépresseur, la venlafaxine, dans un modèle murin de dépression

Effet de l'environnement enrichi sur le délai d'action de la venlafaxine

Au cours de ce travail, nous avons cherché à évaluer dans quelle mesure l'exposition à un environnement enrichi combiné au traitement par la venlafaxine (IRSN) pouvait réduire le délai d'action de cet antidépresseur dans un contexte pathologique de dépression. Nous avons conduit une étude comportementale longitudinale utilisant diverses stratégies thérapeutiques auxquelles ont été soumises des souris exposées à la corticostérone (CORT). Le phénotype pseudo-dépressif de ces animaux modèle de dépression a été évalué après 2 et 8 semaines de traitement. Nous avons ensuite examiné les mécanismes neurobiologiques mis en jeu, en nous focalisant plus particulièrement sur la neuroplasticité de l'hippocampe, et notamment la neurogenèse adulte et la plasticité des interneurones Parvalbumine. A l'aide d'approches interventionnelles, nous avons tenté de déterminer les liens de causalité existants entre ces régulations cellulaires et les effets antidépresseurs observés en combinant la venlafaxine et différentes modalités d'enrichissement environnementaux.

Effet de l'arrêt de l'enrichissement environnemental sur la réponse à la venlafaxine

Afin de prendre en compte le fait de sortir de l'institution pourrait être associé à un évènement à valence négative pour les patients ayant bénéficié d'activités stimulantes durant leur séjour, nous avons examiné les conséquences d'un arrêt de l'exposition à un EE (tout en maintenant le traitement à la venlafaxine) sur le phénotype anxio-dépressif et la plasticité cérébrale hippocampique des souris CORT.

Ce premier chapitre révèle que l'exposition à l'EE réduit le délai d'action de la venlafaxine chez les animaux déprimés alors que l'arrêt de l'EE a un effet délétère sur le phénotype pseudo-dépressif des animaux. Afin de mieux caractériser l'influence des différentes stimulations qui composent l'EE, nous nous sommes ensuite concentrés sur la contribution de l'Exercice Physique.

Chapitre 2 : Quel est l'effet de l'activité physique volontaire sur la réponse à la venlafaxine dans un modèle murin de dépression

Sur la base des travaux menées dans le chapitre 1, nous avons examiné comment l'activité physique volontaire, favorisée par la présence d'une roue d'activité dans les cages d'hébergement, pourrait réduire le délai d'action de la venlafaxine (IRSN) dans un contexte pathologique.

Pour tester cette hypothèse, nous avons mené une nouvelle étude comportementale longitudinale évaluant l'influence de diverses stratégies thérapeutiques sur le phénotype pseudo-dépressif de souris exposées à la CORT. Les performances émotionnelles et cognitives des animaux ont été mesurées après 2 ou 8 semaines de traitement afin d'identifier la cinétique d'apparition des effets bénéfiques. De plus, nous avons tenté de déterminer les mécanismes pouvant sous-tendre ces effets en nous focalisant sur les modifications de la neurogenèse hippocampique adulte et le système sérotoninergique via l'étude de la sensibilité à l'autorécepteur 5HT1A. Le travail de ce deuxième chapitre met en évidence l'effet bénéfique de l'exercice physique sur la réponse comportementale et montre que cet effet est accompagné d'une augmentation précoce de la neurogenèse hippocampique et de la désensibilisation de l'autorécepteur 5-HT1A. D'autres expériences seront nécessaires pour compléter notre compréhension des processus biologiques permettant l'expression des effets antidépresseurs de l'administration combinée de la venlafaxine et de l'activité physique.

Nous avons étudié ces mécanismes dans le chapitre suivant, qui a recherché les effets bénéfiques sur l'anxiété, d'une stimulation sensorielle impliquant les fonctions olfactives.

Chapitre 3 : Détermination des interactions entre le système olfactif et le système sérotoninergique dans les effets antidépresseurs d'un ingrédient alimentaire sensoriel à base d'agrumes

Ce travail a été mené en collaboration avec un partenaire privé, l'entreprise Phodé (Terssac, France), pour laquelle nous avons étudié l'effet d'un enrichissement olfactif sur le phénotype pseudo-dépressif de souris modèles de dépression. Étant donné l'existence de connexions étroites entre voies olfactives et aires cérébrales impliquées dans la régulation de l'humeur et des émotions (notamment au niveau du système limbique), l'olfaction constitue une voie de recherche intéressante et novatrice à de nombreux égards. En particulier, une remédiation par l'utilisation d'odeurs dans les troubles anxio-dépressifs est une voie de recherche prometteuse, notamment du fait de l'impact sur le fonctionnement neurochimique du cerveau. Ce travail a donné lieu à un article publié au cours de ma thèse (Coutens et al., 2020).

L'étude du composé test (D11399) s'intègre donc totalement dans mes travaux de thèse notamment par la présence d'extraits d'agrumes et plus particulièrement de *Citrus Sinensis* dont les effets bénéfiques sur l'humeur sont documentés ainsi que les mécanismes associés.

Tout d'abord nous avons évalué l'effet d'une administration orale du composé test (D11399) sur les réponses anxiolytiques et antidépressives de souris naïves afin de déterminer la dose efficace à l'aide de différents paradigmes comportementaux. Puis, afin de caractériser le rôle des circuits de l'olfaction dans les effets du D11399, nous avons évalué les effets de ce composé chez des souris rendues transitoirement anosmiques. Le composé D11399 a ensuite été testé dans une cohorte de souris modèle de la dépression (modèle CORT par implantation de pellet). L'étude comportementale a permis de déterminer les effets antidépresseurs du composé et nous avons ensuite recherché l'implication de la neurogenèse hippocampique et du système sérotoninergique dans les effets bénéfiques du D11399.

À travers ces trois chapitres, mes travaux de thèse ont eu pour objectif principal d'identifier, à l'aide de modèles animaux, les mécanismes neurobiologiques sous-tendant les effets

comportementaux de stratégies innovantes et originales pour la prise en charge des troubles cognitifs et de l'humeur, tels qu'on les observe dans la dépression majeure chez l'humain.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Cette partie présente les dispositifs et protocoles expérimentaux que j'ai utilisés pour mes travaux de thèse.

1. Autorisations à expérimenter

Les expériences ont été menées en conformité avec la réglementation européenne du Conseil Européen des Communautés (86/609/CEE) et du Comité National Français (87/848) concernant le bien-être animal. Le projet a ensuite été évalué puis validé par le ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation ainsi que par un comité d'éthique local (APAFIS : #12342-2017082111489451 v6). Au cours mes travaux de thèse, j'ai également obtenu mon diplôme d'« Utilisation et Protection de l'Animal de Laboratoire, UPAL » concernant la conception de projets ainsi que la réalisation des procédures (A/B/C/D). Cette formation de niveau 1 a été réalisée à l'École National Vétérinaire de Toulouse (France) et est accréditée par le ministère de l'Agriculture.

2. Animaux

Pour l'ensemble des expériences réalisées, j'ai travaillé avec des souris mâles de la lignée C57Bl/6J car son utilisation pour le modèle de dépression par exposition chronique à la CORT dans l'eau de boisson (David et al., 2009) ou par implantation de pellets sous la peau (Demuyser et al., 2016) a été largement validée. Par ailleurs, nous avons choisi de ne pas utiliser de femelles C57Bl/6J car à la dose optimale de 35 µg/ml, l'induction d'un phénotype pseudo-dépressif est très peu marqué par rapport aux souris mâles (Mekiri et al., 2017).

3. Les différents type d'hébergements

Les animaux étaient hébergés au sein de l'animalerie du Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA, UMR5169) dans des conditions standards (STD), c'est-à-dire par groupe de 5 ou 6 souris avec un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. Les cages contenaient des éléments de bien-être animal (1 tube de PVC et matériel de nidification) permettant de limiter l'enrichissement des cages. Tous les animaux étaient exposés à un rythme circadien 12/12h et à une température ambiante de 23°C ± 2°C.

- Hébergement spécifique : L'environnement enrichi

Pour l'hébergement en environnement enrichi (EE), nous avons utilisé les cages de Marlau (Viewpoint, France), qui favorisent la standardisation de l'exposition à un EE (Fares et al., 2013). Ce type d'enrichissement promeut (Figure 15) :

- les interactions sociales (12 souris par cage),

- l'activité physique volontaire grâce à la présence de roues métalliques (au nombre de 2 afin d'éviter la monopolisation d'une roue par une souris dominante),

- les fonctions cognitives grâce à des labyrinthes qu'il faut traverser pour rejoindre le compartiment contenant la nourriture et les fonctions sensorielles par la présence de jouets, tunnels, échelles et toboggans. La configuration des labyrinthes était changée trois fois par semaine permettant une stimulation cognitive continue. De la même façon, les divers objets présents dans l'EE étaient changés hebdomadairement afin de stimuler les comportements exploratoires des animaux. Il faut noter que cet EE ne contenait pas de stimulations olfactives. Il faut noter que cet EE ne contenait pas de stimulations olfactives. L'enrichissement de cette modalité sensorielle a été évaluée de manière indépendante dans la dernière partie des résultats (Article 3).

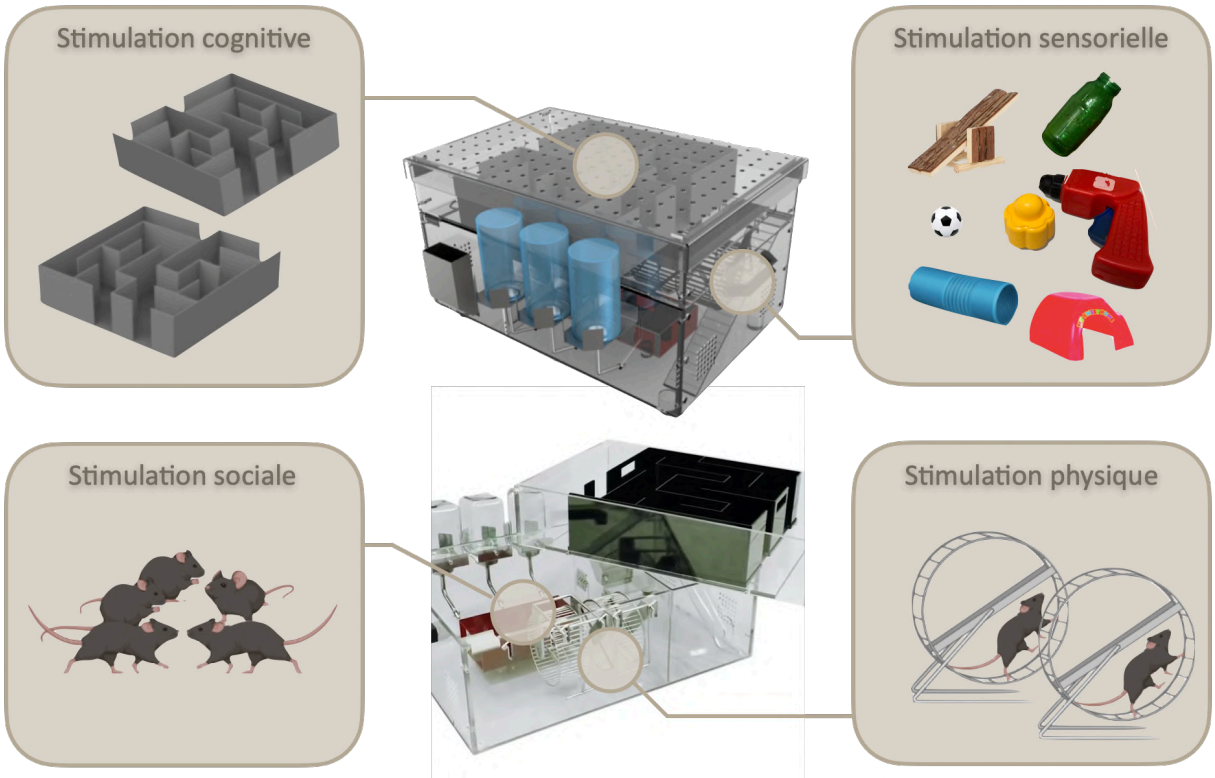


Figure 15. Stimulations multiples d'un environnement enrichi à l'aide des cages de Marlau (Viewpoint)

- Hébergement spécifique : Stimulation de l'activité physique volontaire

Une partie de mes travaux de thèse a consisté à évaluer l'effet de l'activité physique volontaire (une des composantes de l'EE) sur la réponse à un antidépresseur, la venlafaxine. Pour cela les animaux étaient hébergés par 6 dans des cages contenant les mêmes éléments de bien-être animal (1 tube de PVC et matériel de nidification) que les souris élevées en cages standards, et dans lesquelles étaient placées 2 roues d'activité. Ces cages étaient légèrement plus larges (50cm) que les cages standards afin de pouvoir y placer ces roues d'activités.

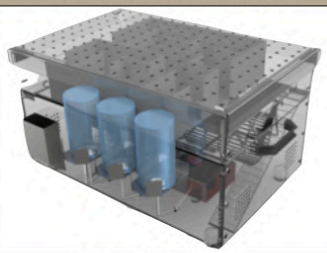
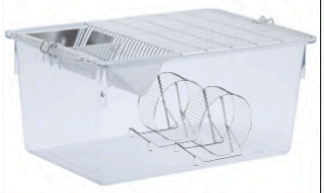
	Cage standard (STD)	Environnement Enrichi (EE)	Exercice Physique (Ex)
			
Dimension	365 x 207 x 140 mm surface: 530 cm²	580 x 400 x 320 mm surface: 725 cm² *(+ étage labyrinthe)*	464 x 300 x 150 surface: 920 cm²
Stimulation Physique	- - -	+ + +	+ + +
Stimulation cognitive	- - -	+ + +	+ + +
Stimulation sociale (n)	6	12	6

Tableau 6. Les différentes conditions d'hébergement

4. Traitements pharmacologiques

Le modèle murin de dépression, induit par l'exposition chronique à la CORT : Pour induire un phénotype pseudo-dépressif, les souris sont exposées à la cortisone (CORT ; 35 µg/mL soit 5mg/kg par jour ; Sigma-Aldrich, France, Cat#C2505) dissoute dans de l'eau contenant de la β-cyclodextrine (20%, Kleptose®, Roquette, France) pendant 8 semaines (David et al., 2009). Ce traitement est maintenu pendant toute la procédure expérimentale. Un suivi hebdomadaire de la consommation hydrique est effectué afin d'ajuster la concentration de CORT à laquelle sont exposés les animaux. Les animaux contrôles (CTL), non exposés à la CORT ont à disposition de l'eau de boisson contenant 20% de Kleptose. Du fait de sa photosensibilité, la CORT est placée dans des biberons opaques et changée 2 fois par semaine.

Dans la dernière partie de mes travaux de thèse, la CORT a été administrée par implantation sous-cutanée de pellet de CORT diffusant 5 mg de CORT par jour, durant 90 jours (Innovative Research of America, Floride, USA) selon le protocole décrit par Demuyser et ses collaborateurs (Demuyser et al., 2016).

La venlafaxine (VLX) : L'antidépresseur étudié dans ma thèse, la Venlafaxine (VLX) a été administré de façon chronique dans l'eau de boisson (16 mg/kg par jour, Sigma-Aldrich, Cat# V7264) durant 2 à 8 semaines, selon l'expérience. Cet antidépresseur était toujours administré aux souris, après l'induction par la CORT, du phénotype pseudo-dépressif. La VLX était diluée dans la solution de CORT et délivrée aux animaux dans des biberons opaques. La quantité de VLX administrée était également ajustée en fonction de la consommation hydrique des animaux, afin d'obtenir une prise équivalente à 16 mg/kg par jour. Cette dose a été choisie au regard de la littérature et permet une action simultanée sur les systèmes sérotoninergique et noradrénergique, en inhibant à la fois les transporteurs SERT de la 5-HT et NAT de la NA (Bacq et al., 2012).

L'escitalopram : Pour les études de microdialyse intracérébrale menées dans la partie 3, nous avons perfusé de l'escitalopram (1 µM à travers la sonde de dialyse de Sigma-Aldrich) pour bloquer spécifiquement le transporteur de la sérotonine (SERT).

La doxycycline (DOX) : Afin d'inhiber et de stabiliser la matrice extracellulaire entourant les interneurones Parvalbumine de l'hippocampe, nous avons soumis une partie des animaux à un régime alimentaire contenant de la DOX (*per os*) dans le but de bloquer la plasticité de ces interneurones en réponse aux stratégies thérapeutiques testées (voir article 1). Dans la littérature, cet antibiotique est décrit comme un inhibiteur non spécifique des métalloprotéases qui elles-mêmes dégradent les PNNs (Lee et al., 2006; Bach et al., 2019). Dans ce sens l'effet de la DOX n'est pas propre aux interneurones PV de l'hippocampe et n'exclut pas des effets sur le comportement par d'autres mécanismes.
Pour administrer la DOX, le régime alimentaire standard (SAFE, France) des animaux a été remplacé par un régime alimentaire contenant de la doxycycline (Ssniff, Allemagne). Le poids des animaux ainsi que de leur consommation quotidienne de nourriture ont été contrôlés. La consommation quotidienne de doxycycline était approximativement de 5mg/jour.

Ingrédient olfactif à base d'extrait de Citrus sinensis, le D11399 : En collaboration avec la société Phodé (Terssac, France), et dans l'optique d'évaluer les effets d'une stimulation olfactive sur les comportements de type anxio-dépressifs chez la souris, nous avons administré le D11399. Le D11399 contenait comme partie active un noyau (B524) principalement constitué d'extrait de Citrus sinensis (24-32%) et était formulé avec des excipients à base d'eau et d'agents émulsifiants végétaux (36-48%) pour obtenir une forme galénique liquide hydro-dispersable. En utilisant la chromatographie en phase gazeuse, il a été déterminé que le D11399 contient comme ingrédients principaux du D-limonène (94,5%), du myrcène (2,5%), de l'alpha pinène (0,6%), du sabinène (0,35%), du citral (0,225%) et du beta pinène (0,085%). La solution témoin contenait de l'huile de coco purifiée (24-32 %) formulée avec le même excipient que D11399. Le D11399 a été administré à la dose de 1,25 mg/kg par jour,

ajustée selon la consommation hydrique journalière des animaux. Le D11399 était fraîchement préparé tous les deux jours et disponible pour les souris dans des biberons opaques.

5. Chirurgies

Deux types de chirurgies ont été effectuées au cours de ma thèse. L'implant de pellet de CORT et l'injection intracérébrale de la chondroïtinase ABC (ChABC) ou du PBS ont nécessité une anesthésie par voie gazeuse au Vetfluorane (Vnr137317 ; Virbac). L'implantation des sondes de microdialyse intracérébrale, a été réalisée sous anesthésie à l'hydrate de chloral (400 mg/kg i.p. dilué dans du NaCl 0,9%, SigmaAldrich Cat# 302-17-0).

Implant de pellets de CORT : La chirurgie pour l'implantation des pellets dure moins de 10 minutes par souris. Les animaux sont anesthésiés dans une chambre d'induction avec le vetfluorane à 4 % (1000mg/g/ml) avec un débit d'air/oxygène à 0.2ml/min, suivi d'une anesthésie au Vetfluorane à 2 % à l'aide d'un masque facial. Ensuite une entaille de 5 mm est réalisée dans la partie haute du dos de la souris pour la mise en place du pellet. Celui-ci est alors poussé sous la peau à distance du site d'incision avant de refermer l'entaille à l'aide de fil de suture résorbable. Les animaux sont alors placés dans une cage sous une lampe chauffante jusqu'à leur réveil complet avant d'être replacés en groupe.

Injection intracérébrale aigüe de solutions de chondroïtinase ABC (ChABC) ou de PBS : Les souris sont anesthésiées au Vetfluorane à 4% puis placées dans un appareil stéréotaxique (Kopf). Avant la chirurgie, de la lidocaïne est appliquée en sous-cutané sur le crâne de l'animal et un gel (Ocrygel) est appliqué sur les yeux afin d'éviter leur dessèchement. Chaque souris a reçu deux injections bilatérales dans la région CA1 de l'hippocampe dorsal. Pour la partie rostrale de l'hippocampe CA1, les coordonnées suivantes ont été utilisées (en mm à partir du bregma) : (AP) -1,34, (L) ± 1 et (V) -1,5 et pour la partie caudale : (AP) : -2,46, (L) ± 2 et (V) -1,5. Une solution de 100nL contenant de la ChABC (50 U/ml, Sigma-Aldrich) ou de son solvant (PBS 1X) est injectée à chaque site à l'aide d'une seringue Hamilton (Ref, 074362). À la fin de chaque injection, l'aiguille était laissée en place pendant 5 min avant d'être retirée lentement. Après avoir suturé l'animal avec un fil résorbable, la souris est isolée dans une cage jusqu'à son réveil complet avant d'être replacée dans sa cage d'origine avec ses congénères. Deux jours de repos post-chirurgie sont respectés avant les procédures comportementales.

Implantation des sondes de microdialyses : Les souris sont anesthésiées à l'aide d'hydrate de chloral (400 mg/kg ; i.p.), puis placées dans un appareil stéréotaxique (Kopf) permettant l'implantation de sondes de microdialyse (longueur de diffusion : 2mm) dans l'hippocampe ventral afin de doser la

sérotonine (5-HT) et la noradrénaline (NE). Les coordonnées utilisées, issues de l'atlas stéréotaxique (George Paxinos and Keith B.J. Franklin, 2019), sont les suivantes (en millimètres) : AP: 2,7 ; L : ±3 ; et V:3,5. Une fois la souris endormie, de l'ocrygel est appliqué sur les yeux puis une incision de la peau est réalisée sur le sommet du crâne. Un trou de 0.5 mm de diamètre est réalisé à l'aide d'une fraiseuse aux coordonnées exactes d'implantation des sondes, qui sont ensuite fixées sur le crâne avec du ciment dentaire (Duralay – Reliance Dental Manufacturing Co, Worth, IL 60482, USA). À la fin de chaque chirurgie, les animaux sont isolés pour faciliter leur récupération et éviter d'éventuelles blessures.

Le lendemain, les sondes sont connectées à une pompe péristaltique permettant la perfusion continue de liquide céphalorachidien artificiel (composition LCRa ; 147 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 1 mM MgCl2, 1,2 mM CaCl2, ajusté à pH 7,4 avec un tampon phosphate de sodium 2 mM) à un débit de 1,5 µl par minute. Un cathéter est connecté à la sortie de la sonde afin de permettre le recueil du LCRa chargé en neurotransmetteurs dans un tube Eppendorf. La membrane poreuse de la partie de la sonde implantée dans la région d'intérêt permet, grâce au phénomène d'osmolarité, de laisser diffuser de manière passive les neurotransmetteurs de faible poids moléculaire, du compartiment le plus concentré (la synapse) vers le compartiment le moins concentré (la sonde). Du citalopram (1µM) est ajouté dans la solution de LCRa afin d'empêcher la recapture du neurotransmetteur par les neurones, et ainsi mesurer spécifiquement le processus de libération. Les dialysats sont prélevés toutes les 15 minutes pendant 120 minutes, puis analysés par un système de chromatographie liquide à haute performance (HPLC), couplé à un système de détection électrochimique (Dionex Ultimate 3000 ; Thermofisher, Courtaboeuf, France). La quantification est ensuite effectuée à l'aide du logiciel Chroméléon Lab 7.2 (Chroméléon Chromatography Data System, ThermoFisher, USA).

6. Mesure de l'activité du système sérotoninergique

- Enregistrements électrophysiologiques unicellulaires in vivo des neurones 5-HT du noyau du raphé dorsal

Les souris sont anesthésiées à l'hydrate de chloral (400 mg/kg i.p.) puis placées dans un appareil stéréotaxique. Afin d'éviter une hypothermie causée par l'anesthésie, une couverture chauffante est placée sous l'animal maintenant ainsi sa température corporelle à 37°C. Les enregistrements unitaires des neurones 5-HT du DRN sont réalisés à l'aide de micropipettes en verre (Stoelting, Wood Dale, IL, USA) étirées par une étireuse gravitationnelle (Narishige, London, United-Kingdom) puis remplies de solution de NaCl à 2M. Leur impédance est généralement comprise entre 5 et 8 MΩ. La micropipette en verre est alors positionnée selon les coordonnées suivantes (en mm par rapport au lambda) : AP : +1,0 à 1,2 ; L : 0-0.1 ; V : 5-7 où un trou de 0.5 mm de diamètre a préalablement été percé. Les

neurones 5-HT sont ensuite identifiés en utilisant les critères suivants : une fréquence de décharge régulière et lente (0,5-2,5 Hz) et une longue durée de potentiel d'action (2-5 ms) (Aghajanian and Vandermaelen, 1982). Le taux de décharge des neurones est alors mesuré pendant au moins 2 min permettant de s'assurer de la stabilité du signal électrique.

- Mesure de la sensibilité du récepteur 5-HT1A en réponse à l'administration d'un agoniste de ce récepteur induisant une hypothermie

Ce test repose sur l'induction d'une hypothermie chez l'animal en réponse à l'activation de l'autorécepteur 5-HT1A (Martin et al., 1992; Richardson-Jones et al., 2010). En étudiant la réponse d'un agoniste de ce récepteur, il est possible d'étudier la sensibilité de l'autorécepteur dans différentes conditions expérimentales. Pour cela, la température corporelle des animaux est mesurée entre 9h et 12h du matin avec un thermomètre rectal à microsonde (Ugo Basile, Varese, Italie). Les enregistrements numériques des températures sont obtenus avec une précision de ± 0,1°C. Les températures sont mesurées avant (t_{-10} et t_0 min) et après (t_{30} min) l'administration sous-cutanée (s.c.) de l'agoniste du récepteur 5-HT1A 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tétraline (8-OH-DPAT, Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) injecté à la dose de 100 µg/mg. Cette dose a été choisie sur la base d'un premier rapport montrant sa capacité à induire une hypothermie et également sur des expériences électrophysiologiques dans lesquelles cette dose inhibe complètement le taux de décharge des neurones 5-HT (Rainer et al., 2012). Dans ce test, les données sont présentées en pourcentage de diminution de la température corporelle après l'administration de 8-OH-DPAT par rapport à la température obtenue à t0.

7. Évaluation du phénotype de type pseudo-dépressif des souris

Lors des tests comportementaux, les souris sont sorties de leur pièce d'hébergement dès le début de la période éclairée (≈ 8h du matin) et sont placées dans la pièce d'expérimentation. Une acclimatation de 45min est respectée avant chaque expérience. Les pièces d'expérimentation sont maintenues à une température standard de 22°C ± 2°C et un éclairage de 25 lux. L'ensemble des tests est représenté sur la Figure 16.

- **Tests mesurant l'anxiété**

- Le Labyrinthe en croix surélevé (ou « Elevated-plus maze », EPM)

Ce test est basé sur l'anxiété naturelle des rongeurs envers les espaces ouverts. Le labyrinthe consiste en une croix avec deux bras fermés et deux bras ouverts (30 x 10 x 20 cm) qui partent d'une plateforme centrale (10 x 10), située à 50 cm du sol. Au début, les souris sont placées au centre de la

plate-forme et sont libres d'explorer le dispositif pendant 5 minutes. Le temps passé dans les bras fermés et dans les bras ouverts est mesuré manuellement à l'aide du logiciel Ethoc (CRCA). Le nombre d'entrées dans chaque bras est également mesuré. Le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts est calculé (en décomptant le temps passé sur la plateforme centrale). Ainsi, plus la souris passe du temps dans les bras ouverts, moins elle est considérée anxieuse, et inversement. Le labyrinthe est nettoyé entre chaque souris à l'aide d'une solution d'éthanol à 30%.

- Le test de champ ouvert (ou « Open Field », OF)

Le test de champs ouvert est réalisé dans une arène rectangulaire opaque (40x40x20 cm) et éclairée par une lumière blanche (30 lux). La souris est placée au centre de l'arène où elle est libre d'explorer l'environnement durant 10 minutes. L'expérience est filmée par une caméra puis analysée par un logiciel de tracking (Ethovision, Noldus Tech, Nederlands). L'arène est fictivement divisée en deux compartiments : un compartiment central circulaire et un compartiment périphérique bordant le périmètre de l'arène. Le centre de l'arène représente la zone la plus anxiogène pour l'animal. La durée totale et le nombre d'entrées dans la partie centrale de l'arène ainsi que la distance parcourue sont mesurés, afin de s'assurer de l'absence d'effet locomoteur des différents traitements. Dans ce test, plus le temps et/ou le nombre d'entrées au centre augmente, moins la souris est considérée comme anxieuse, et inversement. Le dispositif est nettoyé entre chaque souris à l'aide d'une solution d'éthanol à 30%.

- Tests mesurant résignation

- Le test de suspension caudale (ou « Tail suspension test », TST)

Le test de suspension par la queue évalue le degré de résignation de l'animal. Ce test est couramment utilisé pour dépister l'effet antidépresseur des stratégies thérapeutiques testés mais différentes études montrent également son intérêt pour détecter un état pseudo-dépressif. La souris est suspendue par la queue à l'aide de ruban adhésif, à un crochet situé dans une boite ouverte. Le temps total d'immobilité de l'animal est mesuré à l'aide du logiciel Ethoc pendant 6 minutes. Du fait de la situation inconfortable dans laquelle est placée la souris, plus celle-ci reste immobile, plus elle sera considérée comme résignée. Réciproquement, si une souris se débat pour tenter d'échapper à cette situation, elle sera considérée comme moins résignée (Steru et al., 1985).

- Le test de nage forcée (ou « Forced swim test, FST)

Le test de nage forcée est également un test de résignation permettant de détecter l'activité de type antidépresseur d'agents pharmacologiques (Porsolt et al., 1977). Comme pour le TST, les souris sont placées dans une situation inconfortable et sans issue. Ici chaque souris est placée, pendant 6 minutes, dans un bécher transparent (20 cm de diamètre et de 23 cm de profondeur), rempli aux deux tiers d'eau à 24°C±2°C. Le temps d'immobilité est calculé sur les 4 dernières minutes du test. Dans le FST, plus une souris est immobile (« flottaison »), plus elle est considérée comme résignée. Au contraire, une souris qui tente d'échapper à la situation stressante (comportements de nage active et tentatives d'escalade « climbing » sur les parois du bécher), sera considérée comme moins résignée.

- Test mixte d'anxiété/dépression

- Le test d'alimentation supprimée par la nouveauté (ou « novelty suppressed feeding test », NSF)

Dans ce test, la souris est placée dans une situation de conflit entre la faim et la peur de s'aventurer dans un environnement anxiogène. La particularité de ce test est qu'il permet de mettre en évidence à la fois les effets des anxiolytiques et antidépresseurs (Guilloux et al., 2013). Le dispositif utilisé est une arène rectangulaire en plastique transparent (30x60 cm), contenant en son centre une croquette déposée sur un cercle de papier blanc réfléchissant, et éclairé par une lumière intense (60 W) placée à environ 60-80 cm au-dessus, afin de renforcer le caractère anxiogène du centre de l'arène. Préalablement (24h) au test, les souris sont privées de nourriture et placées dans de nouvelles cages d'élevage (qui serviront après le test, à mesurer l'alimentation en environnement naturel). Pour le test, les souris sont placées dans le coin de l'arène et la latence à aller se nourrir est mesurée manuellement, avec un « cut-off » établi à 10 minutes. Ainsi, une augmentation de la latence à aller se nourrir au centre du dispositif traduit une augmentation de l'anxiété et du comportement pseudo-dépressif de la souris. A l'issue du test, les souris sont replacées individuellement dans leur cage d'origine où elles ont libre accès à une nouvelle croquette dont le poids est connu. Pendant 5 min, la latence à aller et la quantité totale de nourriture ingérée se nourrir sont mesurées, pour évaluer si les conditions expérimentales ont influencé le comportement de faim des souris.

- Test mesurant l'incurie

- Le test d'éclaboussure (ou « Splash test », ST)

Le test d'éclaboussure (ST) mesure le temps de toilettage d'une souris en réponse au souillage de son pelage. Lors de ce test, une solution de saccharose 10% est vaporisée sur le dos de l'animal qui hébergée seule dans une cage. Ensuite, la latence du premier toilettage, le nombre de toilettages ainsi

que la durée totale de toilettage (6 min) sont mesurés manuellement comme indices d'incurie. Ainsi, une diminution du temps de toilettage traduira un comportement d'incurie.

- Test mesurant l'anhédonie

- Le test de préférence au sucrose (ou « Sucrose Preference Test », SPT)

Ce test permet de mesurer l'anhédonie des animaux et d'évaluer si le système limbique, notamment la voie mésolimbique, est altérée. Les animaux normaux montrent une préférence naturelle pour l'aliment/solution appétant (ici le test est basé sur une solution sucrée). Cette préférence naturelle est significativement réduite chez les animaux anhédoniques. Lors de ce test, les souris sont placées dans des cages individuelles et habituées pendant une semaine à s'hydrater à l'aide de deux biberons d'eau. La consommation d'eau est mesurée pour s'assurer de l'absence de préférence pour l'un ou l'autre des biberons (habituellement situés à droite dans les cages collectives). Ensuite, la préférence pour le saccharose est évaluée. Pour cela, un biberon d'eau (choix aléatoire) est remplacé par un biberon contenant une solution de saccharose (1%), l'autre biberon contient de l'eau. Au début de l'expérience les deux biberons contiennent des quantités identiques de liquide. 24h plus tard, la consommation d'eau et de saccharose sont comparées et la préférence pour le saccharose est calculée en pourcentage selon la formule : [(Consommation de saccharose/Consommation totale) X 100].

- Tests de mémoire

- Test de mémoire sociale – test des 3 chambres (ou « Recognition Social test »)

Le paradigme du test des 3 chambres se déroule en deux phases. D'abord le test de sociabilité qui repose sur la préférence naturelle des souris à interagir avec leurs congénères. Ensuite le test de reconnaissance sociale, qui utilise l'attrait des souris pour la nouveauté, ici un individu jamais rencontré. Ce test évalue la capacité des souris à discriminer un individu familier, d'un individu nouveau. Le dispositif expérimental est une arène rectangulaire transparente (plexiglas, 60 x 40cm), composée de trois chambres de taille égale, séparées par deux parois comprenant chacune une ouverture laissant passer une souris. Un cylindre à barreaux (8cm x 16cm) est disposé dans chacune des chambres latérales du dispositif.

A chaque phase du test, la souris est placée à dans la chambre centrale et peut explorer librement les 3 chambres du dispositif, durant 10 minutes. Pendant la phase d'habituation (jour1), la souris se familiarise avec le dispositif vide. Le temps passé dans chaque compartiment est mesuré à l'aide d'un

logiciel de tracking (Ethovision) et permet de s'assurer d'une absence de préférence de place. Si une souris présente une préférence innée pour un côté du dispositif, alors la souris familière sera présentée du côté opposé au compartiment préféré lors du test. Le jour suivant (jour 2), on réalise le test de sociabilité. Une souris familière (de la même cage) est placée dans un des deux cylindres à barreaux, alors que l'autre reste vide. Le temps d'interaction avec les deux cylindres est mesuré. Le temps d'interaction est comptabilisé lorsque la souris est orientée vers le cylindre à barreaux et située au minimum à 1 cm de celui-ci. En revanche, si la souris escalade le cylindre à barreaux, ceci n'est pas considéré comme une interaction. Une souris ne présentant pas de trouble de la sociabilité montrera une préférence pour la cage contenant la souris familière. Le lendemain (jour 3), les souris sont soumises au test de reconnaissance sociale qui mesure la capacité des souris à discriminer un individu familier, d'un individu nouveau. Le même dispositif est utilisé mais cette fois, un cylindre contient une souris familière et l'autre contient une nouvelle souris jamais rencontrée. Pendant 10 minutes, le temps d'interaction avec les souris familière et nouvelle est mesuré avec le logiciel Ethovision pendant 10 min. Le pourcentage de temps d'interaction avec chaque individu familier ou nouveau est calculé par rapport au temps d'interaction total. Une souris capable de distinguer un congénère familier d'un individu nouveau interagira préférentiellement avec l'individu inconnu.

- Test de localisation d'objet (ou « Object Location test », OL)

Ce test repose sur la préférence spontanée des rongeurs pour la nouveauté et leur capacité à se souvenir de l'emplacement d'objets précédemment rencontrés (Ennaceur et al., 1997). Il permet d'évaluer la mémoire spatiale hippocampo-dépendante.

Le dispositif expérimental est constitué d'une arène cylindrique opaque (40 cm de diamètre) contenant un indice visuel proximal. Le test se déroule en 3 sessions de 10 minutes chacune. Le premier jour, les souris sont introduites au centre de l'arène et libres de l'explorer. Le jour suivant, deux objets identiques (angle métallique de 10 cm de reposant sur un socle en PVC) sont placés dans l'arène et le temps passé à explorer chacun des deux objets est mesuré manuellement (Ethoc). L'index de préférence est calculé en divisant le temps d'exploration d'un objet, par le temps total d'exploration des deux objets. Si une préférence (score supérieur à 60%) pour un des objets est observée à ce stade, alors l'objet le moins exploré sera déplacé le jour suivant. Si aucune préférence n'est observée, alors l'objet déplacé est choisi de façon pseudo-aléatoire. Entre chaque souris, les objets et le dispositif sont nettoyés avec une solution d'éthanol à 30%. La mémoire spatiale est testée le 3ème jour (24h après la présentation des objets) lorsque l'un des deux objets est déplacé. L'index de préférence exploratoire est calculé par le rapport entre le temps d'exploration de l'objet déplacé par rapport au temps total d'exploration des deux objets pendant le test. Une souris ayant mémorisé

l'emplacement de l'objet au jour 2 explorera préférentiellement l'objet déplacé. Au contraire, l'absence de préférence pour l'objet déplacé (index de préférence non différent de 50%), traduira un déficit de mémoire spatiale.

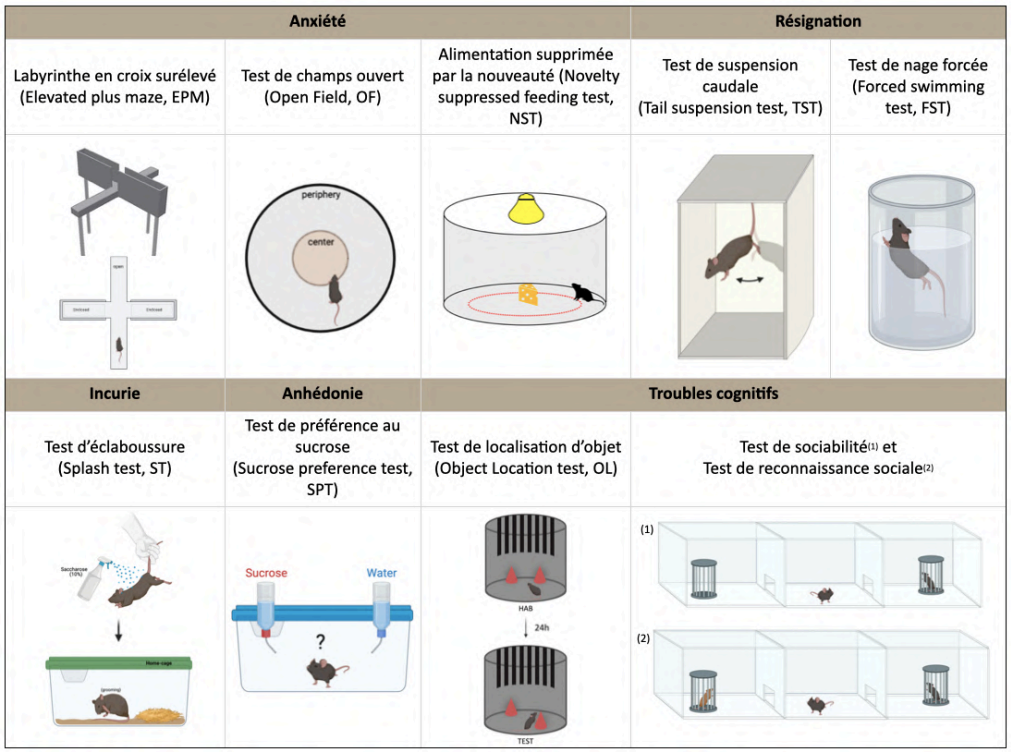


Figure 16. Schémas des dispositifs et tests utilisés au cours de mes travaux de thèse

- Calcul des z-scores Émotionnel et Cognitif

Afin d'intégrer les performances de chaque animal au regard des différents tests comportementaux réalisés, des z-scores sont calculés. Le z-score permet ainsi de comparer les performances comportementales globales des groupes expérimentaux et du groupe contrôle et réduit la variabilité intrinsèque de chaque test (Guilloux et al., 2011). Pour calculer le z-score d'un individu, chaque paramètre comportemental est normalisé à la moyenne du groupe contrôle, puis divisé par l'écart-type du groupe contrôle pour ce paramètre. Cela permet d'obtenir pour chaque souris, un score pour chaque paramètre de chaque test comportemental. Afin d'évaluer au mieux le phénotype anxio-dépressif des souris exposées à la CORT (modèle murin de dépression), les tests pour lesquels les souris exposées à la CORT présentent une altération par rapport au groupe contrôle sont sélectionnées. Le signe de chaque paramètre est ajusté afin qu'un score négatif reflète une amélioration du paramètre par rapport au groupe contrôle, et qu'à l'inverse, un score positif représente une détérioration de celui-ci. Afin d'attribuer le même poids à chacun des tests comportementaux, un seul paramètre par test est inclus dans le calcul. Les résultats obtenus sont

ensuite ségrégés selon la composante émotionnelle ou cognitive des tests réalisés permettant l'obtention de deux z-scores distincts (décrit dans la partie résultats). La batterie de tests comportementaux s'étalait sur 2 semaines *(pour les parties 1 et 2 des résultats)* selon un ordre précis.

Semaine 1	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
	EPM	OL	OL	OL	TST		
Semaine 2	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
	Social	Social	Social	ST	NSF		

Tableau 7. Tableau de l'organisation des batteries de tests réalisées pour l'obtention des z-scores

8. Analyses cellulaires et moléculaires

- Perfusion intracardiaque

À la fin des expériences de comportement, les souris sont sacrifiées, leur cerveau est prélevé pour procéder à des marquages immunohistochimiques. Les souris sont anesthésiées avec une dose létale de Doléthal (150 mg/kg ; i.p.) puis perfusées en intracardiaque avec une solution osmotique de chlorure de sodium (NaCl 0.9%) à froid (4°C) délivrée pendant 60 secondes, à une vitesse de 16 ml/min, permettant ainsi une exsanguination et un lavage du cerveau. Le cerveau est ensuite prélevé.

- Préparation des tissus

Après la perfusion, les cerveaux sont disséqués en hémisphères droit et gauche. Pour l'immunochimie, un hémi-cerveau par souris est post-fixé dans une solution de paraformaldéhyde (PFA) 4% diluée dans du tampon phosphate (PB) 0.1M à 4°C pendant 48 heures avant d'être stocké dans une solution de saccharose à 30 % et d'azide de sodium 0,1%. Des coupes frontales de 30 µm d'épaisseur sont ensuite réalisées sur toute l'étendue rostro-caudale de l'hippocampe, à l'aide d'un microtome (Leica SM2010R). Les coupes sont récoltées de façon sérielle dans 12 tubes contenant une solution cryoprotectrice (PB 0.1M, 30% éthylène glycol et 30% glycérol) permettant leur conservation à -20°C.

Il est à noter que dans les Parties 2 & 3 des résultats, les cerveaux ont uniquement servi à l'étude immunohistochimique, et n'ont donc pas été partagé en deux hémisphères.

L'autre hémi-cerveau est utilisé pour disséquer l'hippocampe, qui est placé dans des tubes plongés dans l'azote liquide et stockés en vue de quantifier les métalloprotéases matricielle (MMP) par ELISA.

- Quantification protéique : Dosage ELISA des MMP-9

Les tissus hippocampiques prélevés subissent une lyse chimique. Pour cela, ils sont immergés dans 300µL d'une solution tampon d'immunoprécipitation (RIPA - Thermo Scientific, 89901). Les lysats sont ensuite soniqués puis centrifugés et le surnageant obtenu est conservé pour l'analyse des protéines. La concentration en protéine Pro-MMP9 dans les lysats hippocampiques est mesurée par ELISA, réalisé selon le protocole du fabricant du kit (Mouse Pro-MMP-9, R&D systems, numéro de catalogue MMP900B).

- Immunohistochimies

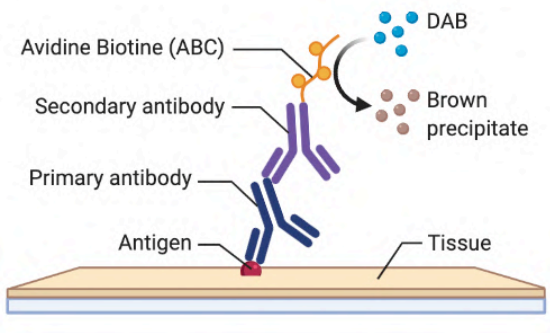


Figure 17 Principe immunohistochimie visible. L'antigène est reconnu par l'anticorps primaire qui se fixe sur lui. L'anticorps secondaire biotinylé dirigé contre l'espèce dans laquelle les anticorps primaires ont été conçus se fixe sur le primaire. Le complexe Avidine Biotine (ABC) portant la Peroxydase du Raifort (HRP) se lie alors aux molécules de biotine pour amplifier le signal. Le peroxyde d'hydrogène, au contact de la HRP, induit la formation d'un précipité foncé de diaminobenzidine (DAB), marquant ainsi l'emplacement de l'antigène (cellule entière, dendrites ou noyaux).

- Mesure de la survie cellulaire

- Principe et injection du BrdU

Afin de visualiser le devenir des cellules nouvellement formées dans le gyrus denté de l'hippocampe, les animaux reçoivent des injections intra-péritonéales (i.p.) d'une solution contenant le 5'-bromo-2 deoxyuridine (BrdU) dilué dans une solution saline (0,9% de chlorure de sodium) (Sigma Aldrich, 10mg/ml, pH=7,4). Le BrdU est un analogue de la thymidine capable de s'incorporer dans l'ADN des cellules en division lors de la phase S du cycle cellulaire, qui correspond à la réplication de l'ADN. Les injections de BrdU sont réalisées à une dose de 100mg/kg. Pour l'étude de la survie, on réalise 2 injections espacées de 5h, pendant 4 jours pour marquer une grande population de cellules en prolifération et suivre leur devenir à différents délais (3 semaines et 7 semaines selon les protocoles

décrits dans la partie 2 des résultats). Les noyaux des cellules nouvellement formées incorporent le BrdU et sont ensuite révélés par immunohistochimie.

- Protocole d'immunohistochimie du BrdU

o Jour 1

Des séries de 1/6 coupes flottantes sont longuement rincées dans du PBS contenant du Triton-X-100 (0.25%). Entre chaque incubation, les coupes sont rincées 2x15min dans le PBST. Toutes les étapes se déroulent sous agitation à température ambiante. Les coupes flottantes sont placées 15min dans une solution de PBST contenant du méthanol (10%) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2 à 3%) afin d'inhiber l'activité des peroxydases endogènes. Après un rinçage, l'ADN est dénaturé pour favoriser l'accès de l'anticorps aux sites antigéniques. Pour cela les coupes sont immergées dans une solution d'HCl (2N) pendant 50 min, puis rincées 15 et 5 min dans une solution d'acide borique à 0.1M (pH=8,5). Les coupes sont ensuite pré-incubées 1h dans une solution de PBST contenant 0,1% d'azide et 5% de sérum de chèvre (PBST-azide-NGS 5%) afin de saturer les sites antigéniques non spécifiques. Les coupes sont enfin incubées une nuit dans une solution de PBST-azide-NGS5% contenant l'anticorps monoclonal de rat anti-BrdU (1/400, OBTOO30, Biorad).

o Jour 2

Après les rinçages, les coupes sont incubées 90 min dans une solution de PBST contenant l'anticorps secondaire polyclonal biotinylé de chèvre dirigé contre les IgGs de rat (1/400, BA9400 Vector), puis 90 min dans une solution d'Avidine-Biotine (1/400, ABC Vector). Après rinçages, Le marquage est révélé par la 3,3 diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB, kit Vector) en présence de l'H2O2 et de Nickel, qui donne une coloration noire aux cellules ou noyaux immuno-positifs. La réaction enzymatique est contrôlée sous microscope puis stoppée lorsque le rapport signal/bruit de fond est jugé optimal, à l'aide de rinçages dans une solution de PBST-azide (0,1%). Ensuite les coupes sont montées sur des lames gélatinées suivant l'axe rostro-caudal, puis laissées à sécher pendant 48h à température ambiante.

o Jour 5

Les lames histologiques sont successivement immergées dans les solutions suivantes :

- 1x 5 min dans l'H_2O pour éliminer les sels,

- 1 x 5 min dans du Nuclar Fast Red (Vector) permettant une meilleure visualisation des structures d'intérêt

- 2 x 5 min dans l'H_2O pour laver l'excédent de colorant

- 5 x 5min dans des bains d'éthanol de concentration croissante de 50% à 100% afin de déshydrater les tissus

- 10min dans un bain contenant du toluène puis une lamelle est collée sur les lames avec une colle de montage (Eukitt) en prenant soin de chasser les bulles d'air.

- Étude de la prolifération cellulaire

- Principe

Afin de visualiser les cellules prolifératives nous aurions pu utiliser le BrdU. Cependant ce marquage a été utilisé pour l'analyse de la survie. C'est pourquoi nous avons utilisé sur les mêmes tissus le marqueur endogène de prolifération Ki67 qui est une protéine nucléaire exprimée pendant le cycle cellulaire. La présence de Ki67 peut être détectée par immunohistochimie afin de voir l'état de la prolifération cellulaire au moment du sacrifice des animaux.

- Protocole d'Immunohistochimie du Ki67

o Jour 1

Les étapes préliminaires sont identiques à celles décrites précédemment (hormis l'étape de dénaturation de l'ADN avec le HCl et le rinçage au borate). Les coupes sont incubées une nuit dans une solution de PBST-azide-NGS 5% contenant l'anticorps monoclonal de lapin anti-Ki67 (1/500, M3062 SP6, Eurobio).

o Jour 2

Le lendemain, les coupes sont incubées 120 min dans du PBST contenant l'anticorps secondaire polyclonal biotinylé de chèvre dirigé contre les IgGs de lapin (1/500, BA1000 Vector), puis 60 min dans une solution d'avidine-biotine (1/200, ABC Vector). Le marquage est révélé avec la DAB (Vector), et la réaction est stoppée à l'aide d'une solution de PBST-Azide. Les coupes sont ensuite montées et préparées comme décrit pour le BrdU.

- Étude de la maturation des nouveaux neurones

- Principe

Afin d'étudier l'état de maturation des cellules engagées dans la lignée neuronale nous avons utilisé l'expression de la doublecortine « DCX ». Les nouveaux neurones commencent à exprimer la DCX

pendant qu'ils se divisent activement (dans la zone sous granulaire du gyrus denté), pendant 2 à 3 semaines lorsque les cellules deviennent des neurones. L'expression de DCX a lieu lorsque ces cellules commencent à exprimer NeuN, un marqueur des neurones matures. Du fait de son profil d'expression la DCX reflète la différenciation neuronale et l'état de maturation des nouveaux neurones.

- Protocole d'Immunohistochimie de la DCX

o Jour 1

Des séries de 1/12 coupes flottantes sont rincées dans du PBST et placées 15min dans une solution de PBST contenant du méthanol (10%) et du peroxyde d'hydrogène (H2O2 à 3%). Ensuite une étape de démasquage est effectuée facilitant ainsi l'accès des anticorps primaires et secondaires aux épitopes antigéniques. Pour cela, les coupes flottantes sont incubées dans une solution de d'H_20 contenant 10 mM de citrate de sodium pH 6 + 0,05% de Tween 20 pendant 10 minutes à 100°C. Les coupes sont ensuite pré-incubées pendant 2h30 dans une solution de PBST contenant 5% de sérum de chèvre (PBST-azide-NGS 5%) puis incubées une nuit dans cette solution contenant l'anticorps polyclonal de lapin anti-DCX (DCX ; 1/500 ; 326003 Synaptic Systems).

o Jour 2

Après rinçage, les coupes sont incubées 120 min en présence de l'anticorps de chèvre Alexa Fluor 488 anti-Rabbit dans du PBST (1/1000 ; A-11008, Invitrogen) à l'abri de la lumière. Puis après lavage, elles sont montées sur des lames Superfrost, et recouvertes avec du Mowiol contenant du Hoechst permettant le marquage des noyaux des cellules (1/10 000).

- **Étude de la plasticité des interneurones hippocampiques**

- Principe

Afin d'étudier les interneurones Parvalbumine de l'hippocampe nous avons utilisé un anticorps de chèvre anti-PV pour marquer les interneurones exprimant la Parvalbumine, protéine fixant le calcium et présente au sein de cette sous population d'interneurones inhibiteurs. Nous avons aussi utilisé la lectine Wisteria Floribunda Agglutinin (WFA) biotinylée pour marquer les PNNs exprimés présents autour des interneurones PV.

- Protocole

o Jour 1

Les coupes flottantes sont placées 15 min dans une solution de PBST contenant du méthanol (10%) et de l'H2O2 (3%). Après lavage, les coupes sont pré-incubées 1h dans une solution de PBST contenant 10% de sérum d'âne (PBST-NDS 10%) avant d'être incubées une nuit dans une solution contenant des anticorps polyclonaux de lapin anti-PV (dilution 1/2500, PVG213, Swant) et de la Lectine WFA biotinylée (dilution 1/1000, L1516, Sigma) dans cette même solution.

- Jour 2

Le lendemain, les coupes sont incubées à l'abri de la lumière pendant 90 min en présence d'anticorps fluorescent dirigé contre la chèvre (Alexa Fluor 488 anti-Goat, 1/250, A11055 Molecular Probes) et de la Streptavidine couplée à la tetramethylrhodamine (TRITC, 1/500, SA-5549, Vector) dans du PBST. Après lavage, les coupes sont montées sur des lames Superfrost, et recouvertes avec du Mowiol contenant du Hoechst (1/10 000).

- **Analyse des résultats**

- Quantification : Noyaux BrdU+ et cellules Ki67+

La quantification des cellules ou noyaux immunomarqués est réalisée sur un échantillon stéréologique d'une coupe sur six (espacées de 180µm) au niveau du gyrus denté. Les cellules/noyaux immunopositifs sont comptés au microscope (Leica DM6000B, Allemagne) équipé d'une platine motorisée et d'une caméra (Jenoptik) en utilisant l'objectif x40. Pour chaque coupe, la surface des deux gyri dentés droit et gauche est délimitée à l'aide du logiciel Mercator (ExploraNova, La Rochelle France) à l'objectif x10 grâce aux repères anatomiques fournis par la contre-coloration nucléaire au Nuclear Fast Red et par l'atlas de cerveau de souris (George Paxinos and Keith B.J. Franklin, 2019). La densité de cellules par surface de tissu est obtenue en divisant le nombre total de cellules comptées par chaque volume de coupes correspondantes

- Quantification en microscopie à fluorescence des cellules DCX+

Les quantifications des cellules immunoréactives à la DCX (DCX+) sont effectuées sur des séries de 1 coupe sur 12 (espacées de 360 µm) couvrant l'extension rostro-caudale du DG bilatéralement. Le comptage et l'analyse des surfaces est effectué comme décrit au-dessus. Une analyse fine selon les couches qui composent le DG a été réalisée afin de distinguer les cellules situées dans la couche sous granulaire des neurones immatures plus âgés ayant migré dans la couche granulaire. La densité de cellules par surface de tissu est obtenue en divisant le nombre total de cellules comptées par le volume de la coupe.

- Quantification du nombre d'interneurones PV et de leurs PNN

Nous avons quantifié le nombre d'interneurones PV immunomarqués (cellules PV+) et d'interneurones PV+ entourés de PNN (PV+/PNN+) sur un échantillon stéréologique d'une coupe sur six (espacées de 180µm). Après avoir tracé le contour des aires d'intérêt (CA1, CA2 et CA3) et compté les neurones positifs aux différents marquages, la densité de cellules par volume d'aire d'intérêt est obtenue en divisant le nombre de cellules comptées par le volume de l'aire échantillonnée. La densité des cellules PV+ et des cellules PV+ entourées de PNN (PV+/PNN+) est alors calculée pour chaque coupe afin d'obtenir le pourcentage de cellules PV+ co-exprimant des PNN+ pour chacune des aires.

9. Analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques a été réalisé à l'aide du logiciel GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, San Diego, USA). Pour l'ensemble des analyses, le risque alpha est fixé à 5% et la distribution normale des échantillons est déterminée à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk avec un intervalle de confiance de 95%.

- Selon la distribution, des tests paramétriques (test de Student ou « t-test) ou non paramétriques (Mann-Whitney) ont été réalisés pour comparer deux échantillons.
- Pour comparer un échantillon à une valeur théorique, un t-test à un échantillon est utilisé. C'est notamment le cas pour évaluer un effet par rapport au niveau de chance (fixé à 50%) dans les tests de localisation d'objet, de reconnaissance sociale ou de préférence pour le sucrose.
- Pour comparer plus de deux échantillons, la distribution Normale et l'égalité des variances (homoscédasticité) sont évaluées puis des tests paramétriques, des ANOVA à un facteur ont été réalisées. Lorsque les résultats des ANOVA montraient des différences significatives entre échantillons, des analyses *post-hoc* été réalisées en utilisant un test de Tukey (comparaison 2 à 2 de chaque paire d'échantillons).
- Pour comparer plus de deux échantillons avec deux facteurs de variabilité (tel que dans les expériences de microdialyse intracérébrale), la distribution normale des échantillons est vérifiée ainsi que l'homoscédasticité, puis des ANOVA à deux facteurs sont faites suivies d'une analyse *post-hoc* (test de Tukey) selon la significativité de l'ANOVA à deux facteurs.

Pour chaque résultat, les différences statistiques sont représentées sur les graphes correspondants.

RÉSULTATS

PARTIE 1 : L'EXPOSITION À UN ENVIRONNEMENT ENRICHIE RÉDUIT LE DÉLAI D'ACTION DES ANTIDÉPRESSEURS : MISE EN ÉVIDENCE DU RÔLE DES INTERNEURONES À PARVALBUMINE

RÉSUMÉ DES TRAVAUX DE THÈSE

Chapitre 1 : L'exposition à un environnement enrichi réduit le délai d'action de la venlafaxine dans un modèle murin de dépression

- Le long délai d'action des *antidépresseurs (4 à 6 semaines) est une limite majeure des traitements antidépresseurs pharmacologiques actuellement disponibles*
- *Les stratégies non pharmacologiques possèdent des effets bénéfiques sur dépression majeure*
- *L'effet d'un traitement antidépresseur pharmacologique associé à une stratégie non pharmacologique tel que l'environnement enrichi a été très peu étudié en ce qui concerne le délai d'action*
- *Huit semaines de traitement par Venlafaxine sont nécessaires pour observer une amélioration du phénotype pseudo-dépressif chez des souris modèles de dépression*
- *Lorsque ces souris sont exposées à un environnement stimulant, les effets bénéfiques de la Venlafaxine sont observés après seulement 2 semaines de traitement*
- *Les améliorations comportementales observées s'accompagnent d'une régulation de la population des interneurones GABAergiques à Parvalbumine entourés matrice extracellulaire dans l'hippocampe*

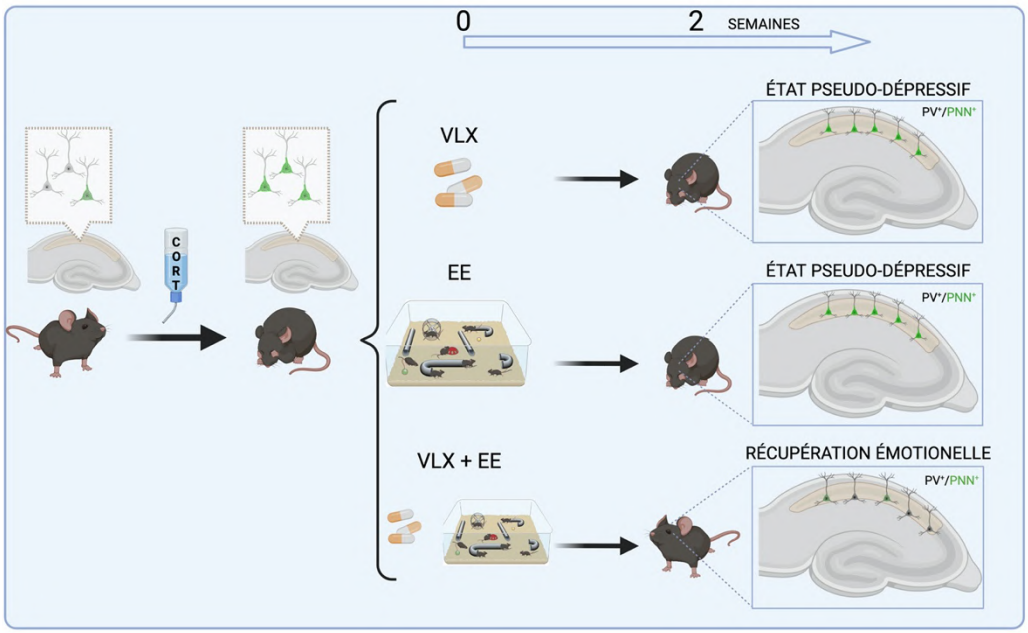


Figure 18. Résumé graphique de l'article 1.

ARTICLE 1 : « La manipulation de la matrice péri-neuronale entourant les interneurones GABAergiques de l'hippocampe améliore le délai d'action des antidépresseurs »

Basile Coutens[(1)], Guillaume Bouisset[(1)], Laure Verret[(1)], Claire Rampon[(1)*], Bruno Guiard[(1)*]

[(1)] Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA), Centre de Biologie Intégrative (CBI), CNRS UMR5169, Toulouse, France

Ce papier est en cours de soumission.

Résumé

Les troubles de l'humeur sont associés à un dérèglement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et à une altération de l'équilibre excitateur/inhibiteur dans les régions du cerveau impliquées dans la physiopathologie de la dépression, comme l'hippocampe. Si les antidépresseurs produisent des effets cliniques bénéfiques, ils ont aussi des limites, notamment leur long délai d'action. Des preuves croissantes suggèrent que des stratégies non pharmacologiques telles que l'environnement enrichi améliorent les effets thérapeutiques chez les patients déprimés ainsi que dans les modèles animaux de la dépression. Cependant, on ne sait pas encore si l'exposition à un environnement enrichi réduit également le délai d'action des antidépresseurs. Nous avons posé cette question en utilisant un modèle murin de dépression basée sur l'exposition chronique à la corticostérone. Les animaux ont été traités par l'antidépresseur venlafaxine seul ou en combinaison avec un environnement enrichi. Nous avons constaté que le phénotype anxio-dépressif induit par la corticostérone était amélioré après seulement deux semaines de traitement par la venlafaxine combinée à un environnement enrichi, alors que les souris traitées par la venlafaxine dans des conditions de logement standard ont montré des signes de rétablissement après une période beaucoup plus longue. Les animaux recevant la venlafaxine combinée à l'environnement enrichi montrent une réduction de leur population de neurones positifs à la Parvalbumine (PV) entouré d'une matrice péri-neuronale (PNN) dans l'hippocampe. De façon intéressante, nous avons montré que la doxycycline, un agent inhibant le remaniement des PNN autour des interneurones PV, empêchait cette amélioration comportementale, tandis que la seule dégradation pharmacologique des PNN hippocampiques raccourcissait le délai d'action de la venlafaxine chez les souris déprimées. Cette étude démontre la capacité des stratégies non pharmacologiques à raccourcir le délai d'action des antidépresseurs et indique que le remaniement des PNN autour des interneurones PV pourrait être un mécanisme cellulaire impliqué dans cet effet. Plus important encore, ces données indiquent que la modulation de l'activité synaptique des interneurones PV et, par conséquent, le déséquilibre excitation/inhibition communément observé dans les troubles psychiatriques, pourrait être une cible pertinente pour l'établissement de nouveaux traitements antidépresseurs.

Manipulating the perineuronal nets surrounding hippocampal GABAergic interneurons improves the onset of action of antidepressants

Basile Coutens[(1)], Guillaume Bouisset[(1)], Laure Verret[(1)], Claire Rampon[(1)*], Bruno Guiard[(1)*]

[(1)] Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA), Centre de Biologie Intégrative (CBI), CNRS UMR5169, Toulouse, France

[(*)] Corresponding authors: claire.rampon@univ-tlse3.fr and bruno.guiard@univ-tlse3.fr; tel +33(0)561556429

Keywords: antidepressant drugs, venlafaxine, enriched environment, perineural nets, hippocampus

Abstract

Mood disorders are associated with a dysregulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and alteration of the excitatory/inhibitory balance in brain regions involved in the physiopathology of depression, such as the hippocampus. While antidepressants produce beneficial clinical effects, they also have limitations including their long delay of action. Growing evidence suggests that non-pharmacological strategies such as environmental enrichment improve therapeutic outcome in depressed patients and animal models of depression. However, whether exposure to enriched environment also reduces the delay of action of antidepressants remains unknown. We investigated this issue using a mouse model of depression. Animals were treated by the antidepressant venlafaxine alone or in combination with enriched housing. We found that the corticosterone-induced anxio-depressive phenotype was improved after only two weeks of venlafaxine treatment combined with an enriched housing, while mice treated with venlafaxine under standard housing conditions showed signs of recovery after a much longer time. Animals given venlafaxine combined with the enriched environment show a reduction in the population of Parvalbumin-positive neurons co-expressing Peri Neuronal Nets (PNN) in the hippocampus. Interestingly, we showed that doxycycline, an agent preventing PNN remodeling, precluded this behavioral improvement, while pharmacological degradation of hippocampal PNN shortened the delay of action of venlafaxine in depressed mice. This study demonstrates the ability of non-pharmacological strategies to shorten the onset of action of antidepressants and indicates that PNN remodeling around PV interneurons could be a cellular mechanism involved in this effect. More importantly, these data indicate that the modulation of the synaptic activity of PV interneurons and, consequently, the excitation/inhibition imbalance commonly observed in psychiatric disorders, could be a relevant target for new antidepressant treatments.

Introduction

Major depressive disorder (MDD) is characterized by a persistent low mood associated with other core symptoms, including suicidal ideation, loss of mental and physical energy, feelings of guilt, anhedonia, anxiety, and cognitive deficits [1]. The most recent data place MDD as the third greatest source of disability worldwide. The therapeutic activity of the first-line treatments for MDD, such as the selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) or the serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs), relies on their ability to increase monoaminergic tone in the brain of depressed patients [2]. Despite their indisputable efficacy, SSRIs and SNRIs suffer from several limitations including a delayed onset of action (4-8 weeks) [3], numerous adverse effects, and a modest efficacy in almost 30% of patients [4]. It is not fully understood why, when brain levels of serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE) increase within hours after administration of an SSRI or SNRI, it takes weeks to see an improvement in behavior. Current hypotheses to explain this delayed clinical response involve pre- and post-synaptic adaptive mechanisms. After an initial increase in intrasynaptic concentrations of neurotransmitters at the presynaptic level, SSRIs and SNRIs produce a progressive downregulation of somatodendritic inhibitory 5-HT_{1A} autoreceptors increasing neuronal firing of 5-HT neurons and neurotransmitter release at the nerve terminals, notably in the hippocampus [5]. Interestingly, the time required for antidepressant drugs to desensitize these 5-HT_{1A} autoreceptors coincides with their onset of action. Long-term changes in gene expression, protein translation, and neuroplasticity were also detected at the post-synaptic level. For instance, it is well known that increased hippocampal 5-HT and/or NE neurotransmissions in response to chronic administration of SSRIs or SNRIs promote BDNF expression [6], which then enhances adult hippocampal neurogenesis [7]. Hence, it appears that a better understanding of the mechanisms underlying the therapeutic action of antidepressant drugs is needed to develop more efficient treatments, including faster-acting strategies.

Recent evidence suggests that a specific form of extracellular matrix, the perineuronal net (PNN), located around fast-spiking GABAergic parvalbumin (PV) interneurons which is experience-dependent [8], contributes to mood regulation and that such form of neuronal plasticity could influence the response to treatment. Accordingly, in rodent models of depression, it has been shown that chronic stress and corticosterone exposure increase

hippocampal levels of PNN [9, 10]. On the contrary, the SSRI fluoxetine or the SNRI venlafaxine administered perinatally or in adulthood, decrease the formation of PNN around the soma and proximal dendrites of fast-spiking PV^+ GABAergic interneurons in the mouse hippocampus [11–13] and cortex [14].

One mechanism by which antidepressant drugs may attenuate PNN is the increased expression of matrix-degrading proteases. Consistent with this hypothesis, repeated administration of the SNRI venlafaxine decreases PNN density in the hippocampus through enhanced expression of metalloproteinase (MMP)-9, one of the most important proteases involved in PNN disruption [12]. The involvement of MMP-9 in the regulation of emotional state is further supported by pharmacological and genetic studies showing that the inactivation of MMP-9 which is thought to increase PNN levels decreases basal anxiety [15], but also despair and sociability in stressed animals [16]. Interestingly, single nucleotide polymorphisms of MMP-9 have been unveiled and are associated with the development of MDD [17, 18], and also with treatment response [19]. In light of these data, it is tempting to speculate that reduced PNN levels may reinstate the neuronal plasticity underpinning the antidepressant response to antidepressant drugs. Therefore, we hypothesized that manipulating this form of plasticity might influence the delay of action of antidepressant drugs. The observation that the fast-acting antidepressant ketamine also reduces PNN levels [20] further supports our hypothesis.

The present study aimed to determine how the extracellular matrix PNN may contribute to the plastic mechanisms that underlie the beneficial action of antidepressants. We first demonstrated that the antidepressant venlafaxine has a long delay of action in a cortisone-induced mouse model of depression. Next, we found that this delay was greatly shortened when venlafaxine was administrated in combination with a non-pharmacological strategy, consisting in exposing mice to a stimulating environment. Then, in order to decipher the cellular mechanisms at play in triggering venlafaxine action, we revealed that reducing hippocampal PNN presence restores plasticity and allows faster action of antidepressant.

Materials and Methods

2.1. Animals

10-week-old male C57Bl/6Rj mice were housed five per cage under standard conditions with a 12h light/dark cycle (light on at 8:00 a.m) and temperature-controlled room. Food and water were available *ad libitum*. All experimental procedures were conducted in accordance with the European directive 2010/63/EU and were approved by the French Ministry of Research and the local ethics committee (APAFIS # 2018100110245946#16913).

The enriched environment (EE) was performed in the Marlau cages (Viewpoint, France) which allow a standardization of the procedures [21]. Housing in Marlau cages provided increased social interactions (12 mice per cage), voluntary physical activity *via* two running wheels, cognitive stimulation through the use of labyrinths which configuration was changed three times a week. Moreover, toys, tunnels, ladders, and toboggans slides were also present in the EE and changed weekly to stimulate exploratory behavior.

2.2. Drugs

To induce a depressive-like phenotype, mice were exposed to corticosterone (Sigma-Aldrich, France, Cat#C2505) dissolved in vehicle (0.45% β-cyclodextrin, Sigma, St Louis, MO) in drinking water for 8 weeks [22], and maintained during experimental procedures. During the last 8 weeks of corticosterone exposure, the SNRI venlafaxine (Sigma-Aldrich, France, Cat#99300-78-4) was dissolved in corticosterone solution and delivered in drinking water at a fixed dose of 16 mg/kg. This dose is effective to promote antidepressant effects [23]. Inhibition of matrix metalloprotease was achieved by feeding mice a diet containing doxycycline. Doxycycline intake was about 5 mg/day per mouse (doxycycline hyclate, Ssniff, Allemagne).

2.3. Behavioral test

Elevated Plus Maze

The maze consists of a cross with two closed arms and two open arms (30 x 10 x 20 cm) that extend from a central platform (10 x 10) elevated 50 cm from the ground. Mice were placed in the center of the platform and the time spent in closed and open arms was recorded for 5 minutes. Results were expressed as a percentage of time spent in the open arms. The maze

was cleaned between each mouse using a 30% ethanol solution to avoid bias due to the olfactory cues.

Object Location

This test is based on the rodents' spontaneous preference for novelty and their ability to remember the location of previously encountered objects [24]. This test evaluates hippocampal-dependent spatial memory. The day before acquisition, the mice were placed for 10 minutes in the empty arena for habituation (50 x 50 cm, 40 cm-high walls with spatial pattern inside). On the next day, two identical objects were placed in the arena, the time spent exploring each of the two objects was recorded manually during 10-minutes. Between each mouse, the objects and the arena were cleaned with a 30% ethanol solution. Spatial memory was tested 24 h later when one of the two objects was moved to a new location. To assess whether the animal noticed the spatial change, the exploratory preference index was calculated as the percentage of time spent exploring the displaced object related to the total exploration time for both objects during the test phase.

Tail suspension Test

The tail suspension test evaluates the degree of resignation and is commonly used to screen antidepressant-like activity in mice [25]. Animals were suspended by the tail in a box containing a hook. During this test, the total immobility time was measured over 6 minutes.

Three-chambers test

The three-chamber paradigm test known as Crawley's sociability and preference for social novelty protocol has been employed. "Sociability" in this case is defined as the propensity to spend time with another mouse, as compared to time spent alone in an identical, but empty, chamber. "Preference for social novelty" is defined as the propensity to spend time with a previously unencountered mouse, rather than with a familiar mouse. Each chamber was 25 x 35 cm and the dividing walls were made from transparent Plexiglas, with an open middle section, allowing free access to each chamber. Two identical, small cylindrical cage (8 cm diameter) were placed inside the apparatus, one in each side chamber. For habituation, empty cylindrical cages were placed in the middle of the right and left the chamber, and the mouse was placed in the center of the middle chamber and allowed to explore the chambers for 10

minutes freely. For sociability, the next day, a familiar mouse was placed inside one cylindrical cage located in one of the side chambers. The duration of direct contact between the subject mouse and the cage housing or not housing the familiar mouse was manually measured for 10 minutes. On the last day, preference for social novelty was evaluated. A familiar mouse was placed inside a cylindrical cage that was in one of the side chambers, and a stranger mouse was placed in a cylindrical cage in the other side chamber. For each mouse, the time of direct contact was manually measured for 10 minutes. The percentage of interaction with the new mouse was calculated as follows: [Time of interaction with the new mouse / (Time of interaction with the familiar mouse – Time of interaction with the new mouse)] X 100.

Splash Test

The splash test was performed for 6 min as previously described [22]. After squirting 200 µL of a 10% saccharose solution on the back of the mice, latency of first grooming and grooming duration was scored manually as an index of self-care.

Novelty Suppress Feeding Test

This test evaluates the aversion of rodents to eat in a stressful environment. The animals were placed under food restriction and weighed 24 hours before testing. Before the test, the animals were weighed again to ensure a weight loss of 10%. Then mice were placed in a squared arena containing food on a white filter paper located at the center of the arena under a bright light (~60 W) hanging about 60–80 cm above the food pellet. Latency to start eating was recorded with a cut-off time of 10 min. To rule out any hunger or motivation bias, each mouse was then placed in its homecage in the presence of a pellet for 5 minutes, during which latency to go to feed and food consumption were measured.

Z -score Evaluation

A z-score was calculated to integrate the performance of each animal across the comprehensive battery of behavioral tests. Details and rationale in animal behavior analysis have been described by Guilloux et al. (2011) [26]. The z-score is used to compare overall behavioral performance between the experimental and control groups. Briefly, for each behavioral measure, an individual Z-score is calculated using the following equation:

$Z = [(X - \mu) / \sigma]$

X represents the individual data for the observed parameter. μ and σ represent the mean and standard deviation for the control group, respectively. Z-score indicates how many standard deviations (SD) observations (X) are above or below the mean of the control group (μ).

Two separate z-scores were established to account for the emotional and cognitive aspects of the behavioral measures. In these z-scores, each test is weighted equally. The data integrated in the emotional z-score includes the following parameters: percentage of time spent in open arms for the EPM, latency to feed for NSF, immobility time in the TST, time of grooming in the splash test. The data integrated in the cognitive z-score includes social novelty during the three-chamber test and preference for the displaced object in the object location test. For the experiments shown in Figures 2 and 3, the control group consisted of the VEH animals. Thus, an increase of Z-scores indicates a deterioration in emotional and cognitive performance compared to the VEH group. For the experiment shown in Figure 4, the control group is composed of CORT animals, so the reduced z-scores represent improved emotional and cognitive performance compared to the CORT group.

2.4. Stereotaxic injection

For PNN degradation by the chondroitinase ABC (ChABC), mice were anesthetized with vetflurane (3%) and placed in a stereotaxic apparatus (Kopf). Lidocaine was applied subcutaneously before surgery, then each mouse received two bilateral injections of 100nL of a solution containing ChABC (50 U/ml, Sigma-Aldrich) or vehicle (PBS 1X) into the area CA1 of the dorsal hippocampus. The following coordinates were used (in mm from bregma): (AP) −1.34, (L) ± 1 and (V) −1.5 and (AP) −2.46, (L) ± 2 and (V) –1.5mm. After recovery in a heated chamber, mice were returned to their home cages where they recovered for two days before behavioral testing.

2.5. Preparation of brain lysates and fixed tissues

At the end of the behavioral experiment, mice were deeply anesthetized with dolethal and perfused with NaCl at room temperature for 1 min while cold NaCl (4°C) was used in the experiment involving doxycycline. Then brains were harvested and dissected into right and left hemispheres. For immunochemistry, hemi-brains were fixed in 4% paraformaldehyde solution

for 48 hours at 4°C and then stored in 30 % sucrose solution with 0.1% sodium azide. For protein quantification by ELISA, hippocampi were dissected from the remaining hemi-brains quickly frozen in liquid nitrogen. Homogenates from hippocampal tissue were prepared by lysis in immunoprecipitated buffer (RIPA - Thermo Scientific, 89901) with protease inhibitor cocktail (P8340-1ML, Sigma-Aldrich). Lysates were sonicated for 10 seconds, placed on ice for 20 min, and centrifuged 15 min at 14,000 rpm at 4 °C. Lysate supernatants were saved for protein analyses. Pro-MMP9 protein concentration in hippocampal lysates was measured by ELISA, performed according to the manufacturer's protocol (Mouse Pro-MMP9, R&D systems, catalogue number MMP900B)

2.6. Immunochemistry

Floating coronal sections (30µm thick) were prepared with a freezing-stage microtome (Leica SM2010R) and stored in cryoprotectant at 20°C until use. For each animal, series of 1-in-6 sections spanning the hippocampus were washed in PBS + 0.25% Triton-X-100 (PBST). Then sections were placed in 3% H_2O_2 and 10% methanol in PBST and washed again in PBST before incubation in blocking solution for one hour (PBST containing 10% normal donkey serum). Finally, sections were incubated in the blocking solution containing biotinylated Wisteria Floribunda Agglutinin (WFA); Sigma L1516; 1:1,000) and Goat anti-PV (Swant PVG 213; 1:2,500) antibodies, overnight at room temperature. The next day, sections were rinsed in PBST and incubated for 90 minutes at room temperature with Donkey anti-Goat Alexa 488 (Molecular Probes, A11055; 1:250) and Streptavidin TRITC (Vector Labs, SA-5549, 1/500). Then sections were mounted onto slides, coverslipped using Mowiol containing Hoechst (1/10,000), and stored at 4 °C. Examination of positively labeled cells was confined to the hippocampus CA1. Quantifications of PV-immunoreactive (PV^+) cells and PV-PNN immunoreactive (PV^+/PNN^+) cells were conducted using a DM6000B fluorescence microscope (Leica, Germany) equipped with a motorized X–Y sensitive stage and a video camera connected to a computerized image analysis system (ExploraNova, France).

2.7. Quantification of PV^+ cells and their associated PNN

The counting of labeled cells was conducted using Mercator v.2 software (ExploraNova) to measure the corresponding hippocampal surface. Densities of immuno-positive cells were

calculated by dividing the number of positive cells by the region of interest (ROI) sectional volume. The densities of PV^+ cells and PV^+ cells enwrapped by PNN (PV^+/PNN^+) were calculated for each section, to obtain the percentage of colocalization of PV^+ co-expressing PNN+ around them for each ROI.

2.8. Statistical analysis

All data were expressed as mean ± standard error of the mean (SEM) unless stated otherwise. Analyses were performed using GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, United States) and compared by t-test, one-way or two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc tests as mentioned in the figure legend. The analyzing statistic difference was indicated in the figure legends. Null hypothesis was rejected when $P < 0.05$.

Results

Long term exposure to CORT induces a depressive-like phenotype in mice

For this study, mice chronically exposed to CORT were used as an animal model of depression. Using a comprehensive battery of tests addressing both emotional and cognitive symptoms of depression, we confirmed that the CORT-exposed mice displayed a depressive-like phenotype in our hands. These symptoms included anxiety, resignation, impairments in self-care, spatial memory and social recognition (Fig. 1 and Supplemental Table 1) compared to non-depressed control mice (Fig. 1B-M). Locomotion was not altered in depressed-like mice (Supplemental Data). Altogether, these findings are in line with previous reports and confirm that chronic exposure to CORT elicits a robust depressive-like phenotype in mice [22, 27].

Long-term treatment with venlafaxine is necessary to induce antidepressant effects

We next aimed to determine the time course of action of the antidepressant venlafaxine (VLX) in the CORT mouse model of depression. Therefore, the behavioral effects of either a short (2 weeks) or a long (8 weeks) period of treatment were evaluated (Fig. 1A).

After 2 weeks of venlafaxine, the performances of CORT-VLX mice, were not different from those of the CORT mice, in any of the emotional or cognitive tests (Fig. 1B, D, F, H and J, L). Specifically, venlafaxine had no effect on anxiety evaluated by the time spent in the anxiogenic open arms of the elevated plus-maze (Fig. 1B). Venlafaxine did not reverse the action of CORT in the novelty suppressed feeding test assessing hyponeophagia, another symptom of anxiety (Fig. 1D). Furthermore, venlafaxine had also no effect on self-care assessed by the time of grooming in the splash test (Fig. 1F). Resignation was assessed in the tail suspension test, and 2 weeks of venlafaxine failed to reverse the depressive traits of CORT mice reflected by increased immobility (Fig. 2H). The cognitive deficits of the CORT mice were also not improved by 2 weeks of venlafaxine, as shown for spatial memory in the object location test (Fig. 1J) and for social recognition in the three-chamber test (Fig. 1L).

Overall, these data indicate that 2-week treatment with venlafaxine does not enable to abolish the depressive-like symptoms in this mouse model of depression. This suggests that a longer treatment with venlafaxine may be necessary to elicit antidepressant-like effects.

To test this idea, behavioral performances of CORT-VLX mice were assess after 8 weeks of treatment with venlafaxine. We found that this long-term treatment abolished the anxiety (Fig.

1C), hyponeophagia (Fig. 1E), resignation and self-care symptoms of depressed mice (Fig. 1G, I). Moreover, 8 weeks of venlafaxine also rescued the spatial (Fig. 1K) and social (Fig. 1M) memory of depressed mice to control levels.

Altogether, our data indicate that the antidepressant-like effects of venlafaxine are observed after 8 but not 2 weeks of treatment. These findings in mice highlight the delayed onset of action of most antidepressant drugs and are consistent with the clinical effects of venlafaxine in depressed patients [28].

Exposure to enriched environment greatly shortens the time to antidepressant action of venlafaxine

Delayed response to antidepressant drug is clearly a limiting factor in the treatment of depression. In an attempt to solve this issue, we investigated whether combining venlafaxine with non-pharmacological approaches would shorten the onset of action of venlafaxine in the CORT mouse model of depression. Cognitive and physical stimulations provided by exposing mice to an enriched environment (EE) have long been shown to exert positive impact on behavior and brain plasticity [29].

We evaluated the impact of 2 and 8 weeks of venlafaxine and EE, alone or in combination, on depressive symptoms in CORT mice (Fig. 2A). Using the same battery of behavioral tasks as in Fig. 1, emotional and cognitive z-scores that integrated all related parameters into a single value (see methods) were calculated for each mouse and standardized to values of the non-depressed control mice.

While there was no effect of treatment factor, housing condition and the interaction between the two main factors revealed statistical differences (Fig. 2B- Supplemental Table 2). Two weeks of venlafaxine or EE alone did not reduce the emotional z-score of depressed mice. In contrast, the combination of both strategies significantly decreased the emotional z-score of treated mice compared to CORT mice. At the cognitive level, only housing condition factor have shown a significant effect. In fact, while 2 weeks of venlafaxine alone failed to improve the cognitive z-score of depressed mice, EE reduced respectively the cognitive deficits observed in CORT-depressed mice treated or not with venlafaxine (Fig. 2C).

As expected, after 8 weeks of venlafaxine, emotional and cognitive impairments of depressed mice were overcome and interestingly, this was also the case after 8 weeks of EE alone or combined with venlafaxine as shown by effect of both factors (treatment and housing condition) and their interaction (Fig. 2D, E). It is noteworthy that all three strategies were

equally effective in decreasing emotional and cognitive z-scores, with no statistical difference found between them.

Overall, our data demonstrate that exposure to EE shortens the time of response to venlafaxine from eight to two weeks especially on emotional alterations. However, the neurobiological substrate underlying these beneficial effects remains to be identified.

The antidepressant action requires the remodeling of extracellular matrix surrounding hippocampal interneurons.

Growing evidence suggests that the extracellular matrix PNN enwrapping PV^+ interneurons participate to antidepressants response by reinstating hippocampal plasticity (for review [30]). We thus sought to determine whether manipulating this form of neuronal plasticity could influence the delay of action of venlafaxine.

First, we examined whether PNN presence was affected by 2 weeks of venlafaxine, alone or combined with EE, in the CORT mouse model of depression (Fig. 3A). We found that CORT exposure enhanced the percentage of PV-labeled (PV^+) cells enveloped by PNN (PV^+/PNN^+ cells) in dorsal CA1 (Fig. 3B – Supplemental Table 3) while the density of PV^+ interneurons did not vary in this region (Supplemental Fig. S1). Of all the treatments, only the combination of VLX and EE for 2 weeks significantly reduced the proportion of PV^+/PNN^+ cells in CA1 compared to depressed mice as revealed by a one-way ANOVA (Fig. 3B). Although venlafaxine or EE alone tended to lower the proportion of PV^+ interneurons enveloped by PNN, this effect did not reach significance (Fig. 3B).

Work by Kwok et al. (2011) [31] suggests that PNN around neurons prevents the formation of new synapses on PV interneurons, and thereby reduces overall hippocampal plasticity. In this context, our data support the idea that the combination of VLX and EE, by allowing the reinstatement of hippocampal plasticity, could contribute to the behavioral recovery of depressed mice.

To investigate this possibility, we asked whether the plasticity mediated by the presence of PNN around PV^+ neurons is required for the rapid antidepressant action of venlafaxine combined with EE, in the CORT mouse model. We hypothesized that preventing the degradation of PNN around PV^+ interneurons in depressed mice treated with VLX and exposed to EE would hinder hippocampal plasticity and block the antidepressant action of this combination. To prevent PNN degradation, we fed the animals a diet containing doxycycline, an inhibitor of the PNN

degradation enzyme matrix metalloprotease 9 (MMP9) [32, 33]concomitantly with venlafaxine administration (Fig. 3C, D).

Using ELISA quantification, we observed that doxycycline tended to reduce hippocampal expression of MMP9, although this effect remained below significance (Supplemental Fig. 2S). Immunochemical analysis of the CA1 region confirmed that the proportion of PV^+/PNN^+ cells in mice receiving the VLX+EE combination was similar to the proportion observed in the previous experiment (around 60%, Fig. 3E, F). Remarkably, and confirming our hypothesis, we found that the action of VLX+EE on PV^+/PNN^+ cells was blocked when PNN degradation was prevented by doxycycline as revealed by t-test comparison (Fig. 3E, F). Altogether these findings suggest that in CORT-depressed mice, VLX+EE treatment reduces PNN expression around PV^+ interneurons, thus restoring hippocampal plasticity.

We next evaluated the behavioral effects of VLX+EE treatment in CORT depressed mice fed a doxycycline-containing diet. In these mice, emotional and cognitive z-scores remained robustly impaired compared to those fed with a standard diet as shown by t-test comparison (Fig. 3G, H). These findings demonstrate that inhibiting PNN degradation by MMP9 with doxycycline prevents behavioral recovery in depressed mice. Collectively, these data show that restricting the plasticity of hippocampal PV^+ interneurons blocks the rapid antidepressant action of VLX+EE combination. They further suggest that rapid antidepressant action of VLX+EE tightly depends on the regulation of the extracellular matrix around hippocampal parvalbumin neurons.

Pharmacological degradation of hippocampal PNN replicates the rapid antidepressant action of VLX+EE treatment

To assess to which extent, hippocampal PNN remodeling is crucial to the rapid action of VLX+EE, we performed intra-hippocampal administrations of the chondroitinase ABC (ChABC), a pharmacological agent that degrades PNN [34]. After only 2 weeks of VLX treatment and just before behavioral testing, ChABC was infused into CORT-depressed mice CA1 region (Fig. 4A, B).

As expected, one-way ANOVA revealed that ChABC massively degraded the PNN at the injection sites, resulting in a significant reduction in the proportion of PV^+ neurons embedded in PNN compared to depressed mice receiving vehicle into the injection sites (Fig. 4C – Table 4). Remarkably, in the presence of ChABC, venlafaxine treatment had no effect on the proportion of PV^+/PNN^+ neurons in CA1 (Fig. 4C). At the behavioral level, emotional and cognitive z-scores

were calculated for each mouse and normalized to the values of CORT-depressed control mice that received intra-hippocampal injection of vehicle. While emotional z-score showed significant effect of the two main factors (pre-treatment and treatment), no significant effect of their interaction was unveiled. With respect to the cognitive z-score only a significant effect of treatment factor was detected. Based on these analyses, we found that ChABC induced an early antidepressant-like effect in the absence of venlafaxine treatment, as evidenced by significantly lower emotional and cognitive z-scores of CORT-ChABC mice compared to CORT-depressed animals (Fig. 4D, E). The same statistical observations were also found among venlafaxine treated mice. Remarkably, among ChABC-injected mice we observed a beneficial effect of venlafaxine regarding emotional recovery of depressed mice (Fig. 4D, E). These results reveal that the restoration of hippocampal plasticity mediated by PNN degradation is one of the neurobiological mechanisms by which the EE shortens the time to antidepressant action of venlafaxine especially on emotional alterations.

Collectively our results demonstrate that antidepressant action can be more rapid when combined with exposure to stimulating environment. Our findings also identify the regulation of the extracellular matrix expression in the hippocampus as a putative molecular mechanism to accelerate the antidepressant response of venlafaxine.

Discussion

Our study shows that the antidepressant-like effects of the SNRI venlafaxine in depressed mice are achieved earlier when this antidepressant is combined with animals' exposure to an enriched environment (EE) providing social, physical, and cognitive stimulations. To decipher the cellular mechanisms underlying the rapid antidepressant effects of venlafaxine combined with EE, we demonstrate that the remodeling of the extracellular matrix PNN located around hippocampal parvalbumin interneurons is a pivotal actor. Indeed, our data provide the proof of concept that if maintaining PNN's integrity hinders the antidepressant-like effects of venlafaxine and EE combination, disruption of PNN in contrast, allows rapid beneficial effects on emotional and cognitive parameters of the depressive state.

The chronic mouse model of CORT exposure was used to induce a robust and persistent depressive-like phenotype associated with cognitive deficits. This animal model allowed us to test the impact of different antidepressant strategies on the time course of behavioral

recovery, assessed by the decrease in symptoms of depression. In depressed patients, it is well established that the first therapeutic benefits of antidepressant drugs often occur only a few weeks after their administration [5]. Similarly, in the CORT mouse model, 4 to 5 weeks are required after initiation of the treatment with the SSRI fluoxetine or SNRI venlafaxine to elicit improvement in behavioral parameters [35, 36]. Using emotional and cognitive z-scores allowing robust phenotyping of animals [26], we show that venlafaxine abolishes CORT-induced behavioral deficits after 8 weeks of treatment, whereas it remains without effect after only 2 weeks. This delay in the onset of therapeutic activity depends on the drug used, rather than the disease. Indeed, this delay was shown to coincide with the time required for SSRIs or SNRIs to desensitize inhibitory somatodendritic 5-HT1A autoreceptors, effectively increasing monoaminergic neurotransmission at nerve terminals, particularly in the hippocampus [37]. Therefore, clinical and preclinical studies have tested pharmacological strategies aimed at potentiating the antidepressant response through the concomitant administration of a 5-HT1A receptor antagonist and antidepressant drugs [38], including very recently venlafaxine [39]. Although non-pharmacological interventions such as exposure to EE have been shown to exert antidepressant-like effects [40], their ability to improve behavioral response to antidepressant drugs has been much less studied. A study in rats reported that the SSRI sertraline exerts anxiolytic-like effects when administered in an EE but not in standard or isolated housing conditions [41]. Similar findings were reported in different models of depression in mouse or rat using the combination of the SSRI fluoxetine and EE [42–45]. Our results are consistent with these findings as they show that 2 weeks of venlafaxine administration combined with EE exposure produces beneficial effects on the emotional z-scores of depressed mice, whereas venlafaxine or EE applied separately fail to do so. As previously reported, the effect of EE is not enhanced by its combination with venlafaxine on cognitive z-score, likely due to its own robust impact on this parameter [46]. Based on our results, we set out to examine the cellular and molecular mechanisms by which EE shortens the onset of action of antidepressants.

PNN are a complex of extracellular matrix molecules that mostly surround the soma and dendrites of GABAergic neurons in various brain regions. PNN are functionally involved in the stabilization of synapses by acting as a physical barrier. They take part in the integration and generation of neuronal electrical activity, thus facilitating the flow of cations across the membrane [47]. PNN have been reported to play a crucial role in hippocampal plasticity and thus, in memory processes [48]. Emerging evidence suggests that PNN also control stress

response and emotional state. Specifically, increased PNN formation is observed in the hippocampus of rodents exposed to CORT [10] or to social defeat [9]. Such increase in PNN in the hippocampus of stressed mice may contribute to reduce hippocampal plasticity and impaired emotional and cognitive abilities.

In agreement with this hypothesis, it has been shown that a 2-week administration of the SNRI venlafaxine reduces PNN immunoreactivity in mice hippocampus [12]. In the present study, while 2 weeks of venlafaxine or 2 weeks of EE do not modify the proportion of PV^+ interneurons enveloped by PNN in CA1, the combination of venlafaxine and EE rescues the population of PV^+/PNN^+ cells in CORT depressed mice. From this data, it is tempting to speculate that PNN attenuation in CA1 may contribute to the rapid antidepressant action of venlafaxine combined with EE. To tackle this issue, we tested the possibility that preventing PNN degradation through the inhibition of metalloproteases (MMPs) could negatively reverberate on the rapid beneficial effects of venlafaxine associated with EE. Therefore, we used the tetracycline antibiotic doxycycline, a pharmacological agent crossing the blood-brain barrier [49], to inhibit MMPs activity [50]. We found that doxycycline prevents the ability of venlafaxine combined with EE to abolish emotional and cognitive symptoms of depression after only 2 weeks of treatment. Although our results are consistent with the observation that the genetic inactivation of MMP9 dampens the behavioral response of venlafaxine [12], we cannot rule out that other molecular or cellular targets of doxycycline were involved in these behavioral effects. In particular, since modulation of gut microbiota is known to influence emotional and cognitive processes [51], we implemented another approach to confirm our hypothesis. Given that our results suggest that delayed antidepressant response might result from the formation of PNN in the hippocampus, we hypothesized that PNN digestion by chondroitinase (ChABC) might, instead, mimic the behavioral effects of venlafaxine combined with EE. We thus sought to determine whether injecting ChABC into CA1 would elicit behavioral recovery. After showing that intra-hippocampal ChABC effectively reduced the presence of PNN locally, we evaluated its behavioral effects. Remarkably, the sole administration of ChABC induced rapid neurobehavioral effects, as evidenced by its ability to improve emotional and cognitive profiles of CORT-depressed mice. Interestingly, ChABC also exerted an additive beneficial effect to venlafaxine on emotional recovery in CORT-depressed mice. It is noteworthy that ChABC did not exerts such beneficial effects on the cognitive z-score. Although the reasons of such a dissociation remains unknown, the site of injection can be detrimental in the reported effects.

Our cognitive z-score includes social memory, a behavior that is under the control of PNN in the CA2 region of the hippocampus [52].

Yet, neuronal mechanisms underpinning the relationship between PNN, depression and the delay of action of antidepressant drugs have not been unraveled. Multiple lines of evidence indicate, however, that PNN presence facilitates the firing of PV-expressing interneurons and probably the extracellular accumulation of GABA through enhanced glutamate sensitivity [53]. As PV^+ interneurons contact excitatory pyramidal cells in the hippocampus, one would expect that PNN influence the excitatory/inhibitory (E/I) balance. Specifically, PNN would alter this balance [54], a relevant endpoint to stress-induced depressive-like state [55, 56]. Conversely, the digestion of PNN with ChABC would reduce the excitability of GABAergic interneurons [57, 53] which could then favor hippocampal activity and promote antidepressant-like effects. Supporting this idea, Riga and collaborators have shown that the disorganization of PNN, notably with the antidepressant imipramine, decreases the inhibition of CA1 pyramidal cells [9]. In conclusion, since current antidepressant drugs have a significant time lag, a better knowledge of the mechanisms underlying the rapid action of ketamine or the combination of venlafaxine and EE, could allow the identification of new therapeutic targets. Our results and those obtained with ketamine [20], strongly suggest that the modulation of hippocampal E/I balance by the extracellular matrix PNN is crucial to reduce the delay of action of antidepressant drugs. Although further experiments are warranted to understand these mechanisms, changes in hippocampal PNN intensity might finely control the negative feedback exerted by the hippocampus on the HPA axis [58], a key regulator of emotional and cognitive behaviors.

REFERENCES

1. Malhi GS, Mann JJ. Depression. Lancet. 2018;392:2299–2312.
2. Artigas F, Bortolozzi A, Celada P. Can we increase speed and efficacy of antidepressant treatments? Part I: General aspects and monoamine-based strategies. Eur Neuropsychopharmacol. 2018;28:445–456.
3. Nierenberg AA, Farabaugh AH, Alpert JE, Gordon J, Worthington JJ, Rosenbaum JF, et al. Timing of onset of antidepressant response with fluoxetine treatment. Am J Psychiatry. 2000;157:1423–1428.
4. Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Chaimani A, Atkinson LZ, Ogawa Y, et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. Lancet. 2018;391:1357–1366.
5. Blier P. Pharmacology of rapid-onset antidepressant treatment strategies. J Clin Psychiatry. 2001;62 Suppl 15:12–17.
6. Nibuya M, Morinobu S, Duman RS. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. J Neurosci. 1995;15:7539–7547.
7. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science. 2003;301:805–809.
8. Hensch TK. Bistable parvalbumin circuits pivotal for brain plasticity. Cell. 2014;156:17–19.
9. Riga D, Kramvis I, Koskinen MK, van Bokhoven P, van der Harst JE, Heistek TS, et al. Hippocampal extracellular matrix alterations contribute to cognitive impairment associated with a chronic depressive-like state in rats. Sci Transl Med. 2017;9:eaai8753.
10. Alaiyed S, McCann M, Mahajan G, Rajkowska G, Stockmeier CA, Kellar KJ, et al. Venlafaxine Stimulates an MMP-9-Dependent Increase in Excitatory/Inhibitory Balance in a Stress Model of Depression. J Neurosci. 2020;40:4418–4431.
11. Umemori J, Winkel F, Castrén E, Karpova NN. Distinct effects of perinatal exposure to fluoxetine or methylmercury on parvalbumin and perineuronal nets, the markers of critical periods in brain development. Int J Dev Neurosci. 2015;44:55–64.
12. Alaiyed S, Bozzelli PL, Caccavano A, Wu JY, Conant K. Venlafaxine stimulates PNN proteolysis and MMP-9-dependent enhancement of gamma power; relevance to antidepressant efficacy. J Neurochem. 2019;148:810–821.
13. Mukhopadhyay S, Chatterjee A, Tiwari P, Ghai U, Vaidya VA. Postnatal Fluoxetine Treatment Alters Perineuronal Net Formation and Maintenance in the Hippocampus. ENeuro. 2021;8:ENEURO.0424-20.2021.
14. Ohira K, Takeuchi R, Iwanaga T, Miyakawa T. Chronic fluoxetine treatment reduces parvalbumin expression and perineuronal nets in gamma-aminobutyric acidergic interneurons of the frontal cortex in adult mice. Mol Brain. 2013;6:43.
15. Ringland C, Schweig JE, Eisenbaum M, Paris D, Ait-Ghezala G, Mullan M, et al. MMP9 modulation improves specific neurobehavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. BMC Neurosci. 2021;22:39.
16. Vafadari B, Mitra S, Stefaniuk M, Kaczmarek L. Psychosocial Stress Induces Schizophrenia-Like Behavior in Mice With Reduced MMP-9 Activity. Front Behav Neurosci. 2019;13:195.
17. Bobińska K, Szemraj J, Czarny P, Gałecki P. Role of MMP-2, MMP-7, MMP-9 and TIMP-2 in the development of recurrent depressive disorder. J Affect Disord. 2016;205:119–129.
18. Bobińska K, Szemraj J, Czarny P, Gałecki P. Expression and Activity of Metalloproteinases in Depression. Med Sci Monit. 2016;22:1334–1341.
19. Rybakowski JK, Skibinska M, Suwalska A, Leszczynska-Rodziewicz A, Kaczmarek L, Hauser J. Functional polymorphism of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene and response to lithium prophylaxis in bipolar patients. Hum Psychopharmacol. 2011;26:168–171.
20. Matuszko G, Curreli S, Kaushik R, Becker A, Dityatev A. Extracellular matrix alterations in the ketamine model of schizophrenia. Neuroscience. 2017;350:13–22.

21. Fares RP, Belmeguenai A, Sanchez PE, Kouchi HY, Bodennec J, Morales A, et al. Standardized Environmental Enrichment Supports Enhanced Brain Plasticity in Healthy Rats and Prevents Cognitive Impairment in Epileptic Rats. PLoS One. 2013;8:e53888.
22. David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang J-W, Marsteller D, Mendez I, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron. 2009;62:479–493.
23. Bacq A, Balasse L, Biala G, Guiard B, Gardier AM, Schinkel A, et al. Organic cation transporter 2 controls brain norepinephrine and serotonin clearance and antidepressant response. Mol Psychiatry. 2012;17:926–939.
24. Ennaceur A, Neave N, Aggleton JP. Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. Exp Brain Res. 1997;113:509–519.
25. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology (Berl). 1985;85:367–370.
26. Guilloux J-P, Seney M, Edgar N, Sibille E. Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: relevance to emotionality and sex. J Neurosci Methods. 2011;197:21–31.
27. Rainer Q, Nguyen HT, Quesseveur G, Gardier AM, David DJ, Guiard BP. Functional status of somatodendritic serotonin 1A autoreceptor after long-term treatment with fluoxetine in a mouse model of anxiety/depression based on repeated corticosterone administration. Mol Pharmacol. 2012;81:106–112.
28. Dierick M, Ravizza L, Realini R, Martin A. A double-blind comparison of venlafaxine and fluoxetine for treatment of major depression in outpatients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 1996;20:57–71.
29. Nicolas S, Veyssière J, Gandin C, Zsürger N, Pietri M, Heurteaux C, et al. Neurogenesis-independent antidepressant-like effects of enriched environment is dependent on adiponectin. Psychoneuroendocrinology. 2015;57:72–83.
30. Alaiyed S, Conant K. A Role for Matrix Metalloproteases in Antidepressant Efficacy. Front Mol Neurosci. 2019;12:117.
31. Kwok JCF, Dick G, Wang D, Fawcett JW. Extracellular matrix and perineuronal nets in CNS repair. Dev Neurobiol. 2011;71:1073–1089.
32. Bach DR, Näf M, Deutschmann M, Tyagarajan SK, Quednow BB. Threat Memory Reminder Under Matrix Metalloproteinase 9 Inhibitor Doxycycline Globally Reduces Subsequent Memory Plasticity. J Neurosci. 2019;39:9424–9434.
33. Zhang F, Hu L, Wu Y-X, Fan L, Liu W-T, Wang J, et al. Doxycycline alleviates paraquat-induced acute lung injury by inhibiting neutrophil-derived matrix metalloproteinase 9. Int Immunopharmacol. 2019;72:243–251.
34. Pizzorusso T, Medini P, Berardi N, Chierzi S, Fawcett JW, Maffei L. Reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. Science. 2002;298:1248–1251.
35. David DJP, Bourin M, Jego G, Przybylski C, Jolliet P, Gardier AM. Effects of acute treatment with paroxetine, citalopram and venlafaxine in vivo on noradrenaline and serotonin outflow: a microdialysis study in Swiss mice. Br J Pharmacol. 2003;140:1128–1136.
36. Mendez-David I, Guilloux J-P, Papp M, Tritschler L, Mocaer E, Gardier AM, et al. S 47445 Produces Antidepressant- and Anxiolytic-Like Effects through Neurogenesis Dependent and Independent Mechanisms. Front Pharmacol. 2017;8:462.
37. Blier P, Piñeyro G, el Mansari M, Bergeron R, de Montigny C. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. Ann N Y Acad Sci. 1998;861:204–216.
38. Blier P, Bergeron R. The safety of concomitant use of sumatriptan and antidepressant treatments. J Clin Psychopharmacol. 1995;15:106–109.
39. Yaman B, Bal R. Pindolol potentiates the antidepressant effect of venlafaxine by inhibiting 5-HT1A receptor in DRN neurons of mice. Int J Neurosci. 2022;132:23–30.

40. Jha S, Dong B, Sakata K. Enriched environment treatment reverses depression-like behavior and restores reduced hippocampal neurogenesis and protein levels of brain-derived neurotrophic factor in mice lacking its expression through promoter IV. Transl Psychiatry. 2011;1:e40.
41. Yildirim E, Erol K, Ulupinar E. Effects of sertraline on behavioral alterations caused by environmental enrichment and social isolation. Pharmacol Biochem Behav. 2012;101:278–287.
42. Liu C, Gu J-Y, Han J-H, Yan F-L, Li Y, Lv T-T, et al. Enriched environment combined with fluoxetine ameliorates depression-like behaviors and hippocampal SYP expression in a rat CUS model. Brain Res Bull. 2017;135:33–39.
43. Bashiri H, Houwing DJ, Homberg JR, Salari A-A. The combination of fluoxetine and environmental enrichment reduces postpartum stress-related behaviors through the oxytocinergic system and HPA axis in mice. Sci Rep. 2021;11:8518.
44. Poggini S, Matte Bon G, Golia MT, Ciano Albanese N, Viglione A, Poleggi A, et al. Selecting antidepressants according to a drug-by-environment interaction: A comparison of fluoxetine and minocycline effects in mice living either in enriched or stressful conditions. Behav Brain Res. 2021;408:113256.
45. Ramírez-Rodríguez GB, Vega-Rivera NM, Meneses-San Juan D, Ortiz-López L, Estrada-Camarena EM, Flores-Ramos M. Short Daily Exposure to Environmental Enrichment, Fluoxetine, or Their Combination Reverses Deterioration of the Coat and Anhedonia Behaviors with Differential Effects on Hippocampal Neurogenesis in Chronically Stressed Mice. Int J Mol Sci. 2021;22:10976.
46. Monteiro BMM, Moreira FA, Massensini AR, Moraes MFD, Pereira GS. Enriched environment increases neurogenesis and improves social memory persistence in socially isolated adult mice. Hippocampus. 2014;24:239–248.
47. Brückner G, Szeöke S, Pavlica S, Grosche J, Kacza J. Axon initial segment ensheathed by extracellular matrix in perineuronal nets. Neuroscience. 2006;138:365–375.
48. Shi W, Wei X, Wang X, Du S, Liu W, Song J, et al. Perineuronal nets protect long-term memory by limiting activity-dependent inhibition from parvalbumin interneurons. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019:201902680.
49. Karlsson M, Hammers S, Nilsson-Ehle I, Malmborg AS, Wretlind B. Concentrations of doxycycline and penicillin G in sera and cerebrospinal fluid of patients treated for neuroborreliosis. Antimicrob Agents Chemother. 1996;40:1104–1107.
50. Burggraf D, Martens HK, Dichgans M, Hamann GF. Matrix metalloproteinase (MMP) induction and inhibition at different doses of recombinant tissue plasminogen activator following experimental stroke. Thromb Haemost. 2007;98:963–969.
51. Kwon H-J, Mohammed AE, Eltom KH, Albrahim JS, Alburae NA. Evaluation of antibiotic-induced behavioral changes in mice. Physiol Behav. 2020;223:113015.
52. Domínguez S, Rey CC, Therreau L, Fanton A, Massotte D, Verret L, et al. Maturation of PNN and ErbB4 Signaling in Area CA2 during Adolescence Underlies the Emergence of PV Interneuron Plasticity and Social Memory. Cell Rep. 2019;29:1099-1112.e4.
53. Tewari BP, Chaunsali L, Campbell SL, Patel DC, Goode AE, Sontheimer H. Perineuronal nets decrease membrane capacitance of peritumoral fast spiking interneurons in a model of epilepsy. Nat Commun. 2018;9:4724.
54. Yizhar O, Fenno LE, Prigge M, Schneider F, Davidson TJ, O'Shea DJ, et al. Neocortical excitation/inhibition balance in information processing and social dysfunction. Nature. 2011;477:171–178.
55. Albrecht A, Ivens S, Papageorgiou IE, Çalışkan G, Saiepour N, Brück W, et al. Shifts in excitatory/inhibitory balance by juvenile stress: A role for neuron-astrocyte interaction in the dentate gyrus. Glia. 2016;64:911–922.
56. Wang H-L, Sun Y-X, Liu X, Wang H, Ma Y-N, Su Y-A, et al. Adolescent stress increases depression-like behaviors and alters the excitatory-inhibitory balance in aged mice. Chin Med J (Engl). 2019;132:1689–1699.

57. Favuzzi E, Marques-Smith A, Deogracias R, Winterflood CM, Sánchez-Aguilera A, Mantoan L, et al. Activity-Dependent Gating of Parvalbumin Interneuron Function by the Perineuronal Net Protein Brevican. Neuron. 2017;95:639-655.e10.
58. Anacker C, Zunszain PA, Carvalho LA, Pariante CM. The glucocorticoid receptor: pivot of depression and of antidepressant treatment? Psychoneuroendocrinology. 2011;36:415–425.

Figure 1. Long-term treatment with venlafaxine is necessary to induce antidepressant effects in the CORT mouse model of depression. (A) Experimental timeline. All along the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=24) or vehicle (VEH mice, n=12) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received a treatment of venlafaxine (CORT-VLX mice, n=12) or vehicle (CORT-VEH mice, n=12) for 8 weeks. Behavioral tests were performed after 2 and 8 weeks of treatment. One-way ANOVA with treatment as main factor was applied for the two treatment durations. In the elevated plus maze no significant effect of treatment factor was detected after 2 and 8 weeks of treatment ($F_{(2;33)}$=2.234 p=0.12 and $F_{(2;33)}$=3.027 p=0.062, respectively). A significant effect of treatment factor was observed in the novelty suppressed feeding (D-E; $F_{(2;33)}$=7.668, p=0.002 and $F_{(2;33)}$=11.13, p=0.001, respectively), the splash test (F-G; $F_{(2;33)}$=6.078, p=0.004 and $F_{(2,33)}$=10.81, p=0.001, respectively), the tail suspension test (H-I; $F_{(2;33)}$=12.55, p=0.001 and $F_{(2;33)}$=14.32, p=0.001, respectively), the object location test (J-K; $F_{(2;33)}$=10.80, p=0.001 and $F_{(2;33)}$=9.530, p=0.001, respectively), and finally the social preference test (L-M; $F_{(2;33)}$=6.949, p=0.003 and $F_{(2;33)}$=15.94, p=0.001, respectively). Data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc analysis was conducted when appropriate: $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$: significantly different from control (VEH) mice. $^{\$\$\$}p < 0.001$: significantly different from CORT mice. $^{\#\#\#}p < 0.001$: significantly different from chance level.

Figure 2. Exposure to enriched environment shortens the time to antidepressant action of venlafaxine. (A) Experimental timeline. All along the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=63) or vehicle (VEH mice, n=12) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received a treatment of venlafaxine or vehicle for 8 weeks either in their home cage (CORT-VLX mice, n=12 and CORT-VEH mice, n=12) or in an enriched environment (CORT-EE mice, n=16 and CORT-EE-VLX mice, n=23). Animals were tested after 2 and 8 weeks of treatment. (B, D) Emotional and (C, E) cognitive tests were performed and a two-way ANOVA with housing condition and treatment as main factors was applied in CORT mice. VEH mice were used to establish emotional and cognitive z-scores. After 2 weeks of treatment, ANOVA revealed a significant effect of housing condition ($F_{(1;59)}$=27.0 , $p < 0.001$) and housing condition x treatment interaction ($F_{(1;59)}$=4.16 , $p < 0.05$) for emotional z-score. A significant effect of housing condition was detected for cognitive z-score ($F_{(1;59)}$=32.0 , $p < 0.001$). After 8 weeks of treatment, ANOVA revealed a significant effect of housing condition, treatment and housing condition x treatment interaction for the emotional ($F_{(1;44)}$=21.0 $p < 0.001$, $F_{(1;44)}$=14.9 $p < 0.001$, and $F_{(1;44)}$=5.57 $p < 0.05$, respectively) and the cognitive z-score ($F_{(1;44)}$=8.39 $p < 0.01$, $F_{(1;44)}$=10.4 $p < 0.01$, and $F_{(1;44)}$=19.5 $p < 0.001$, respectively). The control VEH mice are represented by the grey shaded area showing mean ± SEM. In all other groups, data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc analysis when appropriate: $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicate significant differences between groups.

Figure 3. The antidepressant action requires the remodeling of extracellular matrix surrounding hippocampal interneurons. (A) Experimental timeline. All along the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=19) or vehicle (VEH mice, n=6) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received a treatment of venlafaxine or vehicle for 2 weeks either in their home cage (CORT-VLX mice, n=4 and

CORT-VEH mice, n=6) or in an enriched environment (CORT-EE mice, n=5 and CORT-EE-VLX mice, n=4). Animals were sacrificed after 2 weeks of treatment and processed for immunochemical analysis. (B) Proportion of PV^+/PNN^+ cells among PV^+ cells in CA1. One-way ANOVA analysis reveals significant difference ($F_{(4;20)}$=6.378, p < 0.01). (C) Schematic representation of the hypothetic mechanism of action of doxycycline (DOX). Matrix metalloproteases are known to degrade PNN. DOX, previously shown to inhibit matrix metalloprotease, could therefore stabilize PNN network around PV+ cells. (D) Experimental protocol used to study the impact of the pharmacological blockade of PNN remodeling by DOX incorporated into the diet. Starting at week 0, CORT mice (n=29) received a treatment with venlafaxine for 2 weeks in an enriched environment either in absence (CORT-VLX-EE-$DOX^{(-)}$, n= 11) or in presence of DOX (CORT-VLX-EE-$DOX^{(+)}$, n= 10). A depressed group exposed to CORT alone was used for emotional and cognitive z-scores establishment (CORT mice, n=8). (E) Microphotographs depicting PV+/PNN+ cells in the CA1 region of CORT-depressed mice housed in an enriched environment and treated with VLX (VLX-EE) or the combination of VLX and doxycycline (VLX-EE-DOX). (F) Proportion of PV+/PNN+ cells among PV+ cells in CA1 showing a significant effect using unpaired Student t-test. (G) Emotional and (H) cognitive z-scores showing a significant effect of DOX using unpaired Student t-test. Control CORT mice are represented the grey shaded area showing mean ± SEM. Data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc and t-test analysis when appropriate: $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicate significant differences between groups. Scale bars = 50mm.

Figure 4. Pharmacological degradation of hippocampal PNN replicates the rapid antidepressant action of VLX+EE treatment. (A-B) Experimental timeline. All along the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=35) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received a treatment of venlafaxine or vehicle for 2 weeks in their home cage (CORT-vehicle mice, n=9 and CORT-VLX mice, n=8). These groups split in two additional groups receiving intra-hippocampal injections of the PNN degrading enzyme ChABC, or vehicle. (CORT-vehicle mice : n=9, CORT-VLX mice : n= 8, CORT-ChABC mice: n=9; and CORT-VLX-ChABC mice : n= 9). (C) One-way ANOVA with treatment as main factor was applied the proportion of PV^+/PNN^+ cells in CA1 and a significant effect of treatment factor was detected ($F_{(3;31)}$=11.00, p < 0.001). Emotional (D) and cognitive (E) z-scores were calculated and a two-way ANOVA with pre-treatment (VLX vs. VEH) and treatment (ChABC vs. vehicle) factors was applied. For the emotional z-score, a significant effect of pre-treatment (VLX vs. VEH) and treatment factors (ChABC vs. PBS) but not the interaction pre-treatment x treatment was unveiled ($F_{(1;31)}$=9.06, p < 0.01, $F_{(1;31)}$=47.0, p < 0.001, $F_{(1;31)}$=1.08, p = 0.301, respectively). For the cognitive z-score (E), a significant effect of treatment factor but not of the pre-treatment or the interaction pre-treatment x treatment was unveiled ($F_{(1;31)}$=41.7, p < 0.001, $F_{(1;31)}$=0.05, p = 0.824, $F_{(1;31)}$=0.00, p = 0.985, respectively). Data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc analysis when appropriate: $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicates significant difference with CORT mice, $^{\#}p < 0.05$; $^{\#\#}p < 0.01$, $^{\#\#\#}p < 0.001$ indicate significant difference between groups.

FIGURE 1

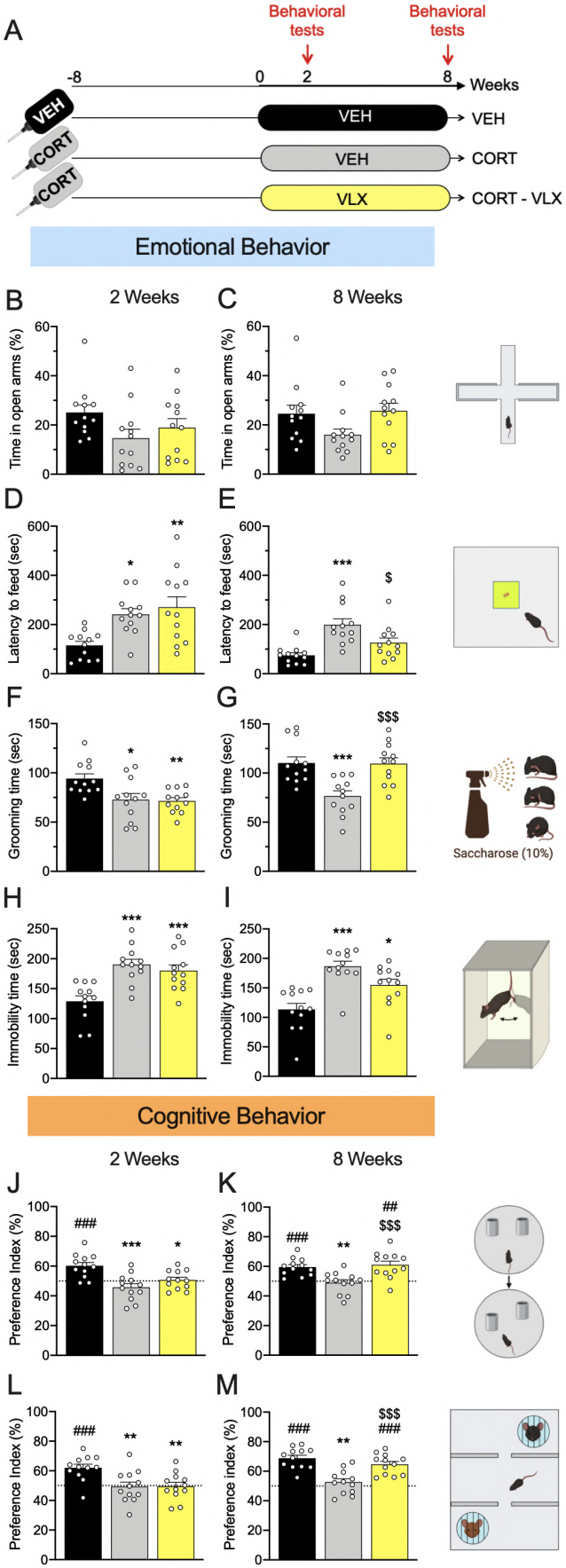

A
Behavioral tests
Behavioral tests
-8
0
2
8
Weeks
VEH
CORT
CORT
VEH
VEH
VLX
VEH
CORT
CORT - VLX
Emotional Behavior
B
2 Weeks
C
8 Weeks
Time in open arms (%)
D
E
Latency to feed (sec)
F
G
Grooming time (sec)
Saccharose (10%)
H
I
Immobility time (sec)
Cognitive Behavior
2 Weeks
8 Weeks
J
K
Preference Index (%)
L
M
Preference index (%)

FIGURE 2

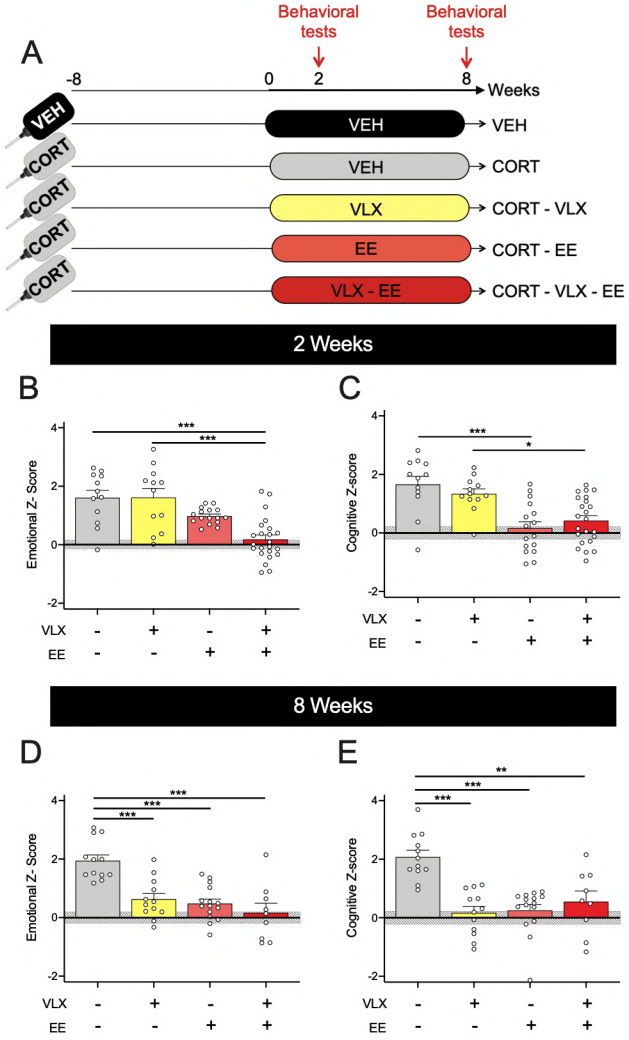

A
Behavioral tests
Behavioral tests
-8
0
2
8
Weeks
VEH
CORT
CORT
CORT
CORT
VEH
VEH
VLX
EE
VLX - EE
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - EE
CORT - VLX - EE
2 Weeks
B
C
Emotional Z- Score
Cognitive Z-score
VLX
EE
8 Weeks
D
E
Emotional Z- Score
Cognitive Z-score
VLX
EE

FIGURE 3

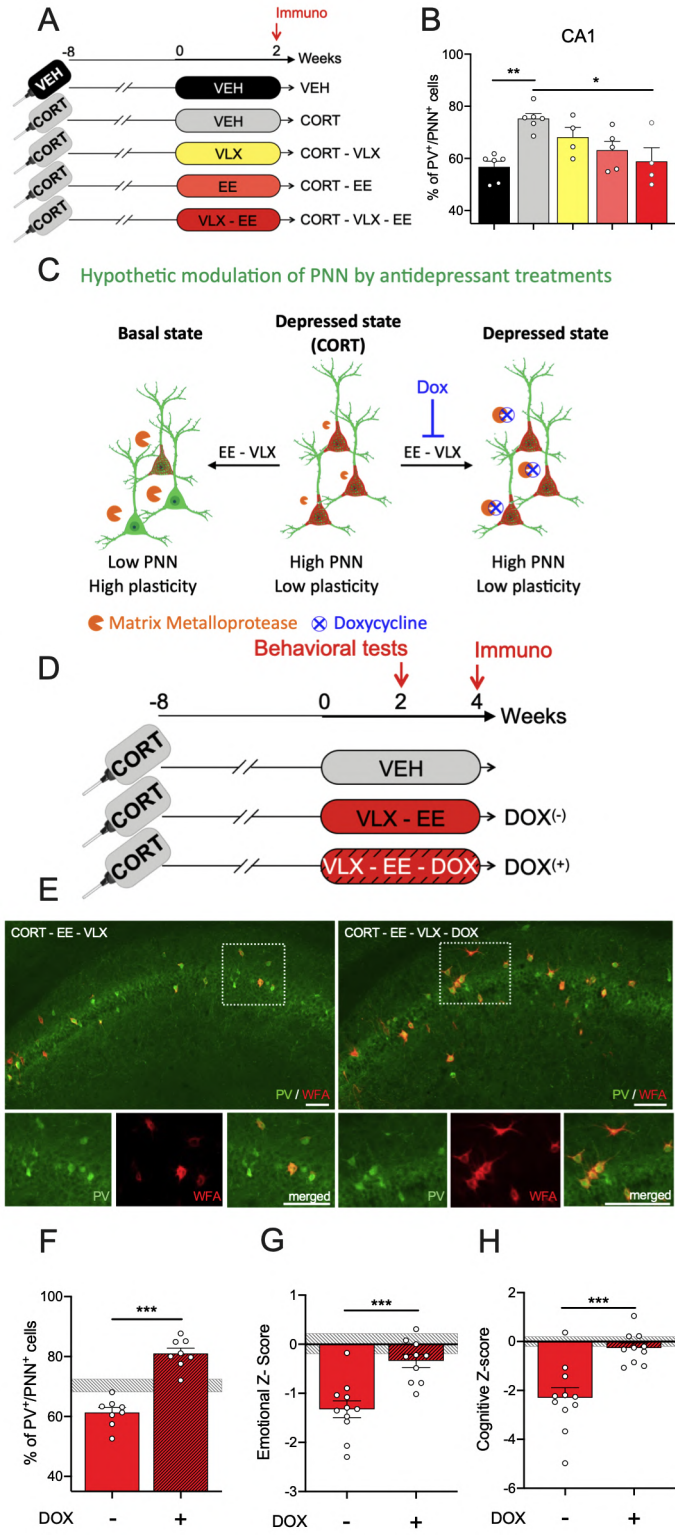

A
Immuno
-8
0
2
Weeks
VEH
VEH
CORT
VEH
CORT
VLX
CORT - VLX
CORT
EE
CORT - EE
CORT
VLX - EE
CORT - VLX - EE
B
CA1
% of PV+/PNN+ cells
C
Hypothetic modulation of PNN by antidepressant treatments
Basal state
Depressed state (CORT)
Depressed state
Dox
EE - VLX
EE - VLX
Low PNN
High plasticity
High PNN
Low plasticity
High PNN
Low plasticity
Matrix Metalloprotease
Doxycycline
D
Behavioral tests
Immuno
-8
0
2
4
Weeks
CORT
CORT
CORT
VEH
VLX - EE
DOX(-)
VLX - EE - DOX
DOX(+)
E
CORT - EE - VLX
CORT - EE - VLX - DOX
PV / WFA
PV
WFA
merged
F
G
H
% of PV+/PNN+ cells
Emotional Z- Score
Cognitive Z-score
DOX
-
+

FIGURE 4

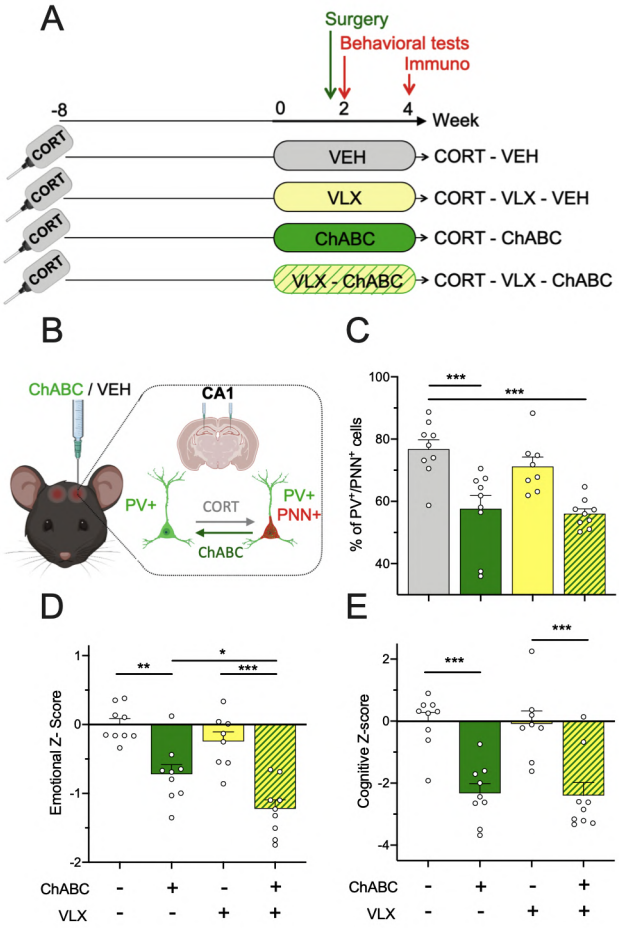
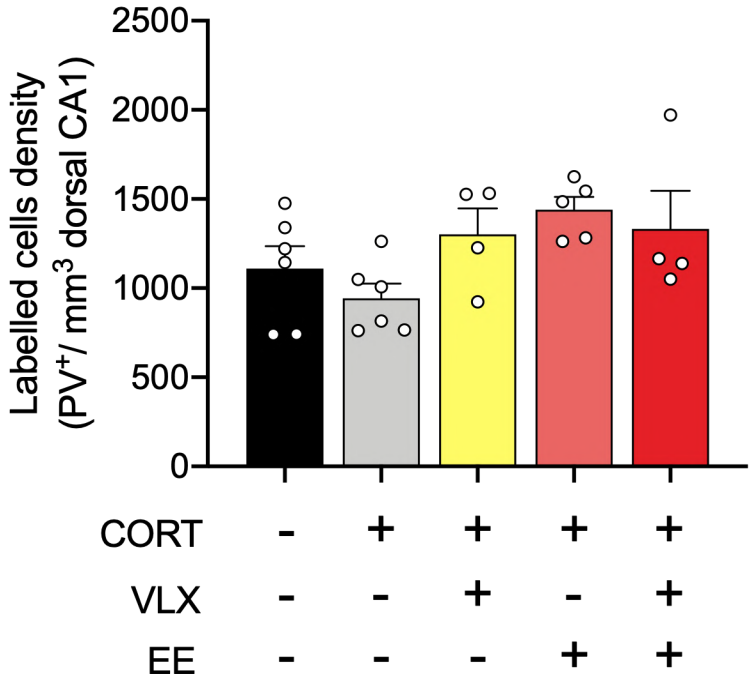
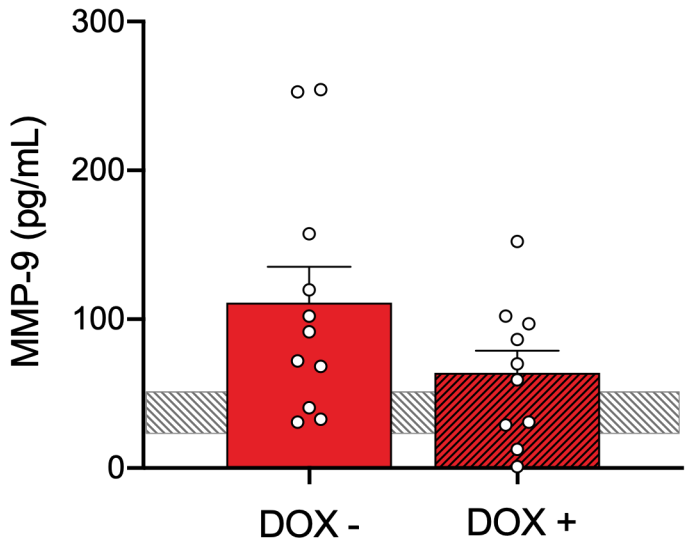

A
Surgery
Behavioral tests
Immuno
-8
0
2
4
Week
CORT
CORT
CORT
CORT
VEH
VLX
ChABC
VLX - ChABC
CORT - VEH
CORT - VLX - VEH
CORT - ChABC
CORT - VLX - ChABC
B
ChABC / VEH
CA1
PV+
CORT
PV+
PNN+
ChABC
C
% of PV+/PNN+ cells
100
80
60
40
***
***
D
Emotional Z- Score
1
0
-1
-2
**
*
***
ChABC - + - +
VLX - - + +
E
Cognitive Z-score
2
0
-2
-4
***
***
ChABC - + - +
VLX - - + +

Figure S1



Therapeutic strategies did not change PV+ cell density into the dorsal CA1. Density of PV^+ cells in dorsal CA1. One-way ANOVA analysis did not reveal significant difference ($F_{(4;20)}$=2.662, p = 0.062).

Figure S2



Effect of doxycycline on MMP-9 expression in whole hippocampus. MMP-9 levels in hippocampal lysates. Doxycycline tend to decrease MMP-9 expression but statistical analysis did not revealed significant difference using unpaired Student t-test ($t_{(19)}$=1.620 P=0.061)

Effet de l'interruption de l'exposition à l'environnement enrichi sur le phénotype anxio-dépressif

Comme nous l'avons vu précédemment, l'environnement enrichi (EE) associé à la venlafaxine réduit le délai d'action de ce dernier (de 8 à 2 semaines) chez les souris exposées à la CORT. Seule, l'exposition à un EE induit une amélioration des troubles cognitifs dans ce modèle.

Dans une démarche de recherche translationnelle et afin de prendre en compte le fait qu'à leur sortie de l'hôpital, certains des patients risquent d'interrompre les activités stimulantes qui peuvent être proposées lors de leur hospitalisation, nous avons cherché à déterminer l'impact d'une sortie de l'EE sur la réponse à la venlafaxine (Figure 19) sur le taux de rechute des souris.

En effet, « la perte », décrite de manière générale comme la privation d'un élément (physique ou non) perçu comme précieux (National Institute of Mental Health, 2018), est associée à une valence négative. Ainsi, nous avons fait l'hypothèse que l'arrêt brutal des activités stimulantes pourrait entraîner un effet négatif chez le rongeur caractérisé par un retour à un état pathologique en dépit du maintien du traitement pharmacologique. En accord avec cette hypothèse, il a notamment été montré qu'à la suite d'un séjour d'un mois en EE, le retour en conditions standards d'élevage, augmente la résignation des animaux ainsi que leur anhédonie. Ces altérations comportementales sont associées à une hyperphagie, un symptôme également observé chez certains patients dépressifs (Morano et al., 2018).

Dans ce contexte nous avons voulu déterminer dans quelle mesure et par quel mécanisme la sortie de l'EE pouvait impacter la réponse à la venlafaxine dans le modèle de dépression induit par la CORT chez la souris.

Ces expériences ont été réalisées en parallèle de celle présentée dans l'article 1 durant laquelle un sous-groupe d'animaux a été retirée de l'EE après la première série de tests comportementaux (Figure 19). Les souris étaient alors uniquement exposées à la CORT dans l'eau de boisson et traitées à la venlafaxine (VLX-EE/STD).

Comme vu précédemment (Article 1), l'EE réduit le délai d'action de la venlafaxine à deux semaines, ce qui se traduit par une diminution de l'état émotionnel des animaux ainsi qu'une

amélioration des performances cognitives et ces améliorations persistent après 8 semaines de traitement.

Concernant, le groupe d'animaux traités à la venlafaxine et sortis de l'EE, les animaux montrent une amélioration comportementale après 2 semaines de traitement. Or, après être sortis de l'EE, on constate une augmentation significative des z-scores émotionnels et cognitifs de ces animaux par rapport à ceux restés exposés à l'EE, malgré le maintien de la venlafaxine. Les scores de ces animaux sont d'ailleurs proches de celles des souris du groupe CORT. Ces résultats montrent une perte des effets bénéfiques de la combinaison EE/VLX suite à l'interruption de l'EE (Figure 19).

Ces données sont en accord avec les données de la littérature suggérant que la cessation des activités stimulantes entraîne des altérations comportementales se traduisant par un phénotype anxio-dépressif chez les animaux, malgré le maintien du traitement par la venlafaxine. La plus-value de cette étude comparée aux données de la littérature est son caractère longitudinal. En effet, après avoir montré une réponse antidépressive après 2 semaines, les animaux présentent à nouveau un profil comportemental pseudo-dépressif, suggérant ainsi une rechute malgré le maintien du traitement.

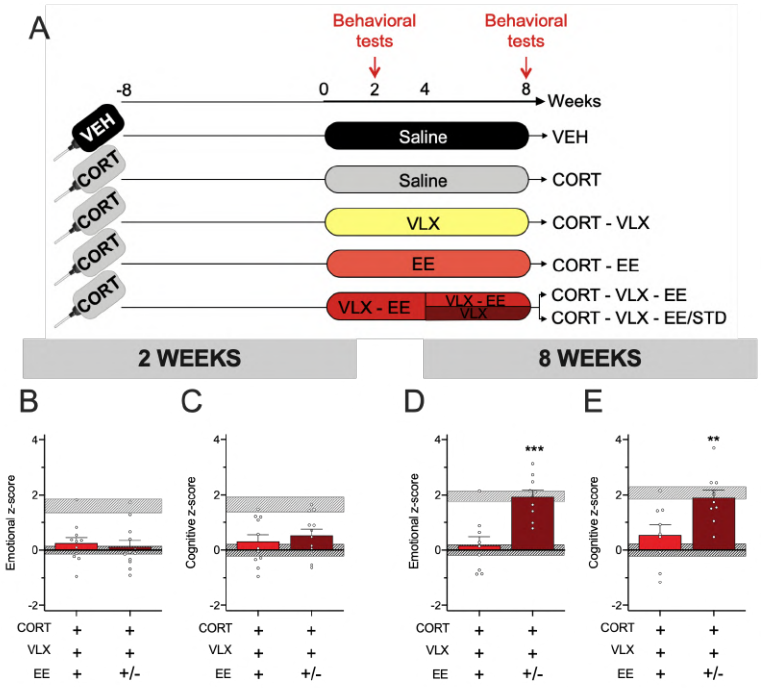


Figure 19. Effet du retrait de l'EE sur le phénotype pseudo-dépressif des animaux. (A) Protocole expérimental effectué en parallèle des expériences présenté dans l'article 1. Tout au long de l'expérience, les animaux ont été exposés à la corticostérone (CORT) ou au véhicule (VEH) dans l'eau potable. À partir de la semaine 0, les souris CORT ont reçu un traitement de venlafaxine pendant 8 semaines dans un EE(n=23). Les performances des animaux ont été séparé selon le maintien ou non dans l'EE après la 1ère batterie de tests (VLX-EE, n=11 ; VLX-EE/STD, n=12). (B-C) Z-scores émotionnel et cognitif des animaux traités à la venlafaxine et exposés à l'EE après 2

semaines, le test de Student n'a pas révélé de différences significatives entre les deux groupes. (D-E) Z-scores émotionnel et cognitif des animaux traités à la venlafaxine et exposés à l'EE après 8 semaines, le test de Student a pas révélé de différences significatives entre les deux groupes (D, t17=4,470 p < 0.001 ; E t17=2,993 p=0.008). Les valeurs sont représentées en moyenne ± SEM. Les bandeaux hachurés en noir et gris représente les moyennes ± SEM des groupes VEH et CORT, respectivement. **p < 0.01, ***p < 0.001 indique les différences entre les groupes.

Dans le but d'identifier les mécanismes neurobiologiques impliqués dans les effets antidépresseurs de l'EE associé à la venlafaxine et l'effet de la sortie des animaux de cet EE, nous avons étudié la neurogenèse hippocampique adulte, un autre acteur de la plasticité hippocampique. Comme nous l'avons vu dans l'introduction du manuscrit, l'état pseudo-dépressif chez le modèle murin est associée à une perturbation de la neurogenèse hippocampique adulte alors que les antidépresseurs et l'exposition à un EE, au contraire, stimulent cette forme de plasticité cérébrale (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008; Nicolas et al., 2015).

Après les tests comportementaux réalisés à 8 semaines, une partie des animaux a été sacrifiée et les cerveaux ont été préparés pour quantifier la neurogenèse hippocampique adulte (Figure 20). La prolifération et la survie des nouvelles cellules âgées de à 6 semaines ont été évaluées à l'aide des marqueurs Ki67 et BrdU.

Nos résultats montrent que l'exposition à la corticostérone a tendance à diminuer la prolifération cellulaire dans le gyrus denté (p=0.06). En revanche, cette diminution n'est pas affectée par le traitement avec la venlafaxine, ni par l'exposition à l'EE. Au contraire, la combinaison VLX et EE contrecarre cette tendance et la sortie de l'EE (VLX-EE/STD) n'entraîne pas de différences par rapport au groupe (VLX-EE).

La densité des cellules âgées de 6 semaines ayant incorporé le BrdU 4 semaines après le début des stratégies thérapeutiques, n'est pas affectée par l'exposition à la CORT, ni par le traitement à la venlafaxine. En revanche, nous avons observé une augmentation de la densité des cellules BrdU+ chez les souris placées en EE, avec ou sans traitement à la venlafaxine. Toutefois, la sortie de l'EE (VLX-EE/STD), qui est concomitante de l'injection du BrdU, montre une diminution du nombre de cellules BrdU+ en comparaison avec les animaux maintenus dans l'EE (VLX-EE). Le nombre de cellules BrdU+ chez les souris VLX-EE/STD est semblable à celui des animaux contrôles élevés en conditions standards.

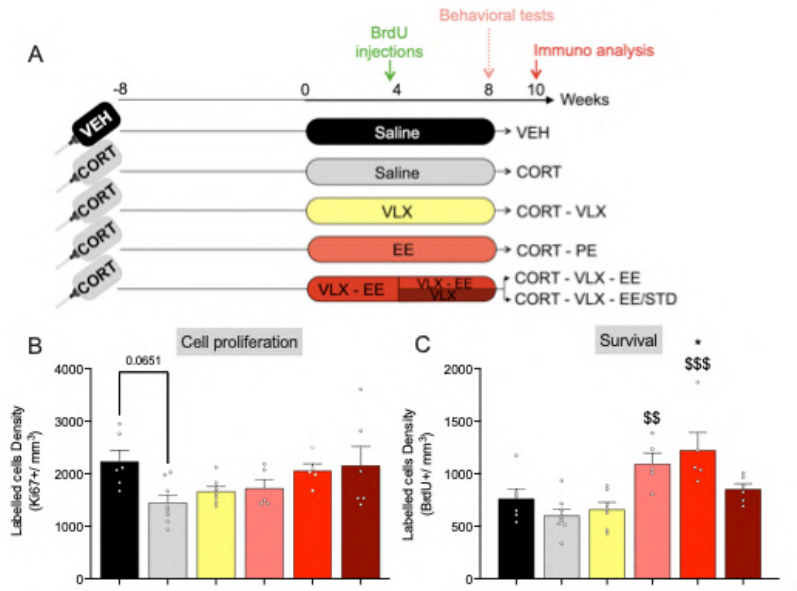


Figure 20 Effet des différentes stratégies thérapeutiques sur les processus de neurogenèse hippocampique après 8 semaines de traitement. (A) Protocole expérimental. A la fin de la 1ère batterie de tests les animaux ont été soumis à deux injections quotidiennes de BrdU durant 4 jours consécutifs. A la fin de l'étude comportementale, les animaux ont été sacrifiés et une étude histochimique a été mené afin de déterminer (B) la prolifération cellulaire et (C) la survie des nouvelles cellules âgées de 6 semaines ayant incorporé le BrdU. Les valeurs sont représentées en moyenne ± SEM. Les analyses statistique (one-way ANOVA) de la prolifération et de la survie ont mis en évidence une différence significative entre les groupes (C : $F_{(5\ ;31)}$=2,659, p=0.041 ; D : $F_{(5\ ;31)}$=7,304, p < 0 ;001). sans pour autant révéler de différence suite à l'analyse post-hoc (Tukey). Les valeurs sont représentées en moyenne ± SEM. Tests post hoc (Tukey): *p < 0.01 différent du groupe VEH ; $^{\$\$}$p < 0.01, $^{\$\$\$}$p < 0.001 différent du groupe CORT.

L'analyse de la neurogenèse hippocampique adulte confirme que l'exposition à la corticostérone diminue la prolifération cellulaire bien que cet effet ne soit pas ici significatif, probablement du fait du nombre limité d'animaux utilisés, mais n'impacte pas la survie cellulaire (David et al., 2009).

Alors que dans la littérature, les antidépresseurs favorisent la prolifération cellulaire, nos données expérimentales ne montrent pas un tel effet ni avec la venlafaxine, ni avec l'exposition à un EE. Ces données contradictoires avec la littérature (Tanti et al., 2012; Zhang et al., 2015a) pourraient s'expliquer par la longue durée d'exposition à la CORT (16 semaines) que nous utilisons dans notre protocole. Ceci qui pourrait empêcher la mise en évidence des effets bénéfiques des traitements sur la prolifération cellulaire. En revanche, la combinaison de ces deux stratégies prévient les effets délétères de la corticostérone et ce malgré la sortie de l'EE lorsqu'un le traitement avec la venlafaxine est maintenu.

Concernant les données sur la survie des cellules BrdU$^+$ âgées de 6 semaines, il faut être prudent quant à l'interprétation des résultats obtenus puisqu'il faut tenir compte de l'état de

la prolifération au moment de l'injection du BrdU. Les injections de BrdU ont été réalisées alors que les différentes stratégies thérapeutiques ont été mises en place qui ont elles-mêmes des effets sur la prolifération. Les résultats de la prolifération cellulaire obtenus après deux semaines de traitement (non montrés ici) indiquent que les animaux uniquement exposés à la CORT montrent une diminution de la prolifération. En tenant compte de cette donnée, l'absence d'effet sur la densité par rapport au groupe témoin (VEH) pourrait donc expliquer une augmentation de la survie chez les souris exposées à la CORT. Il pourrait donc être judicieux, pour confirmer cette hypothèse, d'injecter le BrdU avant l'exposition à la CORT pour voir son effet spécifique.

L'analyse de nos données indique que certaines stratégies thérapeutiques entraînant des améliorations comportementales sont associées à une augmentation du nombre de cellules $BrdU^+$ âgées de 6 semaines. C'est notamment le cas des souris placées en EE, indépendamment du traitement à la venlafaxine. Ces résultats sont conformes à ceux de la littérature qui rapportent un effet de l'exposition à un EE sur la survie cellulaire (Kempermann and Gage, 1999; Tanti et al., 2012; Nicolas et al., 2015). Or, en comparaison à d'autres antidépresseurs comme la fluoxétine (David et al., 2009), la venlafaxine n'améliore pas la survie des nouvelles cellules ce qui suggère que l'amélioration de la survie ne serait pas nécessaire aux effets antidépresseurs de la venlafaxine. En revanche, il semble nécessaire de maintenir l'exposition à un EE pour stimuler la survie cellulaire car cet effet est perdu avec l'arrêt de l'EE.

Dans l'ensemble, nos expériences visant à étudier l'impact de l'arrêt de l'EE au cours d'un traitement pharmacologique à la venlafaxine montrent que les effets bénéfiques de la combinaison sont perdus suite à la sortie des animaux de cet environnement et que ces effets sont associés à une diminution de la survie cellulaire. Il reste à déterminer dans quelle mesure cette modulation de la survie des nouvelles cellules du gyrus denté de l'hippocampe adulte est impliquée dans la réponse de type antidépresseur de la combinaison et préciser si cela s'accompagne d'un effet sur la survie neuronale. La détermination du phénotype cellulaire des cellules $BrdU^+$ est également une piste intéressante à explorer. Enfin, il serait également intéressant d'étudier l'effet des différentes conditions thérapeutiques sur la maturité de ces nouveaux neurones puisqu'il a été rapporté que l'exposition à la CORT altère ce processus

(Lussier et al., 2013; Chan et al., 2017) alors que les antidépresseurs et l'EE peuvent, au contraire, le stimuler (David et al., 2009; Moreno-Jiménez et al., 2019).

PARTIE 2 : EFFET BÉNÉFIQUE DE L'EXERCICE PHYSIQUE SUR LA RÉPONSE À LA VENLAFAXINE

Chapitre 2 : L'exercice physique volontaire possède des effets pro-neurogéniques précoces associés à une action antidépressive indépendante d'un traitement pharmacologique

- *L'environnement enrichi permet de réduire le délai d'action des antidépresseurs. La contribution de la stimulation physique (une des composantes de cet environnement) dans cet effet reste inconnue*

- *L'exercice physique seul ou en association avec la venlafaxine induit, dès deux semaines, des effets bénéfiques précoces sur le comportement anxio-dépressif des animaux exposés à la corticostérone alors que la venlafaxine seule est inefficace*

- *Après deux semaines, l'association de l'exercice physique et la venlafaxine induit une augmentation de la neurogenèse hippocampique adulte et une levée du frein inhibiteur médié par les autorécepteurs 5HT1A chez les souris modèles de dépression*

- *Après un traitement prolongé de huit semaines, la venlafaxine combinée ou non à l'exercice physique réverse le phénotype anxio-dépressif des animaux alors que l'exercice physique seul induit toujours des effets antidépresseurs partiels*

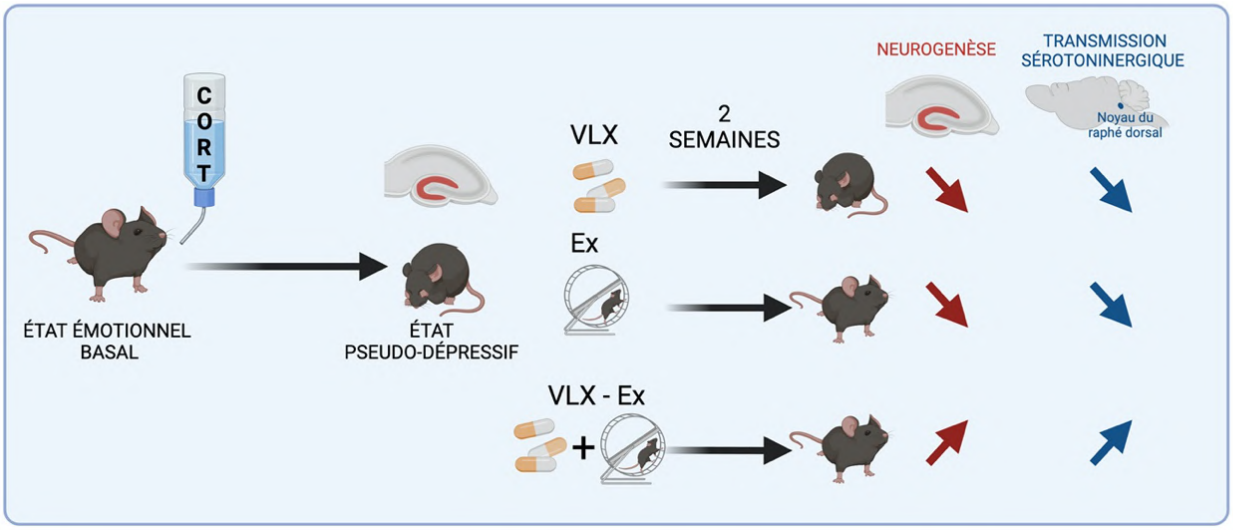


Figure 21. Résumé graphique de l'article 2

ARTICLE 2 : « Le délai de l'action antidépressive de la venlafaxine est raccourci par l'exercice physique volontaire : la neurogenèse adulte et les systèmes monoaminergiques sont deux processus potentiellement impliqués »

Basile Coutens[(1)], Romane Giraud[(1)], Juliana Pi Macedo[(1)], Bruno Guiard[(1)*], Claire Rampon[(1)*]

[(1)] Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA), Centre de Biologie Intégrative (CBI), CNRS UMR5169, Toulouse, France

Résumé

Si les médicaments antidépresseurs produisent des effets bénéfiques chez les patients déprimés, ils ont aussi des limites importantes, notamment un long délai d'action. Des études cliniques et précliniques ont montré les effets bénéfiques de l'exercice physique sur la santé mentale. Cependant, on ignore encore si l'exposition à l'exercice physique volontaire permet de réduire le délai d'action des antidépresseurs actuellement disponibles. Dans la présente étude, nous avons caractérisé les effets de l'exercice physique volontaire combiné à un traitement à la venlafaxine, dans le modèle murin de dépression exposé à la corticostérone (CORT). Nous avons également exploré les mécanismes neurobiologiques qui pourraient soutenir les effets bénéfiques de cette thérapie combinatoire. Tout d'abord, nous avons confirmé que la venlafaxine inverse le phénotype de type dépressif induit par la CORT après une administration à long terme (8 semaines) mais pas à court terme (2 semaines). Nous avons ensuite montré que l'exercice physique seul ou combiné à la venlafaxine produisait des effets bénéfiques sur les altérations émotionnelles chez les souris déprimées dès 2 semaines de traitement. En ce qui concerne les mécanismes neurobiologiques sous-jacents, nous avons constaté que la combinaison de l'exercice physique et de la venlafaxine entraîne une stimulation précoce de la neurogenèse hippocampique adulte et déclenche une désensibilisation fonctionnelle de l'autorécepteur inhibiteur 5HT1A. Ainsi, nos résultats indiquent que le début de l'action antidépressive peut être raccourci par l'exercice physique volontaire et identifient deux processus cellulaires potentiellement impliqués dans la réponse antidépressive. Ces résultats ouvrent la voie à la mise en œuvre de stratégies non-pharmacologiques pour améliorer l'efficacité des antidépresseurs monoaminergiques.

The onset of venlafaxine antidepressant action is shortened by voluntary physical exercise: adult neurogenesis and monoaminergic systems are two processes potentially involved

Basile Coutens[(1)], Romane Giraud[(1)], Juliana Pi Macedo[(1)], Bruno Guiard[(1)*], Claire Rampon[(1)*]

[(1)] Centre de Recherches sur la Cognition Animale (CRCA), Centre de Biologie Intégrative (CBI),

CNRS UMR5169, Toulouse, France

[(*)] Corresponding authors: claire.rampon@univ-tlse3.fr and bruno.guiard@univ-tlse3.fr; tel +33(0)561556429

Keywords: venlafaxine, physical exercise, adult neurogenesis, hippocampus, memory, depression

ABSTRACT

While antidepressant drugs produce beneficial effects in depressed patients, they also have important limitations, including a long delay of action. Evidence demonstrates the beneficial effects of physical exercise on mental health in clinical and preclinical studies. However, whether exposure to voluntary physical exercise allows to reduce the delay of action of currently available antidepressant drugs remains unknown. In the present study, we characterized the effects of chronic voluntary exercise combined with venlafaxine treatment, in the corticosterone (CORT)-exposed mouse model of depression. We also explored neurobiological mechanisms that might support beneficial effects of this combined therapy. First, we confirmed that venlafaxine reverses CORT-induced depressive-like phenotype after a long-term (i.e., 8 weeks) but not short-term (i.e., 2 weeks) administration. We then showed that physical exercise alone or combined with venlafaxine produced beneficial effects on emotional impairments in depressed mice as early as 2 weeks of treatment. Addressing the underpinnings neurobiological mechanisms, we found that the combination of physical exercise and venlafaxine results in early stimulation of adult hippocampal neurogenesis and triggers functional desensitization of the inhibitory 5HT1A autoreceptor. Thus, our results indicate that the onset of antidepressant action can be shortened by chronic running wheel and identify two cellular processes potentially involved in the antidepressant response. These findings pave the way to the implementation of non-pharmacological strategies to improve the efficacy of monoaminergic antidepressant drugs.

INTRODUCTION

Major depressive disorder (MDD) is characterized by a persistent low mood associated with other core symptoms, including suicidal ideation, loss of mental and physical energy, feelings of guilt, anhedonia, anxiety, and cognitive deficits (Malhi and Mann, 2018). According to the World Health Organization (WHO), this psychiatric disease affects 300 million people worldwide which make it one of the leading causes of the global burden of disease.

The pathophysiology of MDD relies on the combination of genetic and environmental factors such as sedentary lifestyle, poor diet and psychosocial stress (Lopizzo et al., 2015; Sarris et al., 2020). Mechanistically, evidence shows that MDD results from a dysregulation of neurotransmission leading to brain monoamines deficiency but also altered glutamatergic and GABAergic tones impacting the Excitatory/Inhibitory balance in various brain regions (Hasler, 2010).

Currently available antidepressant drugs target these systems notably by restoring normal levels of brain extracellular serotonin (5-HT), norepinephrine (NE) and/or dopamine (DA) levels in response to the pharmacological inhibition of monoaminergic transporters (Pereira and Hiroaki-Sato, 2018). Although selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) and serotonin-norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) such as fluoxetine or venlafaxine relieve depressive symptoms, up to 30% of patients with MDD fail to respond to a first line treatment. Moreover, it is well accepted that SSRIs and SNRIs have a long delay of action (Dierick et al., 1996). Indeed, although these treatments rapidly increase intrasynaptic concentrations of monoamines, their long-term administration is required to enhance adult hippocampal neurogenesis (Hanson et al., 2011) which is a key process for their efficacy (Santarelli et al., 2003). Of note, preclinical studies highlight an overlap between time for neural and progenitor stem cells to become a mature neuron in the hippocampus and the improvement of depressive-like symptoms in response to antidepressant drugs (Toda et al., 2019). The later findings suggest that any additional interventions that may positively affect this process could shorten their delay of action.

Non-pharmacological strategies such as physical exercise can be cost-effective treatments for depressive disorders and usually have little side effects (Schuch and Stubbs, 2019). In clinical as in preclinical studies, physical exercise (Ex) ameliorates depressive symptoms (Lapmanee et al., 2013; Morres et al., 2019). This effect has repeatedly been attributed to a positive action on

adult hippocampal neurogenesis (Nakajima et al., 2010; Wang et al., 2013; Zheng et al., 2006). Although the mechanisms at play are not yet fully understood, several hypotheses have been proposed to explain such beneficial effects. First of all, Ex has been shown to improve peripheral and brain insulin sensitivity (Ryan et al., 2020), which could in turn improve hippocampal neurogenesis (Martin et al., 2021). Interestingly, adiponectin, an insulin-sensitizing hormone secreted by adipose tissue upon Ex, also promotes beneficial effects on emotional behavior and hippocampal adult neurogenesis (Yau et al., 2014). Another interesting hypothesis stipulates that muscle contraction releases myokines such as irisin, PGC-1a or apelin which can cross the blood brain barrier to positively reverberate on hippocampal plasticity (Boström et al., 2012; Lee et al., 2019; Pedersen and Febbraio, 2012). Finally, Ex may have direct effects in the brain since running has been associated to the release of ß-endorphins from the pituitary gland (Colt et al., 1981; Stengaard-Pedersen and Larsson, 1981). ß-endorphins belong to a class of neuropeptides known to increase the release of dopamine in the nucleus accumbens (Spanagel et al., 1991) and are also necessary to the antidepressant-like effects and pro-neurogenic activity of Ex (Koehl et al., 2008).

Based on these observations, we raised the possibility that Ex could shorten the onset of action of antidepressant drugs. To address this issue, we introduced a running wheel into the cages of control and CORT depressed mice treated with venlafaxine (VLX). We then sought to determine the effects of Ex and VLX on several mechanisms associated to antidepressant action, including serotonergic tone and neurogenic process.

In support of our hypothesis, one of the most remarkable results reported herein is that the long delay of action of VLX is shortened by Ex. At the mechanistic level, we found that the positive behavioral effects of such combination are accompanied by an increased survival of adult-born hippocampal cells and a functional desensitization of 5-HT1A inhibitory autoreceptors. Together, our findings indicate that Ex may promote the antidepressant action of VLX by increasing adult neurogenesis in response to stimulation of local serotonergic neurotransmission.

METHODS

2.1. Animals

10-week-old male C57Bl/6Rj mice were housed five per cage under standard conditions with a 12h light/dark cycle (light on at 8:00 a.m) and temperature-controlled room. Food and water were available *ad libitum*. All experimental procedures were conducted in accordance with the European directive 2010/63/EU and were approved by the French Ministry of Research and the local ethics committee (APAFIS # 2018100110245946#16913). Mice from the physical exercise (Ex) conditions were housed in cages equipped with two running wheels.

2.2. Drugs

To induce a depressive-like phenotype, mice were exposed to corticosterone (CORT, Sigma-Aldrich, France, Cat#C2505) dissolved in vehicle (0.45% β-cyclodextrin, Sigma, St Louis, MO) in drinking water for 8 weeks (David et al., 2009), and during all experimental procedures. After 8 weeks of CORT exposure, when the depressive-like phenotype was well installed, the SNRI venlafaxine (Sigma-Aldrich, France, Cat#99300-78-4) dissolved in CORT solution, was delivered in drinking water at a fixed dose of 16 mg/kg. This dose was previously shown to promote antidepressant-like effects by enhancing serotonergic and noradrenergic tones (Bacq et al., 2012). For cell survival analysis, 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) dissolved in 0.9% NaCl (10 mg/ml) was used. Mice received two intraperitoneal injections of BrdU per day, for four days (BrdU; Sigma, St. Louis, MO; 100 mg/kg). Animals were sacrificed 3 or 6 weeks later to evaluate survival of BrdU-labeled cells.

2.3. Behavioral test

Elevated Plus Maze

The maze consists of a cross with two closed arms and two open arms (30 x 10 x 20 cm) that extend from a central platform (10 x 10) elevated 50 cm from the ground. Mice were placed in the center of the platform and the time spent by the animals in closed and open arms was recorded for 5 minutes (bright light in the experimental room was maintained at 25 lux during behavioral assessment). Results were expressed as a percentage of time spent in each arm. The maze was cleaned between each mouse using a 30% ethanol solution to avoid bias due to the olfactory cues.

Object Location

This test is based on the rodents' spontaneous preference for novelty and their ability to remember the location of previously encountered objects (Ennaceur et al., 1997). This test evaluates hippocampal-dependent spatial memory. The day before acquisition, mice were placed for 10 minutes in the empty arena for habituation (50 x 50 cm, 40 cm-high walls with spatial pattern inside, bright light: 25 lux). On the next day, two identical objects were placed in the arena, the time spent exploring each of the two objects was recorded manually during 10-minutes. Between each mouse, the objects and the arena were cleaned with a 30% ethanol solution. Spatial memory was tested 24 h later when one of the two objects was moved to a new location. To assess whether the animal noticed the spatial change, the exploratory preference index was calculated as the percentage of time spent exploring the displaced object related to the total exploration time for both objects during the test phase.

Tail suspension Test

The tail suspension test evaluates the degree of resignation and is commonly used to screen antidepressant-like activity in mice (Steru et al., 1985). Animals were suspended by the tail in a box containing a hook. During this test, the total immobility time was measured for 6 minutes.

Three-chamber test

The three-chamber paradigm test known as Crawley's sociability and preference for social novelty protocol has been employed. "Sociability" in this case is defined as the propensity to spend time with another mouse, as compared to time spent alone in an identical, but empty, chamber. "Preference for social novelty" is defined as the propensity to spend time with a previously unencountered mouse, rather than with a familiar mouse. Each chamber was 25 x 35cm and the dividing walls were made from transparent Plexiglas, with an open middle section, allowing free access to each chamber. Two identical, small cylindrical cages (8 cm diameter) were placed inside the apparatus, one in each side chamber. For habituation, empty cylindrical cages were placed in the middle of the right and left the chamber, and the mouse was placed in the center of the middle chamber and allowed to explore the chambers for 10 minutes freely. For sociability, the next day, a familiar mouse was placed inside one cylindrical cage located in one of the side chambers. The duration of direct contact between the subject mouse and the cage housing the familiar mouse or the empty cage was manually measured for 10 minutes. On the last day, preference for social novelty was evaluated. A familiar mouse was

placed inside a cylindrical cage that was in one of the side chambers, and a new mouse was placed in a cylindrical cage in the other side chamber. For each mouse, the time of direct contact was manually measured for 10 minutes. The percentage of interaction with the new mouse was calculated as follows: [Time of interaction with the new mouse / (Time of interaction with the familiar mouse – Time of interaction with the new mouse)] X 100.

Splash Test

The splash test was performed for 6 min as previously described (David et al., 2009). After squirting 200 µL of a 10% saccharose solution on the back of the mice, latency of first grooming and grooming duration was scored manually as an index of self-care for 5 minutes.

Novelty Suppress Feeding Test

This test evaluates the aversion of rodents to eat in a stressful environment. The animals were placed under food restriction and weighed 24 hours before testing. Before the test, the animals were weighed again to ensure a weight loss of 10%. Then mice were placed in a squared arena containing food on a white filter paper located at the center of the arena under a bright light (~60 W) hanging about 60–80 cm above the food pellet. Latency to start eating was recorded with a cut-off time of 10 min. To rule out any hunger or motivation bias, each mouse was then placed in its home cage in the presence of a pellet for 5 minutes, during which latency to go to feed and food consumption were measured.

Z -score Evaluation

A z-score was calculated to integrate the performance of each animal across the comprehensive battery of behavioral tests. Details and rationale in animal behavior analysis have been described by Guilloux et al.(Guilloux et al., 2011). Two separate z-scores were established to account for the emotional and cognitive aspects of the behavioral measures. In these z-scores, each test is equally weighted. The data integrated in the emotional z-score includes the following parameters: percentage of time spent in open arms (EPM), latency to feed (NSF), immobility time (TST), time of grooming (splash test). The data integrated in the cognitive z-score includes social novelty during the three-chamber test and preference for the displaced object in the object location test. Non-exposed mice (VEH) were used as reference

for z-score establishment. Thus, an increase of z-scores indicates a deterioration in emotional and cognitive performances compared to the VEH group.

2.5. Preparation of fixed tissues

At the end of the behavioral experiment, mice were deeply anesthetized with dolethal and perfused with NaCl for 1 min. Then brains were fixed in 4% paraformaldehyde solution for 48 hours at 4°C and then stored in 30 % sucrose solution with 0.1% sodium azide. Then, floating coronal sections (30µm thick) were prepared with a freezing-stage microtome (Leica SM2010R) and stored in cryoprotectant at 20°C until use.

2.6. Study of cell proliferation

For each animal, series of 1-in-6 sections spanning the hippocampus were washed in PBS containing 0.25% Triton-X-100 (PBST) before quenching endogenous peroxidase with 3% H_2O_2 and 10% methanol in PBST. Sections were then blocked in 5% normal goat serum (NGS) for 2 hours. Next, they were incubated overnight at room temperature in monoclonal Rabbit anti-Ki67 antibody (1/500, M3062 SP6, Eurobio) in PBST containing 5% NGS. The next day, sections were incubated in a solution containing goat anti rabbit biotinylated IgG (1/500, BA1000 Vector). This was followed by amplification for 90 min at room temperature with avidin–biotin–peroxidase complex (1/200, Vectastain® Elite ABC Kit, Vector Laboratories) diluted in PBST. Then, labeling was revealed with DAB (Vector), and the reaction was stopped with PBST-Azide solution. Finally, sections were mounted onto gelatinized slides, counterstained with Nuclear Fast Red (Vector Laboratories) and coverslipped.

2.7. Study of cell survival

Sections were rinsed in PBST, then incubated with 3% H2O2 and 10% methanol in PBST. Then, sections were incubated in 2N HCl for 50 minutes at room temperature to denature DNA and neutralized in 0.1 M borate buffer, pH 8.5. After blockade in 5% normal goat serum (NGS) for 1 hour, sections were incubated overnight in PBST-azide-NGS 5% solution containing rat monoclonal anti-BrdU antibody (1/400, OBTOO30, Biorad). The next day, sections were placed into a solution containing biotinylated goat anti rat IgG (1/400, BA9400 Vector). Amplification, revelation, and mounting were realized as above.

2.8. Quantification of $BrdU^+$ and $Ki67^+$cells

Examination of positively labeled cells was confined to the dentate gyrus spanning the rostrocaudal axis. All immunostained sections were analyzed using a microscope (Leica DM6000B, Germany) equipped with a motorized X–Y sensitive stage and a video camera connected to a computerized image analysis system (ExploraNova, La Rochelle, France). The counting of labeled cells was conducted bilaterally using Mercator v.2 software (ExploraNova) that allows measuring the dentate gyrus sampled surface. Densities of immuno-positive cells were calculated by dividing the number of positive cells by the dentate gyrus sectional volume. The densities of $Ki67^+$ cells and $BrdU^+$ cells were calculated for each section. Moreover, a subsequent analysis was realized to separate ventral from dorsal parts of the hippocampus. It is important to note that cell proliferation and survival were realized after behavioral experiments at the long period (8 weeks) while at the short period (2 weeks) animal did not perform behavioral tests. In this way, no comparison could be done under the two periods.

2.8. 8-OH-DPAT induced hypothermia

Body temperature was measured from 9 to 12 am by gently inserting a microprobe thermometer (Ugo Basile, Varese,Italy) into mice rectum. Digital recordings of the temperatures were obtained with an accuracy of ± 0.1°C. Temperatures were measured before (t_{-10} and t_0 minutes) and after (t_{30} min) the subcutaneous (s.c.) administration of the 5-HT1A autoreceptor agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OH-DPAT, Sigma-Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) at a dose of 300 µg/kg at the end of the first behavioral set. The first insertion (t_{-10}) of the rectal probe is a stressful event known to induce an hyperthermic response. Hypothermic response was then produced by the administration of 8-OH-DPAT and this hypothermia was calculated as percent of decrease of rectal temperature observed 30 minutes after 8-OH-DPAT administration relative to t_0.

2.8. Statistical analysis

All data were expressed as mean ± standard error of the mean (SEM) unless stated otherwise. Analyses were performed using GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, United States) and compared by one-way or two-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc tests when appropriate. Statistical values were indicated in figure legend. The

analyzing statistic difference was indicated in the figure legends. Null hypothesis was rejected when $p < 0.05$.

RESULTS

Physiological alterations induced by long-term CORT exposure

Mice chronically exposed to CORT were used to model a depressive-like phenotype (Fig. 1A). Given that CORT is a powerful regulator of energy metabolism, we used typical physiological endpoints to confirm that mice were impregnated with this stress hormone. As expected, we observed that long-term exposure to this glucocorticoid increased body weight (Fig. 1B). Indeed, CORT-exposed mice had a significantly higher body weight compared to the control group (VEH) but also compared to CORT-exposed mice receiving the different therapeutic strategies. Interestingly, physical exercise (Ex) induced a robust weight loss immediately after the introduction of the running wheels into the cages at week 0 (CORT-Ex and CORT-VLX-Ex).
As previously described (Mendez-David et al., 2017), our result show that CORT exposure also resulted in a progressive and significant deterioration of the animals' coat state compared to control mice (Fig. 1C). However, this parameter was not reversed by any of the therapeutic strategies.
Finally, by testing the reactivity of the HPA axis using stress-induced hyperthermia, we showed that insertion of a rectal probe resulted in a significant increase in body temperature in control mice, whereas this response was attenuated in CORT mice. Interestingly, hyperthermia in mice exposed to CORT was restored by VLX, Ex or their combination (Fig. 1D). The latter findings highlight a lack of HPA axis reactivity specifically in CORT-exposed mice and consequently point to a dysfunction of the HPA axis, while the therapeutic intervention restores a normal response at the end of first round of behavioral testing (i.e., after 2 weeks).

The emotional state of CORT mice is rapidly improved by exercise or by prolonged treatment with venlafaxine, alone or combined with exercise

We then sought to determine the influence of each therapeutic strategy on the improvement of the emotional state of animals after 2 and 8 weeks of treatments (Fig. 2A).

We first confirmed that chronic exposure to CORT promoted behavioral anomalies recapitulating core symptoms of depression including anxiety, resignation and impaired self-care compared to control mice in the elevated plus maze (EPM), the novelty suppressed feeding (NSF), the splash test (ST) and the tail suspension test (TST), respectively (Fig. S1). These findings are consistent with our previous report (Coutens et al., submitted).

After 2 weeks of treatment, VLX alone did not reverse the anxiogenic effect of CORT in the EPM. Interestingly, mice exposed to physical exercise (CORT-Ex or CORT-VLX-Ex) showed an increased anxiety compared to CORT mice housing without running wheels (CORT-VEH or CORT-VLX) (Fig. 2B). On the contrary, in the NSF, all therapeutic strategies reversed CORT-induced hyponeophagia as evidenced by the decrease in the latency to feed (Fig. 2D). It is noteworthy that none of these strategies impacted consumption in the home cage after the test, ruling out an effect on hunger (data not shown). Lastly, all three strategies failed to reverse CORT-induced self-care impairments and resignation as reflected by the time of grooming and immobility time in the ST and TST, respectively (Fig. 2F, H).

To integrate these behavioral profiles into a single value as human scales do, emotional z-score was calculated for each individual and standardized to control VEH mice values (see methods). This method confirmed that CORT exposure caused a depressive-like state, as evidenced by the higher z-score of CORT mice compared to VEH group (Fig S1E, J). Interestingly, post-hoc test revealed that a 2-week treatment with VLX alone or combined with Ex had no beneficial effect on the emotional z-score, whereas Ex alone improved this score compared to CORT-exposed mice (Fig. 2J).

The behavioral performances of mice were then assessed after 8 weeks of VLX, Ex or their combination. After 8 weeks of treatment, we found that VLX reversed CORT-induced anxiety in the EPM, whereas the anxiogenic effect of Ex persisted with or without VLX (Fig. 2C). In contrast, VLX or Ex or their combination had anxiolytic and antidepressant-like effects in the novelty-suppressed feeding test and splash test (Fig. 2G, E). A lack of significant effects was observed in the tail suspension test (Fig. 2I). Regarding the z-scores, it appears that VLX alone or combined with Ex abolished the anxio/depressive-like phenotype of depressed-CORT mice compared to control mice (VEH).

Overall, our data show that a 2-weeks period of Ex partially improves the emotional state of depressed mice whereas VLX or its combination with Ex fail to do so. However, a significant antidepressant-like effect of VLX is observed after 8 weeks of treatment. Consequently, the

data presented herein demonstrate that the beneficial effects of Ex are observed before those of the VLX, suggesting that the combination of the two interventions may be appropriate in the early phase of treatment.

Cognitive performance of CORT mice models of depression is improved by short-term combined venlafaxine and exercise treatment

In addition to emotional alterations, the chronic exposure to CORT also results in cognitive deficits (Darcet et al., 2014). We therefore assessed the cognitive performances of CORT mice in our task battery and then measured the impact of VLX and Ex therapeutic strategies on cognition (Fig. 3A).

Unlike control mice, CORT-depressed mice showed no preference for the displaced object in the object location test (Fig S2A-B) and no preference for the novel mouse in the three-chambers test (Fig. S2C-D), respectively reflecting altered spatial memory and social recognition. This results in a significantly higher cognitive z-score for CORT compared to control VEH mice (Fig. S2E-F).

After 2 weeks of VLX or Ex, spatial memory and social recognition of CORT mice remained impaired (Fig. 3B, D). VLX and Ex combination reinstated social recognition in the three-chamber test but had no effect in the object location test (Fig. 3B, D). Neither venlafaxine nor Ex, nor their combination, abolished cognitive deficits in depressed mice (Fig 3F).

After 8 weeks of treatments, all three strategies restored spatial memory in the depressed mice as evidenced by the mice's exploratory preference for the moved object (Fig 3C). In the social recognition test, only the VLX treatment reversed the effect of CORT (Fig3E). Cognitive z-score analysis revealed that 8 weeks of VLX treatment alone or combined to Ex led to an improvement in cognitive performances, as evidenced by a significant decrease in cognitive z-scores of treated mice compared to CORT mice, while Ex alone had not beneficial effects.

Altered cell proliferation in the DG of the mouse CORT model of depression is reversed by the long-term combination of venlafaxine and physical exercise

We then investigated the cellular mechanisms that might underlie the behavioral effects observed of the therapeutic strategies. In particular, we raised the possibility that adult-born

hippocampal neurons contributed to emotional and cognitive behavior reported in this study. To do so, we first evaluated cell proliferation in the DG after 2- and 8- weeks of treatment (Fig. 4A). In line with previous work describing the effect of chronic stress on cell proliferation (Surget et al., 2008), we confirmed that long-term exposure to CORT reduced the numbers of Ki67-labeled (Ki67+) cells in the ventral and dorsal DG (Fig. 4B, E). Treating CORT-depressed mice for 2 weeks with each of the therapeutic strategies, we showed that none of them could restore DG cell proliferation to the level of control mice (Fig. 4B, D). Of note, VLX tended to worsen the cell proliferation deficit of CORT mice (Fig. 4B, D). However, after 8 weeks of a treatment, combining VLX and Ex rescued the deficit of cell proliferation in the dorsal and ventral DG (Fig 4D, E). Similar effect was observed with VLX alone on cell proliferation specifically in the ventral DG (Fig. 4E-G).

Short-term combination of venlafaxine and exercise improves adult-born cell survival in the DG of mouse models of depression

It is well known that not all newborn cells will survive in the adult DG, and that their survival is finely regulated by several factors. Therefore, we investigated the effects of the different therapeutic strategies on the survival of adult-born cells in the dentate gyrus of CORT-depressed mice. We used BrdU to label and follow adult-born cells, which survival was analyzed 3 or 6 weeks after BrdU injection, in short- or long-term treatment experiments respectively (Fig 5A, B). At 3 weeks of age, new neurons are in the critical period when they establish dendritic spines and synaptic connections and undergo selective survival (Aasebø et al., 2011). At 6 week of age, new neurons are functionally integrated into the neural networks and may contribute to cognitive processes. Although CORT decreased cell proliferation, it had no effect on the survival of 3- nor 6-week-old BrdU-labeled (BrdU+) cells in the dentate gyrus of depressed mice (Fig. 5C,F). After 2 weeks of therapeutic strategies, we found that the combination of VLX with Ex significantly increased cell survival in the ventral and dorsal dentate gyrus of depressed mice, while each strategy applied separately did not achieve this effect (Fig. 5C-D). After 8 weeks of treatments, the survival of 6-week-old BrdU+ cells in the dentate gyrus of depressed mice was significantly increased by Ex alone, or combined with VLX, compared to control and CORT mice (Fig. 5E,F). This likely reflects a well-known beneficial effect of voluntary running on cell survival (van Praag et al., 1999).

Short term combination of venlafaxine and physical exercise is sufficient to desensitize inhibitory 5-HT1A autoreceptor

After acute treatment, the increase in 5-HT transmission is dampened by a decrease in firing of 5-HT neurons because 5-HT reuptake is also inhibited at their cell body level where 5-HT1A autoreceptors are located (Blier and de Montigny, 1985). This autoreceptor desensitizes over the course of several weeks of SSRI administration, thus allowing a recovery to normal of the firing of 5-HT neurons in the presence of reuptake inhibition. This results in a marked increase in 5-HT transmission in projecting areas because 5-HT release is highly dependent on firing. The desensitization of the 5-HT1A autoreceptor thus corresponds in time with the onset of action of SSRI in depression (Richardson-Jones et al., 2010). In this part of the study, we compared the desensitization capacity of 5-HT1A autoreceptors in depressed mice subjected to different therapeutic strategies. To this end, by means of a paradigm commonly used to study the functional activity of the 5-HT1A receptor, we evaluated the ability of 8-OHDPAT, a 5-HT1A receptor agonist, to decrease the body temperature of mice (Fig. 6A) (Olivier et al., 2003). We found that 8-OHDPAT induced hypothermia in all experimental groups, with a weaker response specifically detected in mice treated with the VLX and Ex combination compared to control mice. Thus, it appears that the level of 5-HT1A autoreceptor desensitization is more pronounced in mice subjected to VLX and Ex strategy combined (Fig. 6B).

DISCUSSION

In this work, we analyzed the influence of physical exercise (Ex) on the effects of antidepressant treatment with venlafaxine (VLX) in depressed mice exposed to corticosterone. First, we confirmed that venlafaxine produces antidepressant-like effects in this mouse model of depression after long-term administration (i.e., 8 weeks) but fails to do so after a shorter period (i.e., 2 weeks). Then we found that Ex alone or combined with venlafaxine produces early beneficial effects on depressed mice ‘s emotional state while it does not rescue their cognitive impairment. By exploring the neurobiological mechanisms involved, we found that the

combination of Ex and venlafaxine results in enhanced adult hippocampal neurogenesis and appears to promote monoaminergic neurotransmission in the brain.

In the present study, we used chronic exposure to CORT to elicit a robust depressive-like phenotype in mice. In line with previous studies (Darcet et al., 2014; David et al., 2009), our results confirm that CORT mice display high emotional and cognitive z-scores reflecting depressive-like phenotype. We then tested the impact of 2 and 8 weeks of different therapeutic strategies on behavioral parameters. Strong evidence show that long-term antidepressant treatment is required to observe the first signs of therapeutic response in MDD (Blier, 2001). Consistent with these clinical data, such a long delay of action is also observed in mouse models of depression, notably during treatment with venlafaxine (Wang et al., 2011; Bacq et al., 2012; Venzala et al., 2012). Here we show that an 8-week treatment with venlafaxine abolishes CORT-induced behavioral deficits in mice, whereas 2 weeks of this treatment are insufficient to generate behavioral improvements measured by emotional and cognitive z-scores. Because non-pharmacological strategies, such as sports or cognitive therapies, have a beneficial effect on mood disorder in humans (Wiles et al., 2013; Morres et al., 2019), these therapies have been studied in rodents, notably using an enriched environment. Typically, the enriched environment provides a wide range of physical, social, and cognitive stimuli to rodents (Kempermann, 2019; Van de Weerd et al., 2002) and is commonly associated with antidepressant-like and pro-cognitive effects in naïve and depressed mice (Kempermann and Gage, 1999; Lapmanee et al., 2013; Nicolas et al., 2015; Huang et al., 2018; Brenes et al., 2020). We recently showed that an enriched environment also improves the effects of antidepressant drugs (Coutens et al., 2022, submitted). In light of these considerations, we now examined whether the exercise component alone could potentiate the antidepressant response of venlafaxine. Our results indicate that Ex produces an early (i.e., 2 weeks) but weak beneficial effect on the emotional state of depressed mice, while no influence on cognitive performances were observed. Interestingly, the combination of venlafaxine with Ex induces an early recovery of emotional state, although statistical analysis did not allow us to compare with the CORT group. Furthermore, at the cognitive level, we found that the combination of venlafaxine with Ex had observable beneficial effects as early as two weeks of treatment in the three chamber tests.

We then sought to identify the neurobiological mechanisms involved in the antidepressant-like effects of these different therapeutic strategies. Most of pharmacological treatments currently

used to relieve the symptoms of depression increase monoaminergic neurotransmission (Perez-Caballero et al., 2019). In particular, a key feature of SSRIs and SNRIs is that they interfere with the negative feedback from the 5-HT1A somatodendritic autoreceptors. It is well described that the onset of action of antidepressant drugs coincides with the time required for conventional antidepressants, such as venlafaxine, to produce desensitization of this inhibitory molecular element of somatodendritic 5-HT1A autoreceptors (Béïque et al., 2000; Blier et al., 1998). For example, it was reported that the specific inactivation of the somatodendritic 5-HT1A autoreceptor in the dorsal raphe shortens the neurochemical and behavioral activities of the SSRI fluoxetine from 4 to 1 weeks of treatment (Richardson-Jones et al., 2010). In order to evaluate the functional activity of the 5-HT1A autoreceptors under the different strategies, we used the 8-OHDPAT-induced hypothermia test (Rainer et al., 2012). Remarkably, compared to control mice, the hypothermic response to 8-OHDPAT was attenuated in all CORT-exposed mice, but this reached statistical significance only in the mice receiving the venlafaxine and Ex combination. These results corroborate the fact that Ex may potentiate the ability of venlafaxine to desensitize the 5-HT1A receptors thereby enhancing serotoninergic neurotransmission at nerve terminals. Although evidence suggests that Ex can also act on other monoaminergic systems (Dremencov et al., 2017).

It was shown that enhancement of serotonergic neurotransmission increases brain-derived neurotrophic factor (BDNF) synthesis and signaling (Nibuya et al., 1995), a major event in the stimulation of adult neurogenesis and antidepressant response (Santarelli et al., 2003; Yau et al., 2011). We thus examined adult neurogenesis in the hippocampus of depressed CORT mice under different therapies. Adult neurogenesis in a multistep process including cell proliferation, cell differentiation into neuronal/glial fate and cell survival. Although the existence of adult hippocampal neurogenesis in human remains controversial (Moreno-Jiménez et al., 2021), the alteration of adult neurogenesis could be a hallmark of depression in preclinical models (Miller and Hen, 2015). In our work, we found that CORT exposure decreases cell proliferation rate while sparing new cell survival, as previously described (David et al., 2009). This effect is robust and is maintained regardless of the time of exposure to CORT. However, the number of adult-born cells surviving is conditioned by cell proliferation rate at the moment of BrdU injections. Cell proliferation is reduced in CORT-exposed mice that nevertheless have the same number of surviving BrdU+ cells. This likely reflects an increase in survival in the CORT-exposed mice. To

test this possibility, the specific effect of CORT should be examined by injecting BrdU prior to the initiation of CORT exposure, when cell proliferation is similar across groups.

After 2 weeks, all strategies proved ineffective in restoring cell proliferation to control level. This was unexpected, since there is considerable evidence of positive effects of Ex or VLX on this process, even after a short exposure (Klempin et al., 2013; Martisova et al., 2015). Such discrepancy between our data and the literature could be related to the long exposition to corticosterone, which could impede the observation of such a beneficial effect (Yau et al., 2011). After 8 weeks of treatment, however, venlafaxine and Ex applied separately reversed the effect of CORT on cell proliferation, solely in the ventral part of the dentate gyrus but remained ineffective in its dorsal part. This dichotomy may relate to the regionalization of hippocampal function, most notably the fact that the ventral hippocampus is a close regulator of emotion, whereas the dorsal part processes cognition (Fanselow and Dong, 2010; Tanti and Belzung, 2013). This dorsal/ventral dissociation was confirmed using brain tissue oxygen amperometry. In particular, it was shown that activation of the dorsal hippocampus is associated with spatial processing and the ventral part to anxiety-related behavior (McHugh et al., 2011). However, the lack of neurogenic effect in the dorsal hippocampus does not explain the beneficial cognitive effects, suggesting that other cellular substrates are involved. In the meantime, VLX and EE combination induces a net increase of cell proliferation in the whole hippocampus, revealing a potentiating effect of this strategy. This positive effect was also observed on cell survival, as early as two weeks, whereas physical exercise alone (but not venlafaxine) showed such effect after only 8 weeks of treatment. Once again, the lack of positive effects of venlafaxine on the survival of new hippocampal cells suggests that another mechanism is involved in the improvement of emotional state by VLX in depressed mice. However, our evaluation of new cell proliferation and survival does not provide any indication about the functionality of these cells. It could be interesting to study the complexity of their dendritic arborization to estimate their integration in the pre-existing networks. This would make sense given that it is known that antidepressant such as fluoxetine and physical exercise may enhance this process are known and that there is to date no work addressing the effect of their combination (Wu et al., 2008; David et al., 2009).

The beneficial effects of therapeutic strategies could also be sustained by physiological modulations originating from peripheral organs. Several mechanisms can account for the beneficial effects of Ex alone or combined with VLX. One of them relies on the ability of Ex to

improve peripheral and central insulin sensitivity (Ryan et al., 2020). There are different levels of evidence to suggest that insulin signaling might positively reverberate on adult hippocampal neurogenesis and/or emotional state. For example, the insulin receptor is located on monoaminergic neurons and its activation on this neuronal population specifically induces antidepressant-like effects in mice (Martin et al., 2022, submitted). It is also noteworthy that the insulin receptor is located in the hippocampus, where it favors stem cell proliferation and new-born neurons survival (Martin et al., 2021). Particularly relevant in the context of the present study, it was shown that the insulin sensitizing drug (Metformin) potentiates the antidepressant-like effects of the SSRI fluoxetine on stress-related behavioral responses (Poggini et al., 2019; Zhou et al., 2020). Physical exercise allows muscle contraction which results in the release of different molecules named myokines (Lee et al., 2019) including, but not restricted to, irisin (Boström et al., 2012). In human, 12-week of exercise training can increase circulating irisin levels in adults (Kim et al., 2015), while 1-h exercise can elevate the plasma irisin levels for 12 h in rodents (Pang et al., 2018). Moreover, 6 weeks of voluntary wheel running can significantly increase irisin levels in the brain, and this correlates with the anxiolytic effect of wheel running (Uysal et al., 2018). Other factors are increased in response to Ex, such as Fndc5 and BDNF, and their overexpression in the liver (to mimic running wheel effects) elevates blood irisin levels and hippocampal BDNF (Wrann et al., 2013). All these imply that irisin is a potential mediator of exercise to promote hippocampal neurogenesis (Pedersen, 2019). Another myokine which could be related to the beneficial effect observed in our present work is osteocalcin. Physical training increases osteocalcin levels in humans and rodents (Mera et al., 2016; Pernambuco et al., 2013) and evidence suggests its role in enhancing brain monoaminergic neurotransmission and related emotional and cognitive behaviors (Oury et al., 2013). Another mediator released during Ex is lactate. This organic acid is produced by muscles and can cross the blood– brain barrier (BBB) (Pierre and Pellerin, 2005). Recent evidence suggests that the systemic injection of lactate promotes antidepressant-like effect in CORT animals (Carrard et al., 2018) and enhances cognition by modulating cerebral plasticity such as neurogenesis (Huang et al., 2021; Karnib et al., 2019). These are example by which Ex could exert beneficial effects by its own, or in combination with currently available antidepressant drugs. Further preclinical and clinical experiments are warranted to precise the mechanism of action of Ex on treatment response and to determine whether it produces additive or synergetic effects to antidepressant drugs.

REFERENCES

Aasebø, I.E.J., Blankvoort, S., Tashiro, A., 2011. Critical maturational period of new neurons in adult dentate gyrus for their involvement in memory formation. Eur J Neurosci 33, 1094–1100. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07608.x

Bacq, A., Balasse, L., Biala, G., Guiard, B., Gardier, A.M., Schinkel, A., Louis, F., Vialou, V., Martres, M.-P., Chevarin, C., Hamon, M., Giros, B., Gautron, S., 2012. Organic cation transporter 2 controls brain norepinephrine and serotonin clearance and antidepressant response. Mol Psychiatry 17, 926–939. https://doi.org/10.1038/mp.2011.87

Béïque, J., de Montigny, C., Blier, P., Debonnel, G., 2000. Effects of sustained administration of the serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor venlafaxine: I. in vivo electrophysiological studies in the rat. Neuropharmacology 39, 1800–1812. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(00)00017-4

Blier, P., 2001. Pharmacology of rapid-onset antidepressant treatment strategies. J Clin Psychiatry 62 Suppl 15, 12–17.

Blier, P., de Montigny, C., 1985. Serotoninergic but not noradrenergic neurons in rat central nervous system adapt to long-term treatment with monoamine oxidase inhibitors. Neuroscience 16, 949–955. https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90107-1

Blier, P., Piñeyro, G., el Mansari, M., Bergeron, R., de Montigny, C., 1998. Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. Ann N Y Acad Sci 861, 204–216. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1998.tb10192.x

Boström, P., Wu, J., Jedrychowski, M.P., Korde, A., Ye, L., Lo, J.C., Rasbach, K.A., Boström, E.A., Choi, J.H., Long, J.Z., Kajimura, S., Zingaretti, M.C., Vind, B.F., Tu, H., Cinti, S., Højlund, K., Gygi, S.P., Spiegelman, B.M., 2012. A PGC1-α-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature 481, 463–468. https://doi.org/10.1038/nature10777

Brenes, J.C., Fornaguera, J., Sequeira-Cordero, A., 2020. Environmental Enrichment and Physical Exercise Attenuate the Depressive-Like Effects Induced by Social Isolation Stress in Rats. Front Pharmacol 11, 804. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00804

Carrard, A., Elsayed, M., Margineanu, M., Boury-Jamot, B., Fragnière, L., Meylan, E.M., Petit, J.-M., Fiumelli, H., Magistretti, P.J., Martin, J.-L., 2018. Peripheral administration of lactate produces antidepressant-like effects. Mol Psychiatry 23, 392–399. https://doi.org/10.1038/mp.2016.179

Colt, E.W., Wardlaw, S.L., Frantz, A.G., 1981. The effect of running on plasma beta-endorphin. Life Sci 28, 1637–1640. https://doi.org/10.1016/0024-3205(81)90319-2

Darcet, F., Mendez-David, I., Tritschler, L., Gardier, A.M., Guilloux, J.-P., David, D.J., 2014. Learning and memory impairments in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression. Front Behav Neurosci 8, 136. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00136

David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.-W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guiard, B.P., Guilloux, J.-P., Artymyshyn, R.P., Gardier, A.M., Gerald, C., Antonijevic, I.A., Leonardo, E.D., Hen, R., 2009. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron 62, 479–493. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.04.017

Dierick, M., Ravizza, L., Realini, R., Martin, A., 1996. A double-blind comparison of venlafaxine and fluoxetine for treatment of major depression in outpatients. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 20, 57–71. https://doi.org/10.1016/0278-5846(95)00292-8

Dremencov, E., Csatlósová, K., Durišová, B., Moravcíková, L., Lacinová, L., Ježová, D., 2017. Effect of Physical Exercise and Acute Escitalopram on the Excitability of Brain Monoamine Neurons: In Vivo Electrophysiological Study in Rats. Int J Neuropsychopharmacol 20, 585–592. https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx024

Ennaceur, A., Neave, N., Aggleton, J.P., 1997. Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. Exp Brain Res 113, 509–519. https://doi.org/10.1007/pl00005603

Fanselow, M.S., Dong, H.-W., 2010. Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? Neuron 65, 7–19. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031

Guilloux, J.-P., Seney, M., Edgar, N., Sibille, E., 2011. Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: relevance to emotionality and sex. J Neurosci Methods 197, 21–31. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2011.01.019

Hanson, N.D., Owens, M.J., Nemeroff, C.B., 2011. Depression, antidepressants, and neurogenesis: a critical reappraisal. Neuropsychopharmacology 36, 2589–2602. https://doi.org/10.1038/npp.2011.220

Hasler, G., 2010. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? World Psychiatry 9, 155–161. https://doi.org/10.1002/j.2051-5545.2010.tb00298.x

Huang, Y.-Q., Wu, C., He, X.-F., Wu, D., He, X., Liang, F.-Y., Dai, G.-Y., Pei, Z., Xu, G.-Q., Lan, Y., 2018. Effects of Voluntary Wheel-Running Types on Hippocampal Neurogenesis and Spatial Cognition in Middle-Aged Mice. Front Cell Neurosci 12, 177. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00177

Huang, Z., Zhang, Y., Zhou, R., Yang, L., Pan, H., 2021. Lactate as Potential Mediators for Exercise-Induced Positive Effects on Neuroplasticity and Cerebrovascular Plasticity. Front Physiol 12, 656455. https://doi.org/10.3389/fphys.2021.656455

Karnib, N., El-Ghandour, R., El Hayek, L., Nasrallah, P., Khalifeh, M., Barmo, N., Jabre, V., Ibrahim, P., Bilen, M., Stephan, J.S., Holson, E.B., Ratan, R.R., Sleiman, S.F., 2019. Lactate is an antidepressant that mediates resilience to stress by modulating the hippocampal levels and activity of histone deacetylases. Neuropsychopharmacology 44, 1152–1162. https://doi.org/10.1038/s41386-019-0313-z

Kempermann, G., 2019. Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. Nat Rev Neurosci 20, 235–245. https://doi.org/10.1038/s41583-019-0120-x

Kempermann, G., Gage, F.H., 1999. Experience-dependent regulation of adult hippocampal neurogenesis: effects of long-term stimulation and stimulus withdrawal. Hippocampus 9, 321–332. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:3<321::AID-HIPO11>3.0.CO;2-C

Kim, H.-J., So, B., Choi, M., Kang, D., Song, W., 2015. Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. Exp Gerontol 70, 11–17. https://doi.org/10.1016/j.exger.2015.07.006

Klempin, F., Beis, D., Mosienko, V., Kempermann, G., Bader, M., Alenina, N., 2013. Serotonin is required for exercise-induced adult hippocampal neurogenesis. J Neurosci 33, 8270–8275. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5855-12.2013

Koehl, M., Meerlo, P., Gonzales, D., Rontal, A., Turek, F.W., Abrous, D.N., 2008. Exercise-induced promotion of hippocampal cell proliferation requires beta-endorphin. FASEB J 22, 2253–2262. https://doi.org/10.1096/fj.07-099101

Lapmanee, S., Charoenphandhu, J., Charoenphandhu, N., 2013. Beneficial effects of fluoxetine, reboxetine, venlafaxine, and voluntary running exercise in stressed male rats with anxiety- and depression-like behaviors. Behav Brain Res 250, 316–325. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.018

Lee, T.H.-Y., Formolo, D.A., Kong, T., Lau, S.W.-Y., Ho, C.S.-L., Leung, R.Y.H., Hung, F.H.-Y., Yau, S.-Y., 2019. Potential exerkines for physical exercise-elicited pro-cognitive effects: Insight from clinical and animal research. Int Rev Neurobiol 147, 361–395. https://doi.org/10.1016/bs.irn.2019.06.002

Lopizzo, N., Bocchio Chiavetto, L., Cattane, N., Plazzotta, G., Tarazi, F.I., Pariante, C.M., Riva, M.A., Cattaneo, A., 2015. Gene–Environment Interaction in Major Depression: Focus on Experience-Dependent Biological Systems. Front Psychiatry 6, 68. https://doi.org/10.3389/fpsyt.2015.00068

Malhi, G.S., Mann, J.J., 2018. Depression. Lancet 392, 2299–2312. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31948-2

Martin, H., Bullich, S., Guiard, B.P., Fioramonti, X., 2021. The impact of insulin on the serotonergic system and consequences on diabetes-associated mood disorders. J Neuroendocrinol 33, e12928. https://doi.org/10.1111/jne.12928

Martisova, E., Aisa, B., Tordera, R.M., Puerta, E., Solas, M., Ramirez, M.J., 2015. Venlafaxine reverses decreased proliferation in the subventricular zone in a rat model of early life stress. Behav Brain Res 292, 79–82. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.05.059

McHugh, S.B., Fillenz, M., Lowry, J.P., Rawlins, J.N.P., Bannerman, D.M., 2011. Brain tissue oxygen amperometry in behaving rats demonstrates functional dissociation of dorsal and ventral hippocampus during spatial processing and anxiety. Eur J Neurosci 33, 322–337. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07497.x

Mendez-David, I., Guilloux, J.-P., Papp, M., Tritschler, L., Mocaer, E., Gardier, A.M., Bretin, S., David, D.J., 2017. S 47445 Produces Antidepressant- and Anxiolytic-Like Effects through Neurogenesis Dependent and Independent Mechanisms. Front Pharmacol 8, 462. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00462

Mera, P., Laue, K., Ferron, M., Confavreux, C., Wei, J., Galán-Díez, M., Lacampagne, A., Mitchell, S.J., Mattison, J.A., Chen, Y., Bacchetta, J., Szulc, P., Kitsis, R.N., de Cabo, R., Friedman, R.A., Torsitano, C., McGraw, T.E., Puchowicz, M., Kurland, I., Karsenty, G., 2016. Osteocalcin Signaling in Myofibers Is Necessary and Sufficient for Optimum Adaptation to Exercise. Cell Metab 23, 1078–1092. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.05.004

Miller, B.R., Hen, R., 2015. THE CURRENT STATE OF THE NEUROGENIC THEORY OF DEPRESSION AND ANXIETY. Curr Opin Neurobiol 0, 51–58. https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.08.012

Moreno-Jiménez, E.P., Terreros-Roncal, J., Flor-García, M., Rábano, A., Llorens-Martín, M., 2021. Evidences for Adult Hippocampal Neurogenesis in Humans. J Neurosci 41, 2541–2553. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0675-20.2020

Morres, I.D., Hatzigeorgiadis, A., Stathi, A., Comoutos, N., Arpin-Cribbie, C., Krommidas, C., Theodorakis, Y., 2019. Aerobic exercise for adult patients with major depressive disorder in mental health services: A systematic review and meta-analysis. Depress Anxiety 36, 39–53. https://doi.org/10.1002/da.22842

Nakajima, S., Ohsawa, I., Ohta, S., Ohno, M., Mikami, T., 2010. Regular voluntary exercise cures stress-induced impairment of cognitive function and cell proliferation accompanied by increases in cerebral IGF-1 and GST activity in mice. Behav Brain Res 211, 178–184. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.028

Nibuya, M., Morinobu, S., Duman, R.S., 1995. Regulation of BDNF and trkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. J Neurosci 15, 7539–7547.

Nicolas, S., Veyssière, J., Gandin, C., Zsürger, N., Pietri, M., Heurteaux, C., Glaichenhaus, N., Petit-Paitel, A., Chabry, J., 2015. Neurogenesis-independent antidepressant-like effects of enriched environment is dependent on adiponectin. Psychoneuroendocrinology 57, 72–83. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.03.017

Olivier, B., Zethof, T., Pattij, T., van Boogaert, M., van Oorschot, R., Leahy, C., Oosting, R., Bouwknecht, A., Veening, J., van der Gugten, J., Groenink, L., 2003. Stress-induced hyperthermia and anxiety: pharmacological validation. Eur J Pharmacol 463, 117–132. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01326-8

Oury, F., Khrimian, L., Denny, C.A., Gardin, A., Chamouni, A., Goeden, N., Huang, Y., Lee, H., Srinivas, P., Gao, X.-B., Suyama, S., Langer, T., Mann, J.J., Horvath, T.L., Bonnin, A., Karsenty, G., 2013. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. Cell 155, 228–241. https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.042

Pang, M., Yang, J., Rao, J., Wang, H., Zhang, J., Wang, S., Chen, X., Dong, X., 2018. Time-Dependent Changes in Increased Levels of Plasma Irisin and Muscle PGC-1α and FNDC5 after Exercise in Mice. Tohoku J Exp Med 244, 93–103. https://doi.org/10.1620/tjem.244.93

Pedersen, B.K., 2019. Physical activity and muscle-brain crosstalk. Nat Rev Endocrinol 15, 383–392. https://doi.org/10.1038/s41574-019-0174-x

Pedersen, B.K., Febbraio, M.A., 2012. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. Nat Rev Endocrinol 8, 457–465. https://doi.org/10.1038/nrendo.2012.49

Pereira, V.S., Hiroaki-Sato, V.A., 2018. A brief history of antidepressant drug development: from tricyclics to beyond ketamine. Acta Neuropsychiatr 30, 307–322. https://doi.org/10.1017/neu.2017.39

Perez-Caballero, L., Torres-Sanchez, S., Romero-López-Alberca, C., González-Saiz, F., Mico, J.A., Berrocoso, E., 2019. Monoaminergic system and depression. Cell Tissue Res 377, 107–113. https://doi.org/10.1007/s00441-018-2978-8

Pernambuco, C.S., Borba-Pinheiro, C.J., Vale, R.G. de S., Di Masi, F., Monteiro, P.K.P., Dantas, E.H.M., 2013. Functional autonomy, bone mineral density (BMD) and serum osteocalcin levels in older female participants of an aquatic exercise program (AAG). Arch Gerontol Geriatr 56, 466–471. https://doi.org/10.1016/j.archger.2012.12.012

Pierre, K., Pellerin, L., 2005. Monocarboxylate transporters in the central nervous system: distribution, regulation and function. J Neurochem 94, 1–14. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03168.x

Poggini, S., Golia, M.T., Alboni, S., Milior, G., Sciarria, L.P., Viglione, A., Matte Bon, G., Brunello, N., Puglisi-Allegra, S., Limatola, C., Maggi, L., Branchi, I., 2019. Combined Fluoxetine and Metformin Treatment Potentiates Antidepressant Efficacy Increasing IGF2 Expression in the Dorsal Hippocampus. Neural Plast 2019, 4651031. https://doi.org/10.1155/2019/4651031

Rainer, Q., Nguyen, H.T., Quesseveur, G., Gardier, A.M., David, D.J., Guiard, B.P., 2012. Functional status of somatodendritic serotonin 1A autoreceptor after long-term treatment with fluoxetine in a mouse model of anxiety/depression based on repeated corticosterone administration. Mol Pharmacol 81, 106–112. https://doi.org/10.1124/mol.111.075796

Richardson-Jones, J.W., Craige, C.P., Guiard, B.P., Stephen, A., Metzger, K.L., Kung, H.F., Gardier, A.M., Dranovsky, A., David, D.J., Beck, S.G., Hen, R., Leonardo, E.D., 2010. 5-HT1A autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. Neuron 65, 40–52. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.12.003

Ryan, B.J., Schleh, M.W., Ahn, C., Ludzki, A.C., Gillen, J.B., Varshney, P., Van Pelt, D.W., Pitchford, L.M., Chenevert, T.L., Gioscia-Ryan, R.A., Howton, S.M., Rode, T., Hummel, S.L., Burant, C.F., Little, J.P., Horowitz, J.F., 2020. Moderate-Intensity Exercise and High-Intensity Interval Training Affect Insulin Sensitivity Similarly in Obese Adults. J Clin Endocrinol Metab 105, dgaa345. https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa345

Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., Belzung, C., Hen, R., 2003. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science 301, 805–809. https://doi.org/10.1126/science.1083328

Sarris, J., Thomson, R., Hargraves, F., Eaton, M., de Manincor, M., Veronese, N., Solmi, M., Stubbs, B., Yung, A.R., Firth, J., 2020. Multiple lifestyle factors and depressed mood: a cross-sectional and longitudinal analysis of the UK Biobank (N=84,860). BMC Med 18, 354. https://doi.org/10.1186/s12916-020-01813-5

Schuch, F.B., Stubbs, B., 2019. The Role of Exercise in Preventing and Treating Depression. Curr Sports Med Rep 18, 299–304. https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000000620

Spanagel, R., Herz, A., Bals-Kubik, R., Shippenberg, T.S., 1991. Beta-endorphin-induced locomotor stimulation and reinforcement are associated with an increase in dopamine release in the nucleus accumbens. Psychopharmacology (Berl) 104, 51–56. https://doi.org/10.1007/BF02244553

Stengaard-Pedersen, K., Larsson, L.I., 1981. Comparative immunocytochemical localization of putative opioid ligands in the central nervous system. Histochemistry 73, 89–114. https://doi.org/10.1007/BF00493136

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., Simon, P., 1985. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology (Berl) 85, 367–370. https://doi.org/10.1007/BF00428203

Surget, A., Saxe, M., Leman, S., Ibarguen-Vargas, Y., Chalon, S., Griebel, G., Hen, R., Belzung, C., 2008. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. Biol Psychiatry 64, 293–301. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.02.022

Tanti, A., Belzung, C., 2013. Neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus: are depression and the action of antidepressants region-specific? Neuroscience 252, 234–252. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.08.017

Toda, T., Parylak, S.L., Linker, S.B., Gage, F.H., 2019. The role of adult hippocampal neurogenesis in brain health and disease. Mol Psychiatry 24, 67–87. https://doi.org/10.1038/s41380-018-0036-2

Uysal, N., Yuksel, O., Kizildag, S., Yuce, Z., Gumus, H., Karakilic, A., Guvendi, G., Koc, B., Kandis, S., Ates, M., 2018. Regular aerobic exercise correlates with reduced anxiety and incresed levels of irisin in brain and white adipose tissue. Neurosci Lett 676, 92–97. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.04.023

Van de Weerd, H.A., Aarsen, E.L., Mulder, A., Kruitwagen, C.L.J.J., Hendriksen, C.F.M., Baumans, V., 2002. Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. J Appl Anim Welf Sci 5, 87–109. https://doi.org/10.1207/S15327604JAWS0502_01

van Praag, H., Christie, B.R., Sejnowski, T.J., Gage, F.H., 1999. Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. Proc Natl Acad Sci U S A 96, 13427–13431.

Venzala, E., García-García, A.L., Elizalde, N., Delagrange, P., Tordera, R.M., 2012. Chronic social defeat stress model: behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. Psychopharmacology (Berl) 224, 313–325. https://doi.org/10.1007/s00213-012-2754-5

Wang, J., Chen, X., Zhang, N., Ma, Q., 2013. Effects of exercise on stress-induced changes of norepinephrine and serotonin in rat hippocampus. Chin J Physiol 56, 245–252. https://doi.org/10.4077/CJP.2013.BAB097

Wang, Y., Xiao, Z., Liu, X., Berk, M., 2011. Venlafaxine modulates depression-induced behaviour and the expression of Bax mRNA and Bcl-xl mRNA in both hippocampus and myocardium. Hum Psychopharmacol 26, 95–101. https://doi.org/10.1002/hup.1177

Wiles, N., Thomas, L., Abel, A., Ridgway, N., Turner, N., Campbell, J., Garland, A., Hollinghurst, S., Jerrom, B., Kessler, D., Kuyken, W., Morrison, J., Turner, K., Williams, C., Peters, T., Lewis, G., 2013. Cognitive behavioural therapy as an adjunct to pharmacotherapy for primary care based patients with treatment resistant depression: results of the CoBalT randomised controlled trial. Lancet 381, 375–384. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61552-9

Wrann, C.D., White, J.P., Salogiannnis, J., Laznik-Bogoslavski, D., Wu, J., Ma, D., Lin, J.D., Greenberg, M.E., Spiegelman, B.M., 2013. Exercise induces hippocampal BDNF through a PGC-1α/FNDC5 pathway. Cell Metab 18, 649–659. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.09.008

Wu, C.-W., Chang, Y.-T., Yu, L., Chen, H., Jen, C.J., Wu, S.-Y., Lo, C.-P., Kuo, Y.-M., 2008. Exercise enhances the proliferation of neural stem cells and neurite growth and survival of neuronal progenitor cells in dentate gyrus of middle-aged mice. J Appl Physiol (1985) 105, 1585–1594. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.90775.2008

Yau, S.-Y., Lau, B.W.-M., Tong, J.-B., Wong, R., Ching, Y.-P., Qiu, G., Tang, S.-W., Lee, T.M.C., So, K.-F., 2011. Hippocampal neurogenesis and dendritic plasticity support running-improved spatial learning and depression-like behaviour in stressed rats. PLoS One 6, e24263. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024263

Yau, S.Y., Li, A., Hoo, R.L.C., Ching, Y.P., Christie, B.R., Lee, T.M.C., Xu, A., So, K.-F., 2014. Physical exercise-induced hippocampal neurogenesis and antidepressant effects are mediated by the adipocyte hormone adiponectin. Proc Natl Acad Sci U S A 111, 15810–15815. https://doi.org/10.1073/pnas.1415219111

Zheng, H., Liu, Y., Li, W., Yang, B., Chen, D., Wang, X., Jiang, Z., Wang, H., Wang, Z., Cornelisson, G., Halberg, F., 2006. Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. Behav Brain Res 168, 47–55. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.10.007

Zhou, C., Kong, D., Xue, R., Chen, M., Li, G., Xu, Y., Liu, S., Tian, H., Zhuo, C., 2020. Metformin Enhances Antidepressant/Antipsychotic Combination Therapy of Schizophrenia With Comorbid Depression in a Murine Model. Front Neurosci 14, 517. https://doi.org/10.3389/fnins.2020.00517

LEGENDS

Figure 1. Long-term CORT exposition induces physiological alterations. (A) Experimental timeline. Throughout the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=52) or vehicle (VEH mice, n=17) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received venlafaxine or vehicle for 8 weeks, either in their home cage (CORT-VLX mice, n=12 and CORT-VEH mice, n=13) or in an enriched environment containing running wheels (CORT-Ex mice, n=15 and CORT-Ex-VLX mice, n=13). (B) Weekly monitoring of body weight was performed as well as (C) Evaluation of coat state. A two-way ANOVA with [time x treatment] factors applied for the body weight revealed a significant effect of time, treatment factor and interaction between this factors ($F_{(16;1008)}$=156, $p < 0.001$, $F_{(4;65)}$=10.6, $p < 0.001$, $F_{(64;1008)}$=12.5, $p < 0.001$, respectively). For coat state score, a two-way ANOVA also revealed a significant effect of time factor, treatment and interaction ($F_{(16;1008)}$=120, $p < 0.001$, $F_{(4;65)}$=143, $p < 0.001$, $F_{(64;1008)}$=8.89, $p < 0.001$, respectively). (D) Effect of acute stress induced hyperthermia. A two-way ANOVA with [time x treatment] factors was applied and revealed a significant effect of time and the interaction between time and treatment whereas no effect of treatment was observed ($F_{(1;48)}$=81, $p < 0.001$, $F_{(4;48)}$=2.35, p=0.068, $F_{(4;48)}$=4.05, p=0.007, respectively). Data represents mean ± SEM. Post-hoc analyses were conducted when appropriate to compare the effect of the different treatments (B-C) or of time (D): * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ indicate significant differences between groups.

Figure 2. Physical exercise induces early emotional recovery in the CORT mouse model of depression. (A) Experimental timeline. Throughout the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=52) or vehicle (VEH mice, n=17) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received venlafaxine or vehicle for 8 weeks, either in their home cage (CORT-VLX mice, n=12 and CORT-VEH mice, n=13) or in an enriched environment containing running wheels (CORT-Ex mice, n=15 and CORT-Ex-VLX mice, n=13). Animals were tested after 2 and 8 weeks of treatment. A two-way ANOVA with [housing x treatment] factors was applied for the two treatment durations among CORT exposed mice. After two weeks, two-way ANOVA revealed a significant effect of housing factor but no effect of treatment and no interaction in the elevated plus maze (B: $F_{(1;49)}$=7.13 p= 0.01, $F_{(1;49)}$=2.71 p= 0.106 , and $F_{(1;49)}$=0.123 p=0.727, respectively) and in the splash test (F: $F_{(1;49)}$=4.6 p= 0.037, $F_{(1;49)}$=0.28 p= 0.599 , and $F_{(1;49)}$=0.859 p=0.358, respectively). In the tail suspension test, both factors and interaction did not reveal any significant effect (H: $F_{(1;49)}$=1.88 p= 0.17, $F_{(1;49)}$=0.01 p= 0.905 , and $F_{(1;49)}$=2.91 p=0.094, respectively) while in the novelty suppressed feeding test, both factors and interaction showed significant effect (D: $F_{(1;49)}$=36 $p < 0.001$, $F_{(1;49)}$=4.43 p= 0.04 , and $F_{(1;49)}$=6.65 p=0.013, respectively). After eight weeks, the two-way ANOVA revealed a significant effect of housing factor, treatment factor and interaction in the elevated plus maze (C: $F_{(1;45)}$=10.7 p=0.002, $F_{(1;45)}$=12.3 $p< 0.001$, and $F_{(1;45)}$=9.19 p=0.004, respectively), in the splash test (G: $F_{(1;45)}$=10.4 p=0.002, $F_{(1;45)}$=17.2 $p< 0.001$, and $F_{(1;45)}$=5.01 p=0.03, respectively). In the tail suspension test, housing factor, treatment factor and interaction did not reveal any significant effect (I: $F_{(1;45)}$=0.145 p= 0.70, $F_{(1;45)}$=3.75 p= 0.059 , and $F_{(1;45)}$=1.34 p=0.253, respectively) while in the novelty suppressed feeding test, both factors revealed significant without interaction effect (E: $F_{(1;45)}$=4.54 p= 0.038, $F_{(1;45)}$=19.9 $p < 0.001$, and $F_{(1;45)}$=3.18 p=0.081, respectively). VEH mice were used to establish emotional z-scores. For emotional

z-score (J-K), after 2 weeks of treatment, ANOVA revealed a significant effect of housing factor and treatment factor, without interaction effect (J: $F_{(1;49)}$=18.9 p < 0.001, $F_{(1;49)}$=4.45 p= 0.04 , and $F_{(1;49)}$=1.64 p=0.206, respectively). After 8 weeks of treatment, housing factor did not revealed significant effect, in contrast to the significant effect of treatment factor and interaction (K: $F_{(1;45)}$=2.13 p= 0.161, $F_{(1;45)}$=38.5 p < 0.001 , and $F_{(1;45)}$=11.2 p=0.002, respectively). Performances (mean ± SEM) of control VEH mice are represented by the grey shaded area. In all other groups, data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc analysis when appropriate: $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicate significant differences between groups.

Figure 3. Long-term treatment with VLX restores cognitive performance in CORT mice, and its combination with Ex yields earlier cognitive improvement. (A) Experimental timeline as described above (Fig. 2). Two-way ANOVA was applied for the two treatment durations among CORT exposed mice. After two weeks, ANOVA did not revealed significant effect of housing factor, treatment factor nor an interaction in the objection location task (B: $F_{(1;49)}$=0.034 p= 0.854, $F_{(1;49)}$=0.354 p= 0.554 , and $F_{(1;49)}$=0.001 p=0.9545, respectively) while a significant effect was only found for housing factor in social recognition test (C: $F_{(1;49)}$=4.66 p= 0.036, $F_{(1;49)}$=0.126 p= 0.724 , and $F_{(1;49)}$=2.77 p=0.102, respectively). After eight weeks, ANOVA revealed a significant effect of treatment factor but no for housing factor and interaction in object location task (D: $F_{(1;45)}$=11.3 p= 0.002, $F_{(1;45)}$=0.06 p= 0.803 , and $F_{(1;45)}$=2.15 p=0.15, respectively) while a significant effect of housing factor and treatment factor was reached in social recognition test with significant effect of interaction (E: $F_{(1;45)}$=4.51 p= 0.039, $F_{(1;45)}$=18.1 p < 0.001 , and $F_{(1;45)}$=3.19 p=0.08, respectively). VEH mice were used to establish cognitive z-scores (F-G). After 2 weeks of treatment, ANOVA did not reveal significant effect of housing factor, nor treatment factor, nor an interaction ($F_{(1;49)}$=1.53 p= 0.221, $F_{(1;49)}$=0.367 p= 0.547 , and $F_{(1;49)}$=1.25 p=0.267, respectively) while a significant effect of treatment factor and the interaction were observed without any effect of housing factor after eight weeks of treatment ($F_{(1;45)}$=41.7 p < 0.001, $F_{(1;45)}$=5.89 p= 0.019 , and $F_{(1;45)}$=1.53 p=0.222, respectively). Performances (mean ± SEM) of control VEH mice are represented by the grey shaded area. In all other groups, data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc analysis when appropriate: $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicate significant differences between groups.

Figure 4. Altered cell proliferation in the hippocampus of depressed mice is rescued after 8 weeks of VLX combined with Ex. (A) Experimental timeline. Throughout the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT) or vehicle (VEH mice, n=6 and n=6 respectively for 2 and 8 weeks of treatment) in the drinking water. From week 0, CORT mice received venlafaxine or vehicle for 2 and 8 weeks, either in their home cage (CORT-VLX mice, n=4 and n=7 and CORT-VEH mice, n=6 and n=8 respectively for 2 and 8 weeks of treatment) or in a enriched environment containing running wheels (CORT-Ex mice, n=5 and n=4 and CORT-Ex-VLX mice, n=6 and n=5, respectively for 2 and 8 weeks of treatment). Animals were sacrificed for immunochemical analysis after 2 weeks of treatment or at the end of the second set of behavioral tests. (B) Microphotographs depicting $Ki67^{+}$ cells in dentate gyrus and magnification of labelling. (C-D) Density of Ki67+ cells in the ventral and dorsal dentate gyrus after 2 weeks of treatment. (E-F) Density of Ki67+ cells in the ventral and dorsal dentate gyrus after 8 weeks of treatment. One-way ANOVA with treatment as main factor was applied for the two treatment durations. A

significant effect of treatment was observed on cell proliferation in the ventral and dorsal dentate gyrus after 2 (C-D; $F_{(4;22)}$=15.53, $p < 0.001$ and $F_{(4;22)}$=9.883, $p < 0.001$, respectively), and 8 weeks of treatment (E-F; $F_{(4;25)}$=7.855, $p < 0.001$ and $F_{(4;25)}$=5.789, p=0.002, respectively). Data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc and t-test analysis when appropriate: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$: significantly different from control (VEH) mice. $^{\$}$ $p < 0.05$, $^{\$\$}$ $p < 0.01$: significantly different from CORT mice. $^{\#}$ $p < 0.05$, $^{\#\#}$ $p < 0.01$: significantly different between connected groups. Scale bars = 50µm

Figure 5. Ex and VLX combination enhances the survival of adult-born cells in the hippocampus. (A-B) Experimental timeline. Throughout the experiment, animals were exposed to corticosterone (CORT) or vehicle (VEH mice, n=6 and n=6 respectively for 2 and 8 weeks of treatment) in the drinking water. Starting at week 0, CORT mice received venlafaxine or vehicle for 2 and 8 weeks, either in their home cage (CORT-VLX mice, n=4 and n=7 and CORT-VEH mice, n=6 and n=8 respectively for 2 and 8 weeks of treatment) or in an enriched environment containing running wheels (CORT-Ex mice, n=5 and n=4 and CORT-Ex-VLX mice, n=5 and n=5, respectively for 2 and 8 weeks of treatment). Animals undergoing a 2-week treatment (in A), received BrdU injections one week before the behavioral experiments (week -1) and were sacrificed 3 weeks after BrdU injection (BrdU-labeled cells are 3-week-old). Animals undergoing a 8-week treatment (in B), received BrdU injections four weeks after the start of the behavioral experiments (week 4) and were sacrificed 6 weeks after BrdU injection (6-week-old BrdU-labeled cells). (C-D) Density of $BrdU^{+}$ cells in the ventral and dorsal parts of the dentate gyrus after 2 weeks of treatment. (E-F) Density of $BrdU^{+}$ cells in the ventral and dorsal parts of the dentate gyrus after 8 weeks of treatment. One-way ANOVA with treatment as main factor was applied for the two treatment periods. A significant effect of treatment factor was observed on cell survival in ventral and dorsal dentate gyrus after 2 weeks of treatment (C-D; $F_{(4;21)}$=6.345, p=0.002 and $F_{(4;21)}$=3.241, p=0.032, respectively), and 8 weeks of treatment (E-F; $F_{(4;25)}$=17.88, $p < 0.001$ and $F_{(4;25)}$=22.68, $p<0.001$, respectively). Data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. Post-hoc and t-test analysis when appropriate: ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$: significantly different from control (VEH) mice. $^{\$}$ $p < 0.05$, $^{\$\$\$}$ $p < 0.01$: significantly different from CORT mice. $^{\#}$ $p < 0.05$, $^{\#\#\#}$ $p < 0.001$: significantly different between connected groups.

Figure 6. Early enhancement of serotonergic activity is induced by the combination of Ex and VLX. (A) Experimental timeline. (B) Effect of 8-OH-DPAT (300 $\mu g.kg^{-1}$)-induced hyperthermia. Two-way ANOVA with [time x treatment] factors revealed a significant effect of time factor, whereas no effect of treatment and no interaction were observed ($F_{(1;54)}$=51, $p < 0.001$, $F_{(4;54)}$=1.44, p=0.5, $F_{(4;54)}$=1.44, p=0.234, respectively). Post-hoc analysis: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$: significantly different from control (VEH) mice.

FIGURE 1

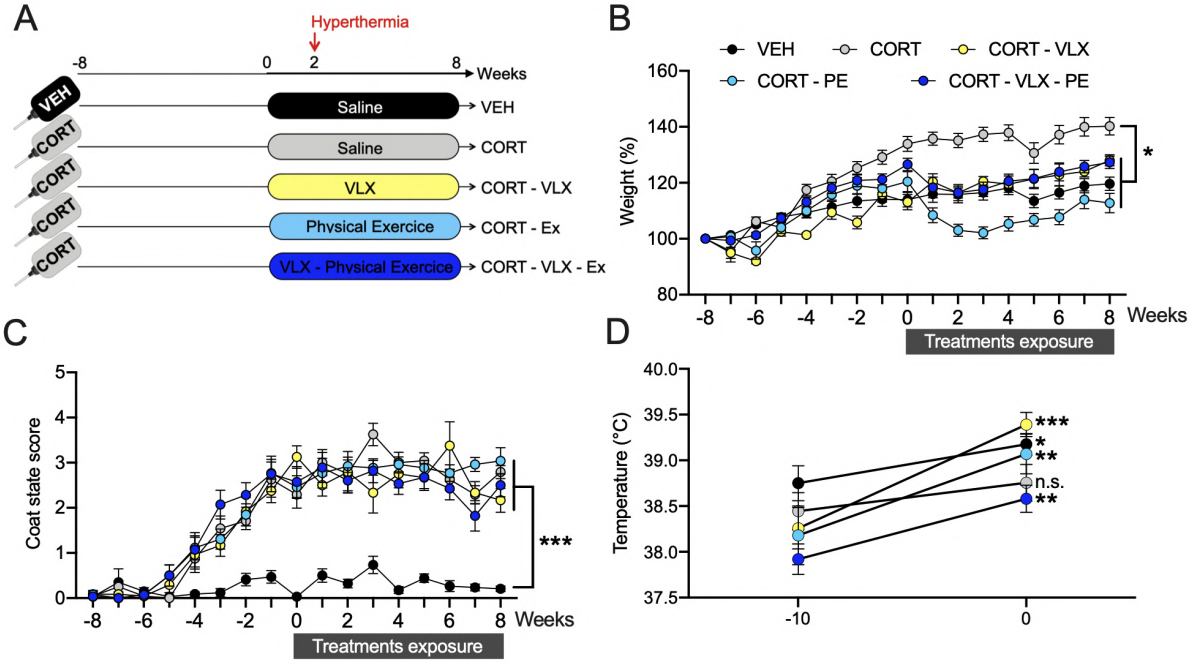

A
Hyperthermia
-8
0
2
8
Weeks
VEH
CORT
CORT
CORT
CORT
Saline
Saline
VLX
Physical Exercice
VLX - Physical Exercice
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - Ex
CORT - VLX - Ex
B
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - PE
CORT - VLX - PE
Weight (%)
160
140
120
100
80
*
-8 -6 -4 -2 0 2 4 6 8 Weeks
Treatments exposure
C
Coat state score
5
4
3
2
1
0
***
-8 -6 -4 -2 0 2 4 6 8 Weeks
Treatments exposure
D
Temperature (°C)
40.0
39.5
39.0
38.5
38.0
37.5
***
*
**
n.s.
**
-10
0

FIGURE 2

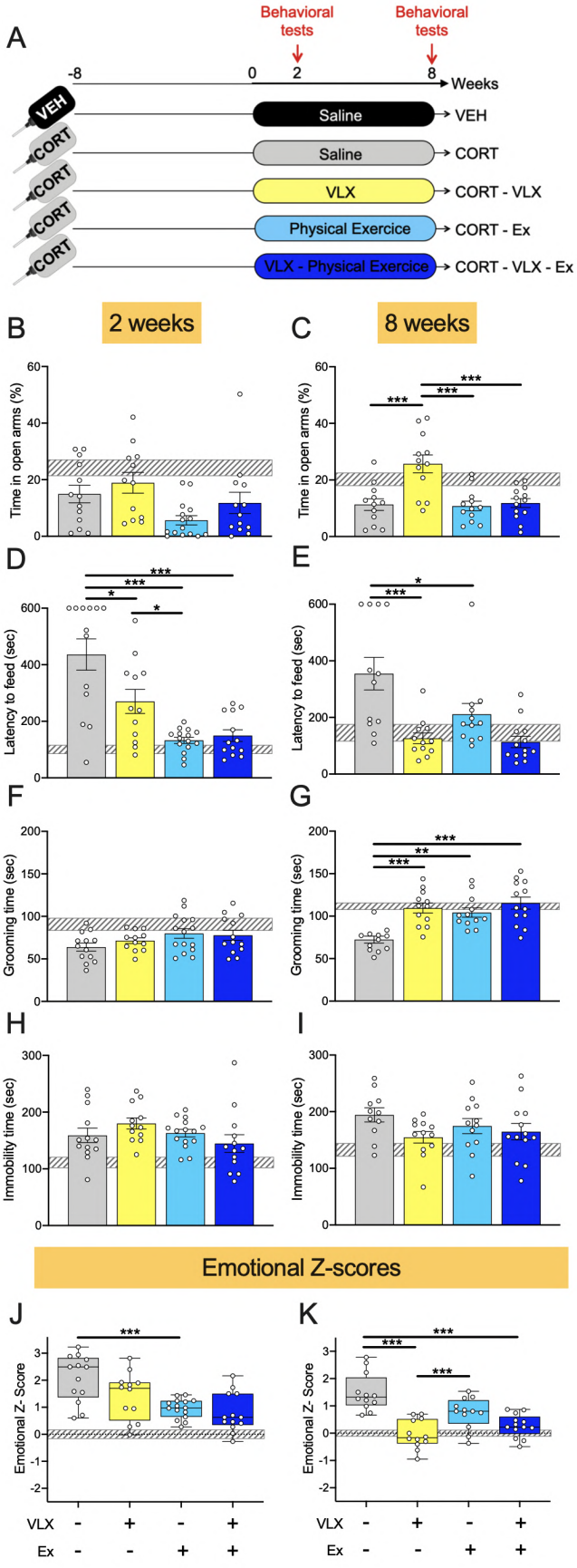

A
Behavioral tests
Behavioral tests
-8
0
2
8
Weeks
VEH
CORT
CORT
CORT
CORT
Saline
Saline
VLX
Physical Exercice
VLX - Physical Exercice
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - Ex
CORT - VLX - Ex
B
2 weeks
C
8 weeks
Time in open arms (%)
D
E
Latency to feed (sec)
F
G
Grooming time (sec)
H
I
Immobility time (sec)
Emotional Z-scores
J
K
Emotional Z- Score
VLX
Ex

FIGURE 3

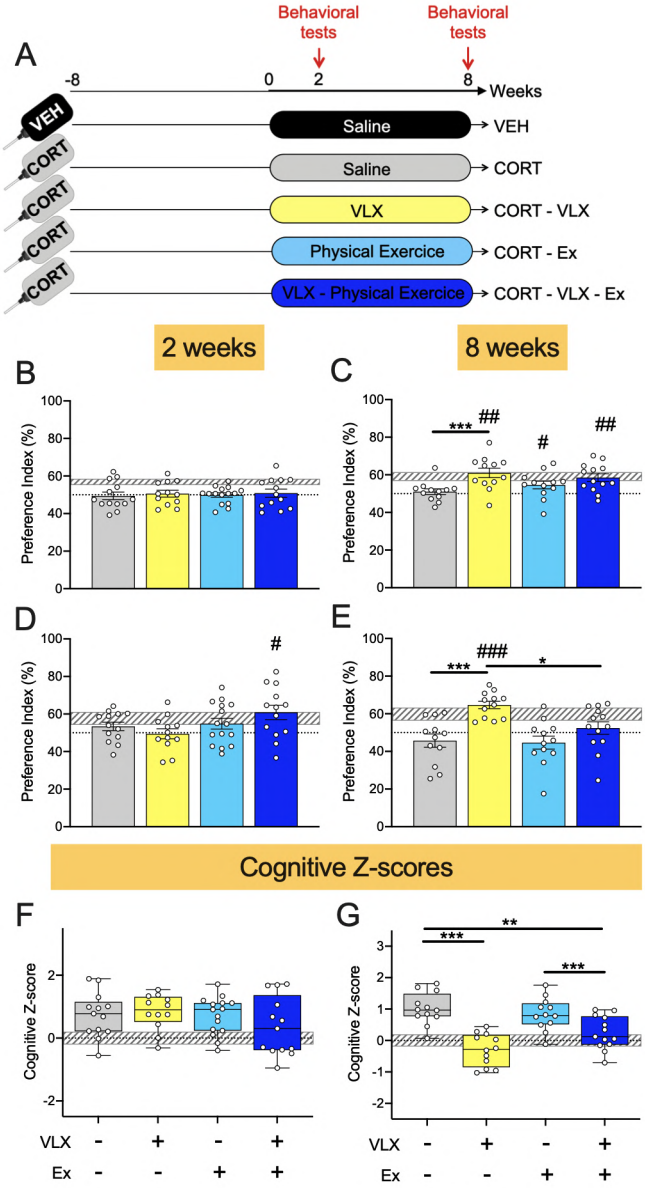

A
Behavioral tests
Behavioral tests
-8
0
2
8
Weeks
VEH
CORT
CORT
CORT
CORT
Saline
Saline
VLX
Physical Exercice
VLX - Physical Exercice
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - Ex
CORT - VLX - Ex
2 weeks
8 weeks
B
C
D
E
Preference Index (%)
Cognitive Z-scores
F
G
Cognitive Z-score
VLX
Ex

FIGURE 4

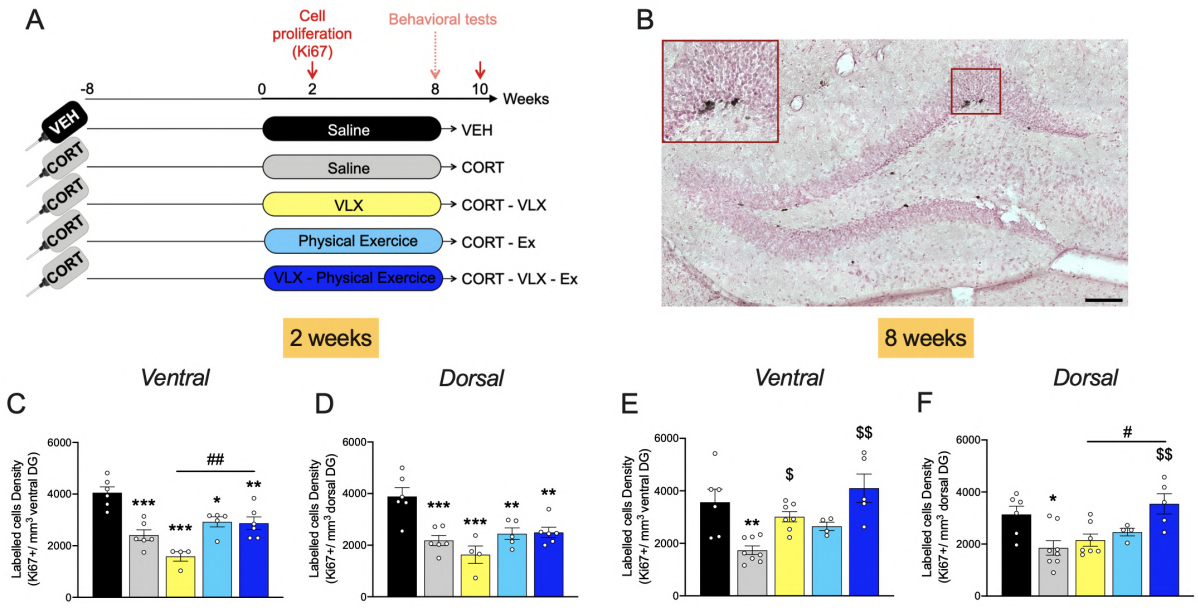

A
Cell proliferation (Ki67)
Behavioral tests
-8
0
2
8
10
Weeks
VEH
CORT
CORT
CORT
CORT
Saline
Saline
VLX
Physical Exercice
VLX - Physical Exercice
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - Ex
CORT - VLX - Ex
2 weeks
B
8 weeks
Ventral
Dorsal
Ventral
Dorsal
C
D
E
F
Labelled cells Density (Ki67+/ mm3 ventral DG)
Labelled cells Density (Ki67+/ mm3 dorsal DG)
6000
4000
2000
0
##
***
***
*
**
***
***
**
**
**
$
$$
#
*
$$

FIGURE 5

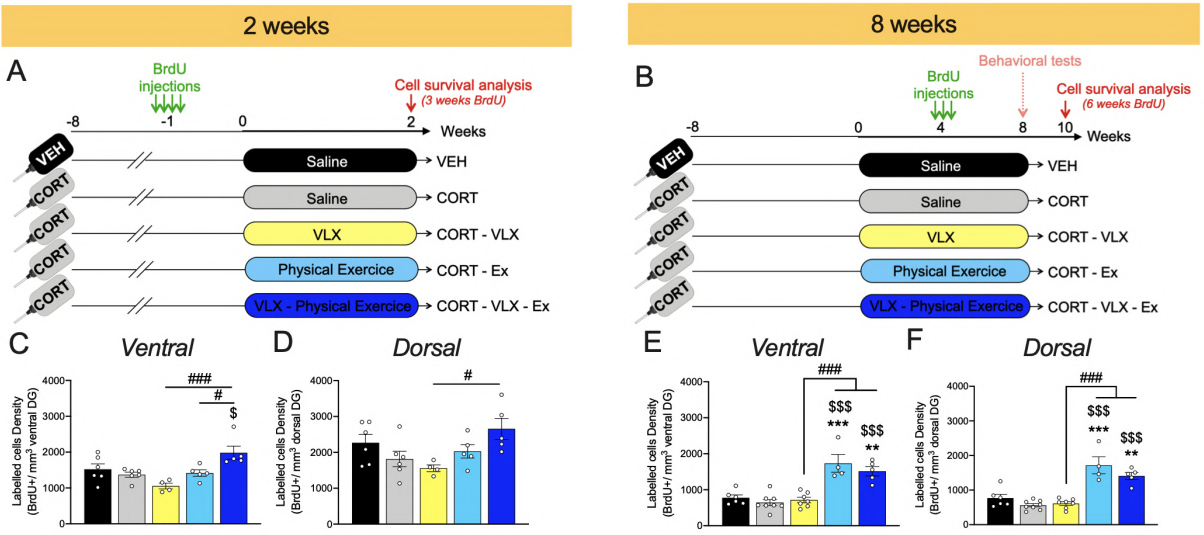
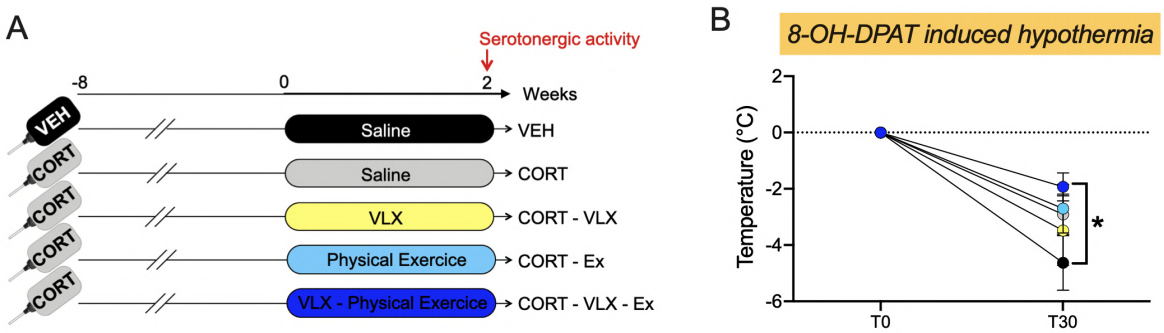

2 weeks
8 weeks
A
B
BrdU injections
Behavioral tests
Cell survival analysis
(3 weeks BrdU)
(6 weeks BrdU)
Weeks
VEH
CORT
Saline
VLX
Physical Exercice
VLX - Physical Exercice
CORT - VLX
CORT - Ex
CORT - VLX - Ex
C
D
E
F
Ventral
Dorsal
Labelled cells Density (BrdU+/ mm³ ventral DG)
Labelled cells Density (BrdU+/ mm³ dorsal DG)

FIGURE 6


A
Serotonergic activity
-8
0
2
Weeks
VEH
CORT
CORT
CORT
CORT
Saline
Saline
VLX
Physical Exercice
VLX - Physical Exercice
VEH
CORT
CORT - VLX
CORT - Ex
CORT - VLX - Ex
B
8-OH-DPAT induced hypothermia
Temperature (°C)
2
0
-2
-4
-6
T0
T30
*

SUPPLEMENTAL DATA

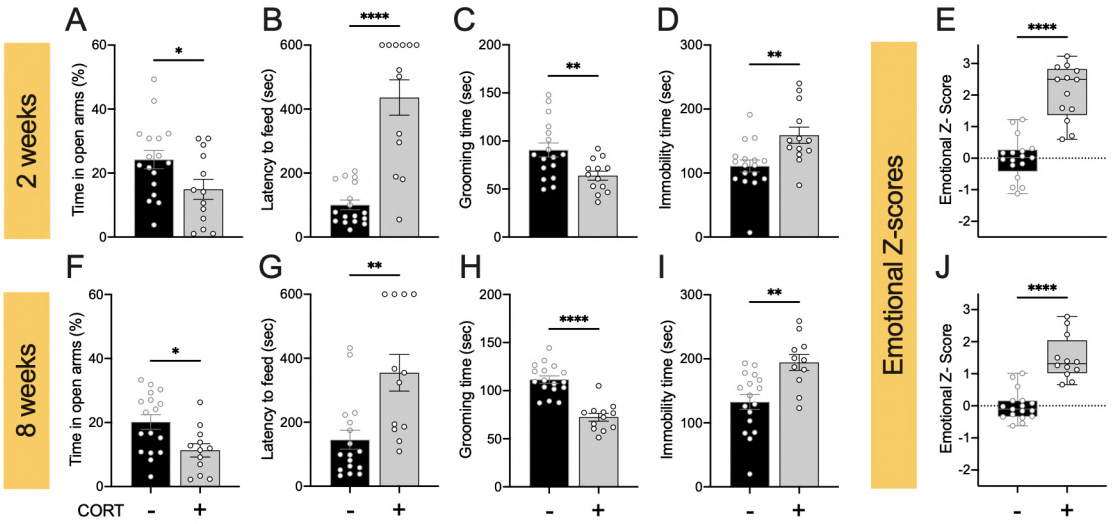


Figure S1. The CORT mouse model of depression shows emotional alterations. (A) Animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=13) or vehicle (VEH mice, n=17) in the drinking water for 8 weeks and underwent behavioral testing after 2 and 8 weeks of treatments (as in Fig 2 and 3). Student t-test were performed for each test. After two and eight weeks of treatment, student t-test revealed a significant difference between VEH and CORT mice in the elevated plus maze (A-F: t_{28}=2.197 p=0.03, t_{27}=2.762 p=0.01 respectively), the novelty suppressed feeding test (B-G: t_{28}=6.562 p < 0.001, t_{27}=3.517 p=0.002 respectively), the splash test (C-H: t_{28}=2.889 p=0.007, t_{27}=6.817 p < 0.001 respectively) and the tail suspension test (D-I: t_{28}=3.109 p=0.004, t_{27}=3.697 p < 0.001 respectively). Statistical analysis of emotional z-score by student t-test revealed significant difference between VEH and CORT mice after 2 and 8 weeks of treatment (E-J: t_{28}=7.403 p< 0.001, t_{27}=6.979 p < 0.001 respectively). Data represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicate significant differences between groups.

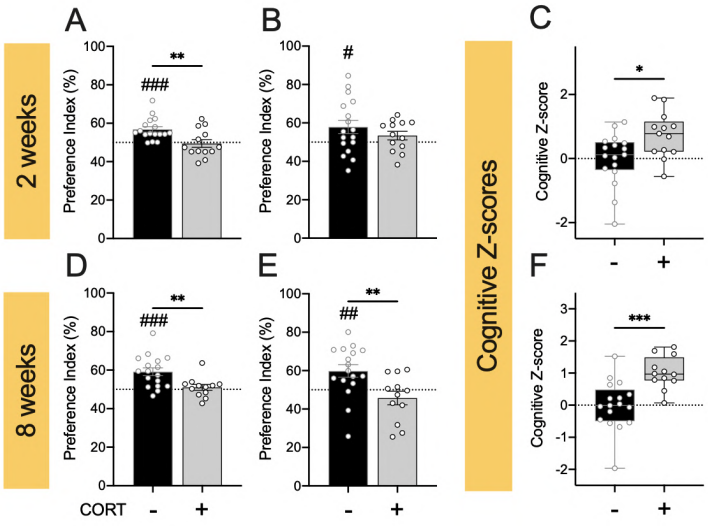


Figure S2. The CORT mouse model of depression shows cognitive alterations. (A) Animals were exposed to corticosterone (CORT mice, n=13) or vehicle (VEH mice, n=17) in the drinking water for 8 weeks and underwent

behavioral testing after 2 and 8 weeks of treatments (as in Fig 2 and 3). Student t-test were performed for each test. After two weeks and eight weeks of treatment, a significant difference between VEH and CORT mice was found in the object location task (A-D: t_{28}=3.117 p=0.004, t_{27}=2.993 p=0.006 respectively), and the social recognition test (B-E: t_{28}=1.021 p=0.31, t_{27}=2.887 p=0.008 respectively). Statistical analysis of emotional z-score by student t-test revealed significant difference between VEH and CORT mice after 2 and 8 weeks of treatment (C-F: t_{28}=2.59 p= 0.015, t_{27}=4.012 p < 0.001 respectively). Datas represent mean ± SEM, dots illustrate individual values. $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, $^{***}p < 0.001$ indicate significant differences between groups. $^{\#}p < 0.05$, $^{\#\#}p < 0.01$, $^{\#\#\#}p < 0.001$ indicate significant differences between chance value (50%) in object location task and social recognition task.

PARTIE 3 : EFFET ANTIDEPRESSEUR D'UN ENRICHISSEMENT OLFACTIF PARTAGEANT DES MÉCANSIMES COMMUNS AVEC LES ANTIDEPRESSEURS

Chapitre 3 : Interaction entre le système olfactif et le système sérotoninergique dans les effets antidépresseurs d'un ingrédient sensoriel à base d'agrumes

- *Des alternatives non-conventionnelles utilisant des extraits végétaux ou d'épices capables de stimuler les circuits de l'olfaction sont couramment utilisés dans le traitement du trouble dépressif*

- *Le D11399, un extrait contenant du Citrus sinensis, réduit les réponses liées au stress aigu ou chronique chez les souris*

- *Les effets comportementaux du D11399 sont significativement atténués chez des souris présentant une perte transitoire de l'olfaction (souris anosmiques)*

- *Les effets du D11399 chez les souris sont associés, à des changements anatomiques et fonctionnels dans le système limbique à savoir une stimulation de la plasticité cérébrale et d'une augmentation de l'activité du système sérotoninergique central*

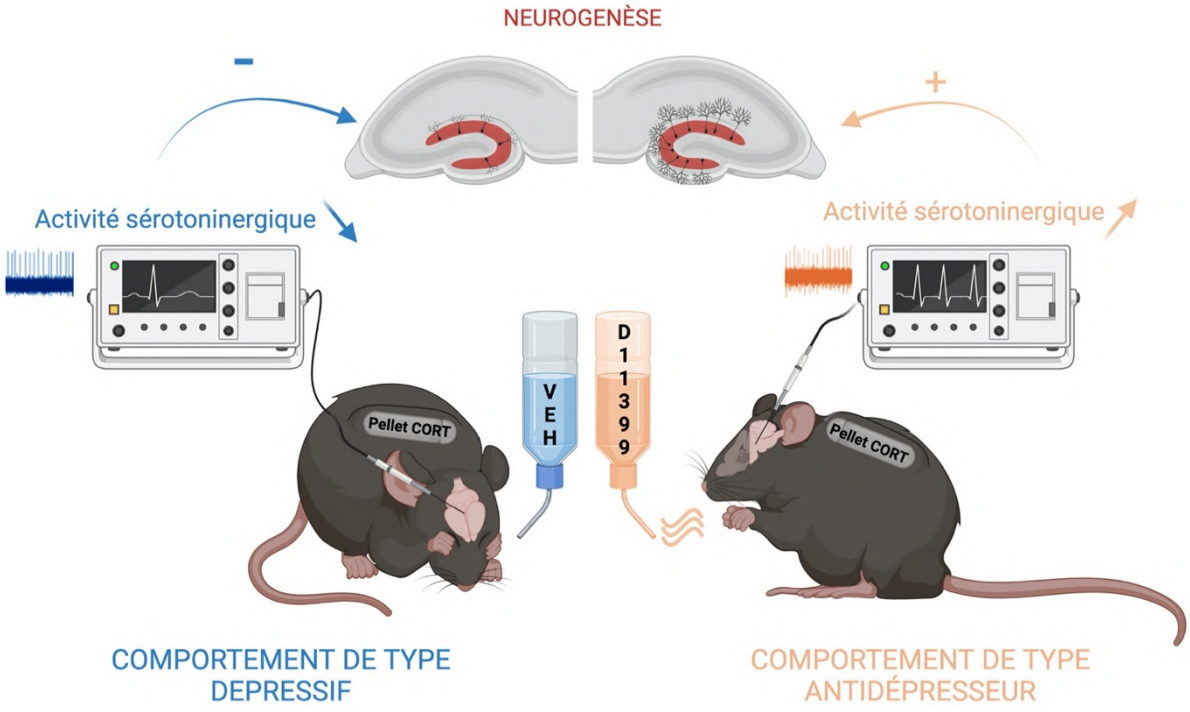


Figure 22. Résumé graphique de l'article 3.

ARTICLE 3 : « Un ingrédient alimentaire sensoriel fonctionnel à base d'agrumes induit des effets de type antidépresseur : Implication possible d'une interaction entre les systèmes olfactif et sérotoninergique »

B. Coutens[a], K. Rekik[a], A. Harster[a], P. Etienne[b], V. Noirot[b], B. Frances[a], L. Moulédous[a] and B. P. Guiard[a]

[a] *Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, UPS, France*
[b] *Phodé, Terssac, France*

Ce papier est publié. Au cours de cette étude, j'ai participé à la rédaction du manuscrit ainsi que réalisé les travaux impliquant des souris implantées avec le pellet CORT (étude comportementale et mécanismes neurobiologiques associés).

Résumé

Dans la présente étude, nous avons examiné les effets neurocomportementaux d'un ingrédient alimentaire fonctionnel sensoriel, principalement composé d'extraits de Citrus sinensis (D11399). Pour cela, nous avons utilisé une batterie de tests mesurant divers symptômes de la dépression tels que l'anxiété dans le champ libre (OF), le labyrinthe en croix (EPM) et l'alimentation supprimée par la nouveauté (NSF), l'incurie dans le test d'éclaboussure (ST), le désespoir dans la tâche de natation forcée (FST) et aussi l'anhédonie dans le test de préférence au saccharose (SPT) chez la souris. L'administration orale de D11399 pendant une semaine a favorisé les réponses de type anxiolytique et antidépressive chez les souris naïves soumises au NSF et au FST. En revanche, l'administration de D11399 par gavage oral ou l'inhibition de l'olfaction par le méthimazole ont empêché ces effets bénéfiques. Nous avons également étudié les propriétés comportementales de l'administration orale de D11399 pendant dix semaines dans le modèle de dépression de la souris CORT. Chez ces animaux, le D11399 a également provoqué des effets anxiolytiques et antidépresseurs dans divers paradigmes. Pour caractériser les mécanismes neurobiologiques mis en jeu, nous avons cherché à savoir si les processus cellulaires et moléculaires communément associés aux réponses antidépressives, comme la neurotransmission monoaminergique et la maturation neuronale dans l'hippocampe, étaient affectés. Bien que le D11399 n'ait pas modifié les niveaux extracellulaires de monoamines (sérotonine et la noradrénaline) dans l'hippocampe, il a empêché la capacité de la CORT à diminuer le taux de décharge des neurones sérotoninergiques dans le raphé dorsal et la maturation neuronale dans l'hippocampe. Ces résultats suggèrent que les effets anxiolytiques et antidépresseurs de cet ingrédient alimentaire sensoriel sont étroitement liés à l'olfaction et probablement à un changement concomitant de l'activité du système sérotoninergique central. D'autres expériences sont nécessaires pour préciser les circuits neuronaux reliant les modalités sensorielles et émotionnelles et identifier des stratégies thérapeutiques innovantes visant à soulager les symptômes dépressifs

NEUROSCIENCE
RESEARCH ARTICLE
B. Coutens et al. / Neuroscience 451 (2020) 149–163

A *Citrus* Based Sensory Functional Food Ingredient Induces Antidepressant-like Effects: Possible Involvement of an Interplay between the Olfactory and the Serotonergic Systems

B. Coutens,[a†] K. Rekik,[a†] A. Harster,[a] P. Etienne,[b] V. Noirot,[b] B. Frances,[a] L. Moulédous[a‡] and B. P. Guiard[a,c*‡]

[a] *Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, UPS, France*

[b] *Phodé, Terssac, France*

[c] *Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud, Université Paris-Saclay, 92290 Chatenay-Malabry, France*

Abstract—In the present study, we examined the neurobehavioral effects of a sensory functional food ingredient mainly based on *Citrus sinensis* extracts (D11399) using a battery of tests recapitulating various endophenotypes of depression such as anxiety in the open field (OF), the elevated plus-maze (EPM), and the novelty suppressed feeding (NSF), self-care in the splash test (ST), despair in the forced swimming task (FST) but also anhedonia in the sucrose preference test (SPT) in mice. A one-week oral administration of D11399 promoted anxiolytic- and antidepressant-like responses in naïve mice subjected to the NSF and FST. In a marked contrast, the administration of D11399 by oral gavage or the inhibition of olfaction by methimazole prevented such beneficial effects. We further investigated the neurobehavioral properties of a ten-week oral administration of D11399 in the corticosterone (CORT) mouse model of depression. Interestingly, D11399 also elicited anxiolytic- and antidepressant-like effects in various paradigms. To characterize the putative underpinning neurobiological mechanisms in CORT mice, we investigated whether cellular and molecular processes commonly associated with antidepressant responses such as monoaminergic neurotransmission and neuronal maturation in the hippocampus were impacted. Although D11399 did not modify the hippocampal extracellular levels of monoamines (i.e. serotonin and norepinephrine), it reversed the ability of CORT to decrease serotonin neurons firing rate in the dorsal raphe and neuronal maturation in the hippocampus. These findings suggest that the anxiolytic- and antidepressant-like effects of this sensory functional food ingredient are closely related with olfaction and likely a concomitant change in the activity of the central serotonergic system. Further experiments are warranted to precise the neuronal circuits linking sensorial and emotional modalities and identify innovative therapeutic strategies aimed to relieve depressive endophenotypes. **© 2020 IBRO. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.**

Key words: mood disorders, antidepressant, olfaction, hippocampus, monoamines, behavior.

INTRODUCTION

Mood disorders represent widespread and invalidating disorders, with up to 16% of the world population affected by various symptoms of the depression spectrum. Unfortunately, antidepressant drugs traditionally used to treat major depression (MD) do not provide positive treatment outcomes for all depressed patients and among responders a long delay in the onset of action is often observed (Hamon and Blier, 2013). These important shortcomings in current treatments encourage research in the field of neuropsychopharmacology to better understand the neurobiological mechanisms underlying MD and to develop new therapeutic strategies with a better profile of efficacy or to prevent the appearance of symptoms.

Growing evidence suggests that a significant proportion of individuals suffering from MD displays olfactory dysfunctions and vice-versa (Kohli et al., 2016; Taalman et al., 2017). In agreement with this reciprocal relationship, imaging studies have revealed the existence of an overlap between brain areas involved in MD and olfactory processing including the olfactory bulbs but also the orbitofrontal cortex, the amygdala and the hippocampus (Hoflich et al., 2012; Naudin et al., 2014). Such association has also been described in rodents since impairments in olfactory acuity have been reported in an

*Correspondence to: B.P. Guiard, Centre de Recherches sur la Cognition Animale, Centre de Biologie Intégrative, Université de Toulouse, CNRS, UPS, France.
E-mail address: bruno.guiard@univ-tlse3.fr (B. P. Guiard).
† These authors equally contributed to the study.
‡ These authors co-directed this study.
Abbreviations: CORT, corticosterone; EPM, elevated plus-maze; FST, forced swim test; DG, dentate gyrus; MD, major depression; NSF, novelty suppressed feeding; OF, open field; SPT, sucrose preference test; ST, splash test.

https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.09.040
0306-4522/© 2020 IBRO. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

animal model of depression (Siopi et al., 2016) whereas bilateral olfactory bulbectomy induces depressive-like endophenotypes as well as endocrine, immune, and neurotransmitter dysfunctions usually observed in MD (Song and Leonard, 2005). Altogether, these results strongly suggest that dysfunctions seen in MD or relevant animal models could be related to alterations in the olfaction system and conversely, modulating olfactory transmission might reverberate on emotional state. In support of the latter assumption, antidepressant-like effects were observed in rats inhaling various odorants such as vanillin (Xu et al., 2015) or lemon (Komori et al., 1995) whereas bulbectomy may dampen such beneficial effects (Xu et al., 2015). These results do not necessarily imply that loss of smell directly influences emotional-related behaviors but that an adequate connectivity between the olfactory system and limbic areas is a key determinant for this type of antidepressant responses. However, it was shown that lavender, for example, elicits anxiolytic and antidepressant-like responses even in anosmic mice (Chioca et al., 2013; Takahashi et al., 2014).

Animal models provide instrumental *in vivo* tools to examine neural circuitry and molecular and cellular pathways in a controlled environment. Based on the observation that plasma cortisol is increased in a significant proportion of patients with MD (Wong et al., 2000), one of these models is based on repeated corticosterone (CORT) administration. This procedure aims to mimic the effect of chronic stress notably by promoting an excessive HPA axis activation. Multiple sources of evidence demonstrate that CORT exposure in mice elicits behavioral response recapitulating the core endophenotypes of depression such as despair, anhedonia, decreased self-care and anxiety (David et al., 2009; Orrico-Sanchez et al., 2019) but also impairment of cognitive performances (Darcet et al., 2014), sleep disruption (Le Dantec et al., 2014) and somatic pain (Hache et al., 2012). Interestingly, the chronic administration of CORT has been also successfully used to delineate the neurobiological mechanisms associated with depression since an alteration of serotonergic neurotransmission (Rainer et al., 2012a, 2012b) and an impairment of adult hippocampal neurogenesis have been reported under these experimental conditions (David et al., 2009; Quesseveur et al., 2013). Finally, treatments that show therapeutic activity in human are also effective in CORT exposed mice. For instance, it has been repeatedly demonstrated that the long-term administration of the selective serotonin reuptake inhibitor fluoxetine, the serotonin/norepinephrine reuptake inhibitor venlafaxine or the mixed melatonergic agonist/serotonergic antagonist agomelatine reverse CORT-induced anxio/depressive-like phenotype (David et al., 2009; Rainer et al., 2012a, 2012b; Mendez-David et al., 2017). Altogether, these data strongly support the idea that CORT model displays a strong construct, face and predictive validity thereby offering a translational value to test new hypothesis and identify novel preventive or curative therapeutic strategies (Guilloux et al., 2011).

D11399 contains mainly a specific essential oil of *Citrus sinensis* which confers a sensory dimension by stimulating the sense of olfaction and referred to as "functional food ingredient" (Griffiths et al., 2009). Hereinafter, we raised the possibility that such a compound imparts mental health-promoting effects and to address this question, we examined the effects of orally administered D11399 on emotional related-behavior in naïve mice or in the CORT animal model of depression (Demuyser et al., 2016). We also addressed the possibility that the behavioral effects of D11399 rely on the activation of the olfactory system. Finally, we investigated whether cellular and molecular processes commonly associated with antidepressant responses such as monoaminergic neurotransmission and neuronal maturation in the hippocampus were impacted by D11399.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

In this study, 132 mice were used and all experimental procedures were conducted in accordance with ARRIVE guidelines and the European directive 2010/63/UE and were approved by the French Ministry of Research and local ethic committees (APAFIS#12343-2017111516096417).

Animals

Male mice (30–35 gr) were fed and watered *ad libitum* and lived on a 12 h light–dark cycle. They were housed 4–5 per cage under standard conditions: room with controlled temperature (21–23 °C). 3–4 months old outbred CD1 mice were used for the experiments in naïve non-stressed animals. This strain presents a genetic diversity reflecting the human population making them particularly suitable for the screening of drugs with putative antidepressant and/or anxiolytic activities in non-pathological conditions (Petit-Demouliere et al., 2005). Three to four-months old inbred C57BL/6JRj male mice (Janvier Labs, Saint-Berthevin, France) served for the chronic ones. This strain offers a good model for its vulnerability to stress and its sensitivity to the neurobiological impairments resulting from chronic CORT exposure (Hodes et al., 2012). Importantly, C57BL/6JRj mice have also been used successfully to unveil the ability of pharmacological strategies and non-pharmacological interventions to restore a normal behavioral phenotype in the CORT model (David et al., 2009; Hache et al., 2012; Le Dantec et al., 2014).

Drugs and protocols

D11399 (Phodé – Terssac, France) contained as active part a core (B524) mainly made up of *Citrus sinensis* extract (24–32%) and was formulated with excipients based on water and plant emulsifying agents (36–48%) to obtain a liquid water-dispersible galenic form. Using gas chromatography, we determined that D11399 contains as main ingredients D-limonene (94.5%), myrcene (2.5%), alpha pinene (0.6%), sabinene (0.35%), citral (0.225%) and beta pinene (0.085%). Control solution (D12250:VEH) contained purified coco oil (24–32 %) formulated with the same excipient as D11399. Previous evidence suggests that coco oil

exerts anti-stress effects (Yeap et al., 2015) but here it was purified and deodorized making it neutral in terms of flavor while keeping its lipophilic characteristics. In the galenic formulation, it replaces the fat-soluble *Citrus* extract. We conducted a pilot study to determine the total fluid intake per day and we adapted the dose of compounds to this consumption. For the first experiments in CD1 naïve mice (n = 32), water consumption was controlled and replaced three times a week to adjust D11399 daily administration on the basis of 30 g live weight-LW: 0,125 mg/kg LW, 1,25 mg/kg LW, 12,5 mg/kg LW. For the second experiment in CD1 naïve mice (n = 30), animals received a daily administration of D11399 (1,25 mg/kg LW) or its VEH by gavage for one week (n = 30) using a stainless-steel bulb tipped gavage needle attached to a syringe. In accordance with ethical guidelines, the volume injected corresponded to 1% of their body weight (e.g., a 30 g mouse was given 0.3 ml). For the third experiment in CD1 naïve mice (n = 40), a single intraperitoneal injection of NaCl 0,9% or methimazole (1-methyl-2 mercaptoimidazole, Sigma: 100 mg/kg) was used to ablate the olfactory epithelium before administering D11399 (1,25 mg/kg LW) or (D12250: VEH) for one week (n = 40). Finally, for chronic experiments in C57BL/6JRj mice (n = 30), we induced depressive-like behaviors using subcutaneously implanted CORT pellets as previously described (Demuyser et al., 2016). Animals were anesthetized with isoflurane and a small incision was done in order to implant CORT pellets with biodegradable carrier-binder (5 mg/day over 90 days; Innovative Research of America – Sarasota – Florida – USA). After surgery, mice were randomly assigned to different groups receiving either the control (D12250: VEH) or the tested (D11399; 1,25 mg/kg LW) solution. After 10 weeks of treatment, all animals were tested in behavioral paradigms while subgroups were formed for electrophysiological, neurobiochemical and immunohistochemical studies. Control group was exposed to VEH pellets (instead of CORT pellets) and were administered with (D12250: VEH).

For the neurochemical studies (ie, intracerebral microdialysis), we perfused escitalopram (1 μM through the dialysis probe from Sigma-Aldrich) to specifically block the serotonin transporter.

Behavioral testing

Except for the open-field test, experimental variables were manually scored. However, to avoid interpretation biases, the operator in charge of the treatment did not perform the experiments, and the animal identification was made after the tests using ear tags.

Open field (OF)

OF test was performed in Plexiglas setups (MED Associates, France) during 10 min in a rectangular arena (40 × 40 × 20 cm) in a room containing no conspicuous features, illuminated by a white light (30 lux) and surmounted by a video camera connected to a video recorder and a monitor. Total duration and/or the number of entries in the center were measured by an automated system (Noldus, Ethovision, The Nederland). Total ambulatory distance was also measured to ensure the absence of any locomotor effect of treatments.

Elevated plus maze (EPM)

The apparatus (Imetronic, Pessac, France) consisted of a plus-shaped track with 2 closed and 2 open arms (30 × 10 × 20 cm) that extended from a central platform (10 × 10 cm). The apparatus was elevated 50 cm above the floor and illuminated by a white light (25 lux). Each trial began when the mouse was placed in the central zone and lasted 5 min. For each mouse, time spent in the open arms and number of entries in these compartments were calculated.

Novelty suppress feeding test (NSF)

This test was performed in a white plastic box (30 × 60 cm). Mice were food deprived for 24 h before testing and then placed in the corner of the box with a regular food pellet on a white square filter paper at the center of the arena under an intense light (∼60 W) placed about 60–80 cm above the food pellet. Latency to begin eating was scored with a cut-off time of 10 min. Upon return to the home cage, the total amount of food intake was measured for a 5-min period to ensure the absence of differences in hunger/motivation.

Splash test (ST)

The ST was performed for a 5-minute period as previously described (David et al., 2009). After squirting 200 μL of a 10% sucrose solution on the mouse's coat, grooming duration was scored as an index of self-care.

Tail suspension test (TST)

During tail suspension test, mice were both acoustically and visually isolated and suspended 50 cm above the floor by adhesive tape placed approximately 1 cm from the tip of the tail. Mice were considered immobile only when they hung passively and completely motionless. Immobility time was recorded during a 6-min period (Steru et al., 1985).

Forced swim test (FST)

The forced swim test procedure was modified to enhance the sensitivity to detect the putative antidepressant-like activity of drugs (Porsolt et al., 1977). Briefly, mice were placed for 6 min into clear plastic buckets, 20 cm in diameter and 23 cm deep, filled up to two-thirds with water at ≈24 °C. The dependent variable was the time of immobility calculated for the last 4 min.

Sucrose preference test (SPT)

Mice were placed and habituated into individual cages for one week with free access to two water bottles. Water consumption was measured to control for place preference. Then in order to measure baseline sucrose preference, one water bottle was removed and replaced

by sucrose (1%). Sucrose and water bottles were weighted before and after experiment. Twenty-four hours later, we compared water and sucrose consumption. Results were expressed in percentage of sucrose consumption [(Sucrose consumption/Total consumption) X 100]. This test was realized at the end of the protocol since treatments cessation was required.

Study of noradrenergic and serotonergic systems

*Intracerebral **in vivo** microdialysis.* Anesthetized mice (chloral hydrate, 400 mg/kg; s.c) were stereotaxically implanted with concentric microdialysis probes (effective membrane length 3.0 mm) in the ventral hippocampus (vHPC) in order to quantify serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE). Coordinates from bregma, according to the mouse brain atlas (Paxinos and Franklin, 1997), were as follows (in millimeters): AP: −2.7; L: ±3; and V: −3.5. The next day, probes were connected to a microinjection pump, allowing a continuous perfusion of artificial cerebrospinal fluid (aCSF; 147 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1 mM $MgCl_2$, 1,2 mM $CaCl_2$, adjusted to pH 7.4 with 2 mM sodium phosphate buffer) at a flow rate of 1.5 μL per minute. In order to measure specifically 5-HT release, citalopram (1 μM) was added within the aCSF solution. Dialysate samples were collected every 15 min for 120 min and then samples were analyzed on a high-performance liquid chromatography (HPLC) system coupled with electrochemical detection (Dionex Ultimate 3000; Thermofisher, Courtaboeuf, France).

In vivo electrophysiological recordings of 5-HT neurons in the dorsal raphe. Mice were anaesthetized with chloral hydrate (400 mg/kg i.p.) and placed into a stereotaxic frame. The extracellular recordings of 5-HT neurons in the dorsal raphe (DR) were performed using single-barreled glass micropipettes (Stoelting, USA). Their impedance typically ranged between 5 and 8 MΩ. The central barrel used for extracellular unitary recording was filled with 2 M NaCl solution. Glass micropipette was positioned using the following coordinates (in mm from lambda): AP: +1.0 to 1.2; L: 0–0.1; V: 5–7. The presumed 5-HT neurons were then identified using the following criteria: a slow (0.5–2.5 Hz) and regular firing rate and long-duration (2–5 ms) bi- or triphasic extracellular waveform (Aghajanian and Vandermaelen, 1982).

Quantification of immature neurons

Slices preparation. Mice were deeply anesthetized with Pentobarbital and perfused trans-cardially with saline phosphate buffer (PBS) for 2 min followed by 4% paraformaldehyde in phosphate buffer 0.1 M (PB). Brains were removed and post-fixed overnight in 4% paraformaldehyde at 4 °C and cryoprotected in 30% sucrose solution. Coronal sections (30-μm thick) were cut thanks to a microtome (Leica SM2010R) through the entire rostro-caudal axis of the hippocampus. Sections were stored in cryoprotectant at −20 °C until processed for immunochemistry.

Doublecortin (DCX) immunochemistry. Free-floating brain sections were washed several times with PBS containing 0.25% Triton-X100 (PBST) before quenching endogenous peroxidase with 3% H_2O_2 and 10% methanol in PBST. Sections were then incubated in a solution containing 10 mM Sodium Citrate pH 6 + 0.05% Tween 20 for 10 min at 100 °C for antigen retrieval. Sections were then blocked in 5% normal goat serum (NGS) for 2 h. They were then incubated overnight at room temperature in polyclonal Rabbit anti-doublecortin antibody (DCX; 1/500; Synaptic Systems) in PBST containing 5% NGS. The next day, sections were rinsed in PBST and incubated for 120 min at room temperature in Alexa Fluor 488 Goat anti-Rabbit antibody in PBST (1/1000; Invitrogen). Sections were mounted onto slides, coverslipped using Mowiol containing Hoechst (1/10,000), and stored at 4 °C. Examination of positively labeled cells was confined to the DG. Quantifications of DCX-immunoreactive (DCX +) cells were conducted on 1-in-12 series of labeled sections spaced by 360 μm spanning the rostrocaudal extent of the DG bilaterally. All immunostained sections were analyzed using a DM6000B fluorescence microscope (Leica, Germany) equipped with a motorized X–Y sensitive stage and a video camera connected to a computerized image analysis system (ExploraNova, France). The counting of labeled cells was conducted bilaterally using Mercator v.2 software (ExploraNova) that allows the measure of the DG corresponding surface. The reference volume was determined as the sum of the traced areas multiplied by the distance between sampled sections. Densities of immunopositive cells were then calculated by dividing the number of positive cells by the DG sectional volume. The absolute numbers of DCX-positive cells in the DG are expressed by multiplying the cell densities by the reference volume as previously described (Verret et al., 2007).

Statistical analysis

Box-plots show median ± 25% (boxes) and the 5–95% percentile (whiskers). A one-way analysis of variance (ANOVA) for treatment factor was applied to compare effect of treatments. When a main effect was significant, comparisons were analyzed using a Tukey post-hoc test (Fig. 1, Fig. S1, Fig. 4, Fig. 6, Fig. 7 and Table 1). For the analysis of treatments effects on behavioral performances in the NSF and FST in presence (or not) of methimazole, a two-way ANOVA with time and treatment factors was used (Fig. S2, Fig. 3). When a main effect of pre-treatment, treatment or interaction pre-treatment × treatment was significant, comparisons were analyzed using a Tukey post-hoc test. In the NSF test, a Kaplan–Meier survival analysis was applied due to the non-normal distribution of data. The Mantel-Cox log-rank test was used to evaluate differences between experimental groups. For the analysis of treatment effects on 5-HT and NE extracellular levels (kinetics), a

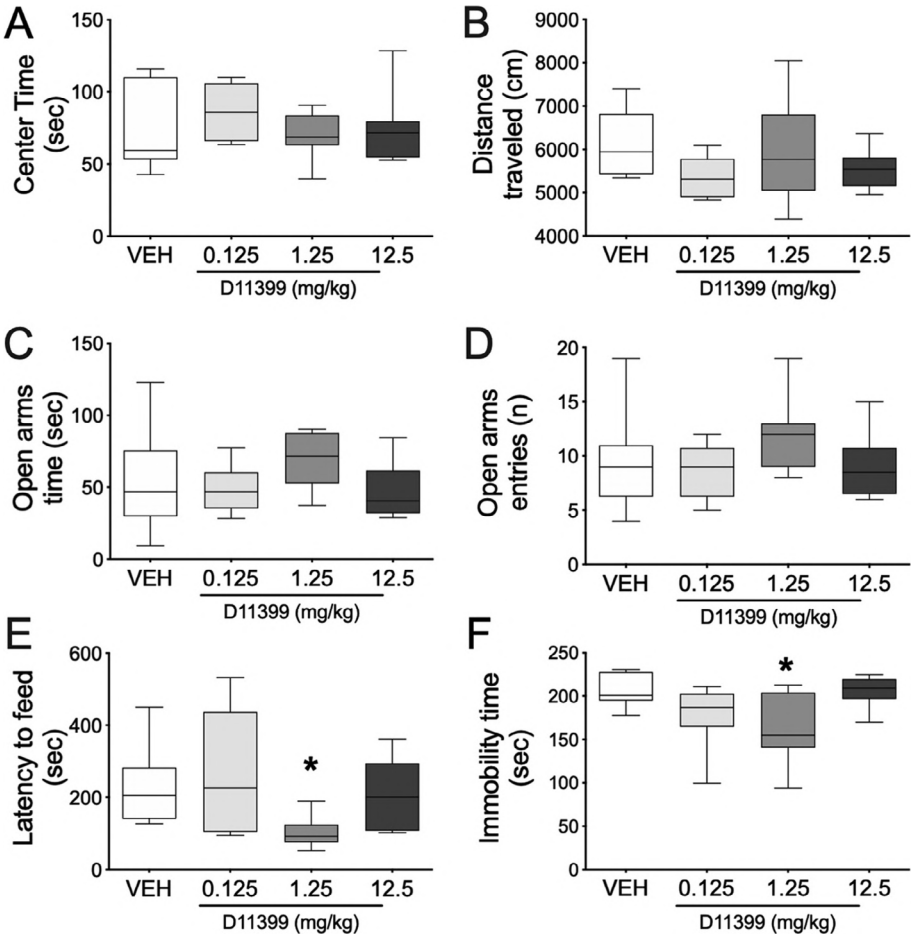


Fig. 1. D11399 induces antidepressant-like effects in non-stressed mice. Four groups of mice were used and administered with D11399 (0.125; 1.25 or 12.5 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH) in the drinking water for 1 week. The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of time spent in center zone of the open-field (OF) and total distance travelled **(A, B)**, time spent and number of entries in the open arms of the elevated plus maze (EPM) **(C, D)**, latency to feed in the novelty suppressed feeding (NSF) **(E)** and immobility time in the forced swim test (FST) **(F)**. $n = 8$ mice per group. *$p < 0.05$: significantly different from the VEH administered group.

two-way ANOVA with time and treatment factors was used. When a main effect of time or interaction time × treatment was significant, comparisons were analyzed using a Tukey post-hoc test (Fig. 5). For SPT, the percentage of sucrose preference was analyzed using a one sample *t*-test (comparison to the 50% chance value) to reveal sucrose preference (Fig. 4). Cell counts were evaluated by Kruskal–Wallis test followed by post hoc analysis to identify significant pairwise differences. GraphPad Prism7 software was used for these statistical analysis (significance level was set at $p < 0.05$) and to prepare the graphs.

RESULTS

Behavioral tests in non-stressed CD1 mice given D11399 in the drinking water

In an attempt to examine the putative anxiolytic- and antidepressant-like activities of D11399, we first tested its effects in various behavioral paradigms such as the OF, the elevated plus maze (EPM), the novelty suppressed feeding (NSF) and the forced swimming test (FST) in naïve mice. In the OF and EPM, one-way ANOVA did not reveal any significant effect of treatment factor ($F_{3,28} = 0.7$, $p = 0.53$ for the time spent in the center zone of the arena, $F_{3,28} = 1.4$, $p = 0.24$ and $F_{3,28} = 1.5$, $p = 0.22$ for the time spent and number of entries in the open arms; respectively) (Fig. 1A–D). In a marked contrast, a significant effect of treatment factor was unveiled on the latency to feed in the NSF ($F_{3,28} = 2.9$, $p = 0.04$). In particular, D11399 administered at the dose of 1.25 mg/kg/day LW significantly reduced the latency to feed ($p = 0.04$) compared to control VEH mice while the lower (0.125 mg/kg/day LW) and the higher (12.5 mg/kg/day LW) doses failed to do so ($p = 0.98$ and $p = 0.97$; respectively) (Fig. 1E). In the FST, a significant effect of treatment factor was also detected on the immobility time ($F_{3,28} = 4.3$, $p = 0.012$). Again, the dose of 1.25 mg/kg/day LW of D11399 significantly reduced this parameter ($p = 0.02$) but not the doses of 0.125 and 12.5 mg/kg/day LW ($p = 0.21$ and $p = 0.99$; respectively) (Fig. 1F).

Because the behavioral effects of D11399 could depend on how it is perceived in mice (i.e., rewarding or aversive stimulus), we performed a drinking preference test. Our results indicate that in the early days of treatment (D1–D3), mice displayed a slight preference for D11399 with a statistically significant effect after 3 days of exposure ($p = 0.015$). In a marked contrast, no preference for D11399 was detected in the following days (D4–D7), ruling out the possibility that a rewarding effect of D11399 interfered with the mice behavior evaluated at D7 (Fig. S1).

Behavioral tests in non-stressed CD1 mice given D11399 by oral gavage

To determine whether the behavioral effects of D11399 recruit the olfactory system, we then conducted the same battery of tests using a daily oral gastric gavage. As observed after its continuous administration in the drinking water, D11399 did not modify anxiety in the OF (time spent in the center zone of the arena: $t_{28} = 0.14$, $p = 0.88$; Fig. 2A) and the EPM (time spent and number of entries in open arms: $t_{28} = 0.38$, $p = 0.71$ and $t_{28} = 2.01$, $p = 0.06$ respectively; Fig. 2C, D). Interestingly, this lack of effect was also observed in the

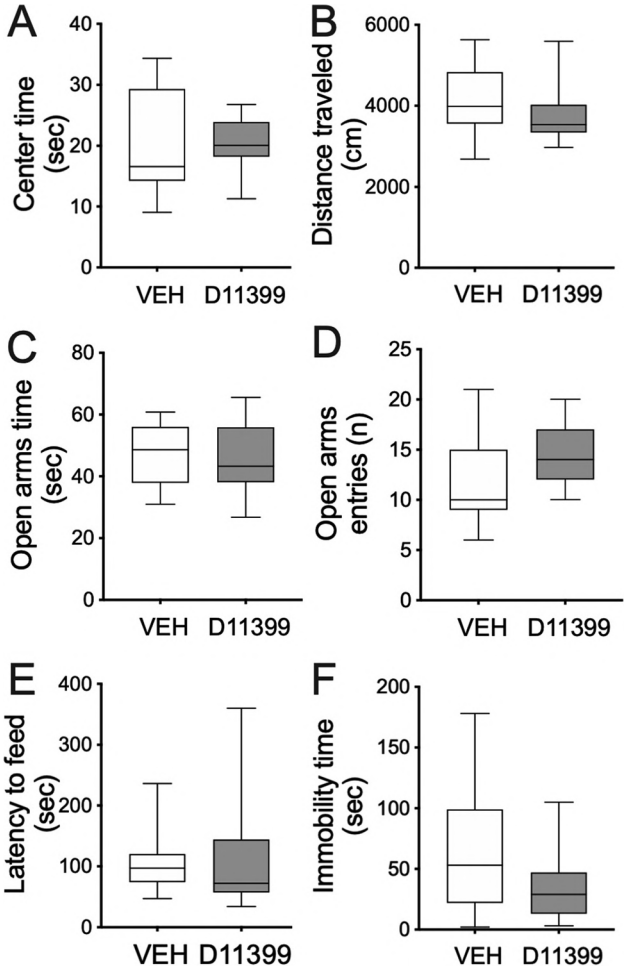


Fig. 2. Attenuation of D11399-induced antidepressant-like effects after oral gavage administration in non-stressed mice. Two groups of mice were used and administered with D11399 (1.25 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH) by gavage for 1 week. The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of time spent in center zone of the open-field (OF) and total distance travelled **(A, B)**, time spent and number of entries in the open arms of the elevated plus maze (EPM) **(C, D)**, latency to feed in the novelty suppressed feeding (NSF) **(E)** and immobility time in the forced swim test (FST) **(F)** (n = 15 mice per group).

NSF (latency to feed in the NSF: t_{28} = 0,24, p = 0.31; Fig. 2E) and the FST (immobility time: t_{28} = 1.81, p = 0.07; Fig. 2F).

Behavioral tests in non-stressed CD1 mice given D11399 while displaying loss of olfaction

In a new set of experiments, we sought to determine to what extent olfaction contributed to the beneficial behavioral effects of D11399 at the active dose of 1.25 mg/kg/day LW. To this end, we first validated the ability of a single administration of methimazole, an antithyroid drug, to induce long-lasting (i.e. 10 days) loss of olfaction in naïve mice as previously reported (Blanco-Hernandez et al., 2012). Our results indicated that CD1 mice displayed a significant reduction and increase; respectively, of time spent and latency to sniff a piece of paper soaked in female urine 2, 5 or 10 days after the injection of methimazole (Fig. S2). We then

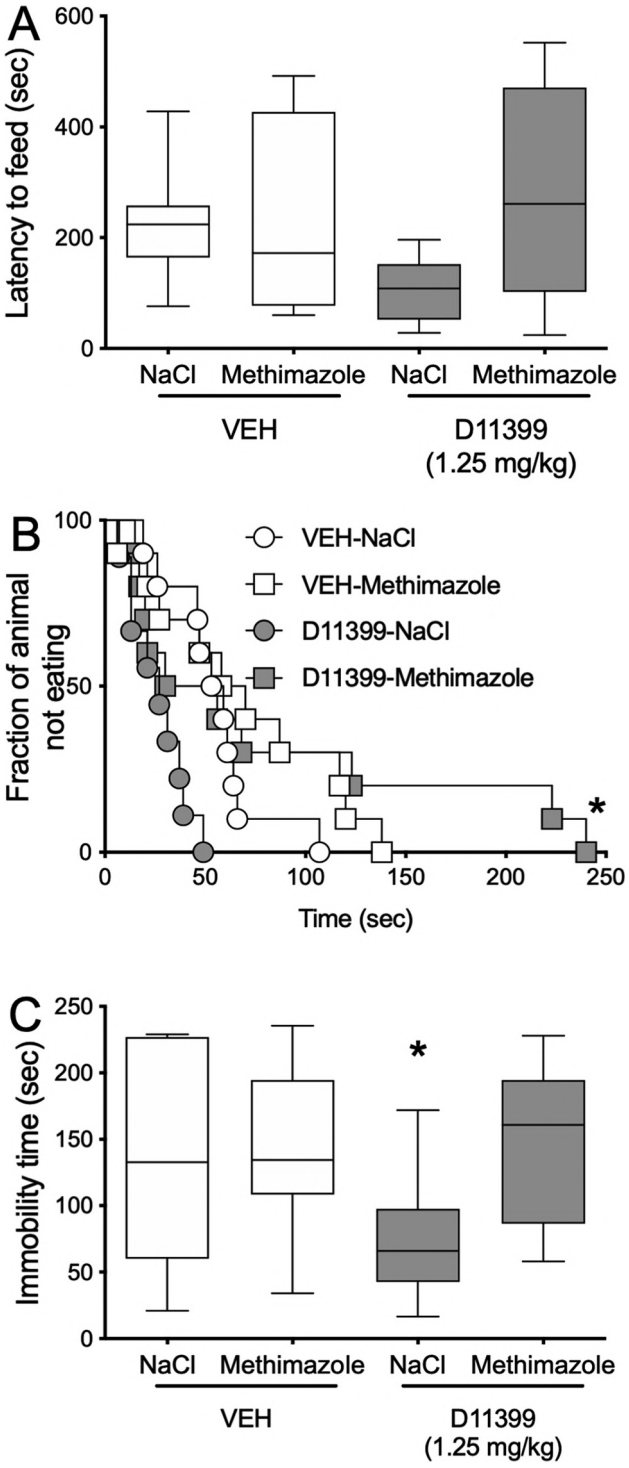
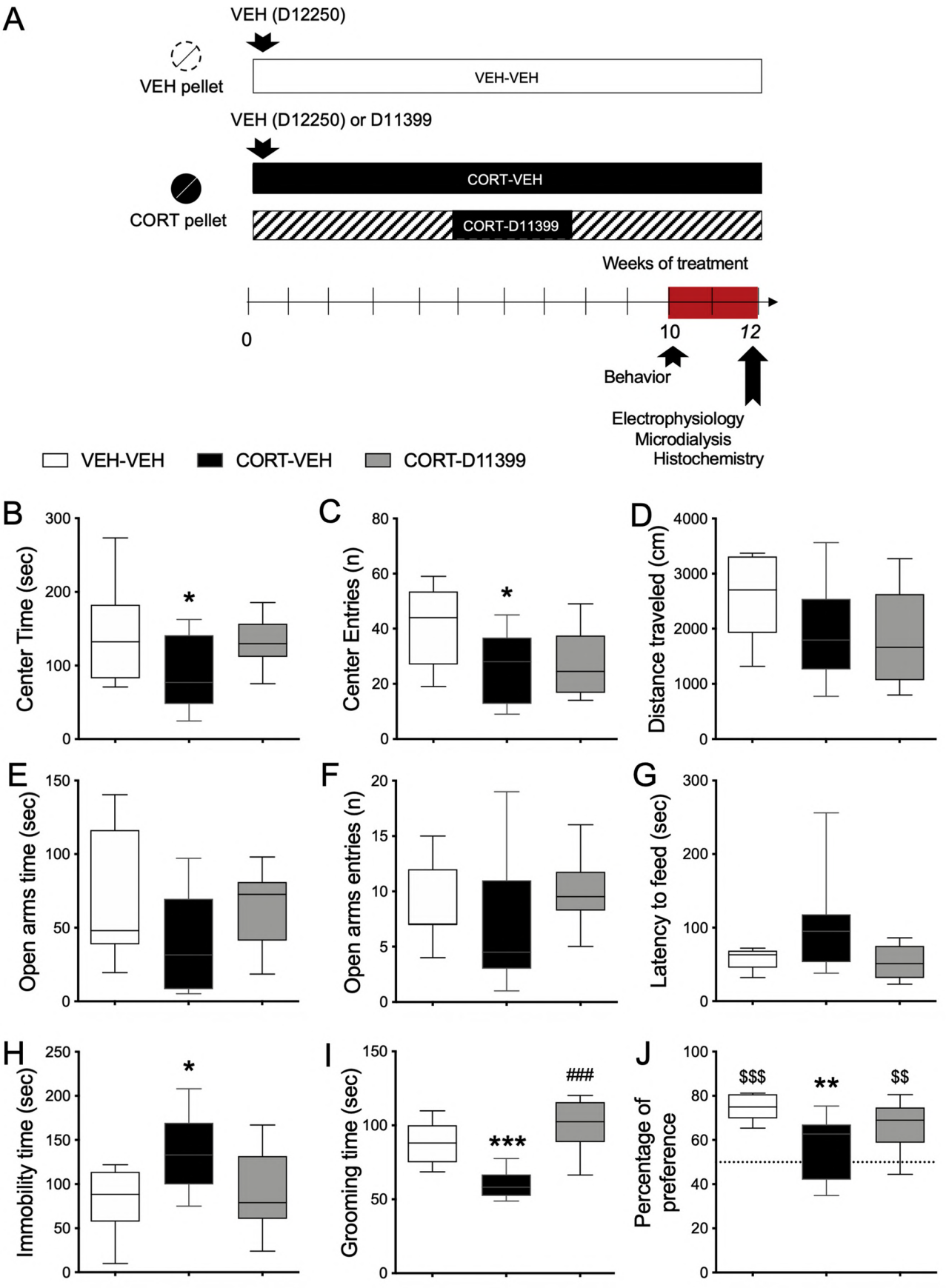


Fig. 3. Attenuation of D11399-induced antidepressant-like effects after the inactivation of olfaction by methimazole in non-stressed mice. Four groups of mice were used. Two groups were pre-treated with a single administration of methimazole (100 mg/kg; i.p.) or its vehicle (NaCl 0.9%). Both groups were then split to receive either D11399 (1.25 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH) in the drinking water for 1 week. The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of latency to feed in the novelty suppressed feeding (NSF) **(A)**. Results are expressed as cumulative survival with percentage of animals that have not eaten over 10-min **(B)**. In the forced swimming test (FST), data are mean ± SEM of immobility time **(C)**. n = 10 mice per group. *p < 0.05: significantly different from the corresponding group of mice administered with NaCl 0.9%.


A
VEH (D12250)
VEH pellet
VEH-VEH
VEH (D12250) or D11399
CORT-VEH
CORT pellet
CORT-D11399
Weeks of treatment
0
10
12
Behavior
Electrophysiology
Microdialysis
Histochemistry
VEH-VEH
CORT-VEH
CORT-D11399
B
Center Time (sec)
C
Center Entries (n)
D
Distance traveled (cm)
E
Open arms time (sec)
F
Open arms entries (n)
G
Latency to feed (sec)
H
Immobility time (sec)
I
Grooming time (sec)
J
Percentage of preference

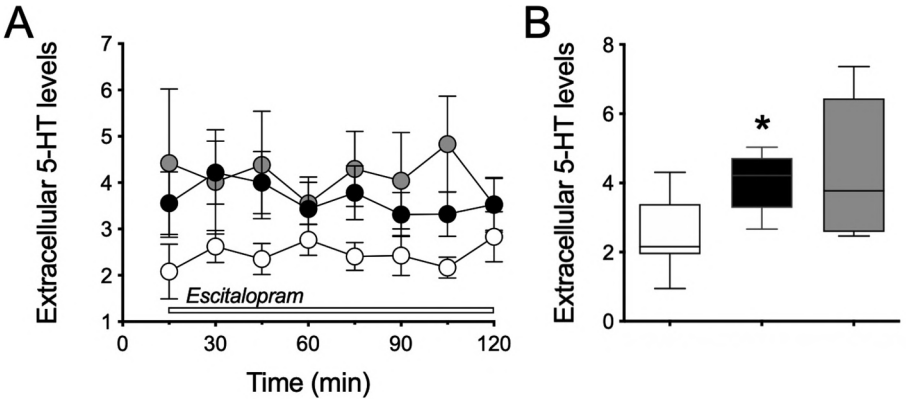


Fig. 5. D11399 does not modify CORT–induced increase in 5-HT release in the ventral hippocampus. Three groups of mice were used: one group received a subcutaneous implantation of vehicle pellets (VEH) and two others, a subcutaneous administration of corticosterone pellets (CORT). The latter two groups of CORT mice were concomitantly treated with D11399 (1.25 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH). The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of basal extracellular 5-HT levels in the ventral hippocampus (vHPC) (pg/15 μl) over time **(A)** and averaged on the 0–120-min period **(B)** in the presence of escitalopram (1 μM) perfused through the dialysis probes during the whole sample collection. *$p < 0.05$: significantly different from VEH–VEH administered group.

pre-treated VEH- or D11399-administered mice with a single administration of NaCl or methimazole and evaluated their behavior one week after the initiation of the treatments.

In the NSF, two-way ANOVA revealed a significant effect of pre-treatment ($F_{1,36}$ = 4,4; p = 0.04) but not of treatment ($F_{1,36}$ = 1,5; p = 0.22) or the interaction between these main factors ($F_{1,36}$ = 0.2; p = 0.62) (Fig. 3A). Unfortunately, pairwise comparisons did not allow us to unveil significant differences between groups. We thus decided to analyze our data using the survival curve. Doing so, in VEH-administered mice we showed that methimazole failed to modify the latency to feed ($p > 0.05$) but it significantly increased this parameter in D11399-treated mice ($p < 0.05$) (Kaplan-Meier survival analysis, Mantel-Cox long-rank test; p = 0.007; Fig. 3B).

In the FST, two-way ANOVA revealed a significant effect of pre-treatment ($F_{1,36}$ = 4,2; p = 0.04) but not of treatment ($F_{1,36}$ = 1,8; p = 0.18) or the interaction between these main factors ($F_{1,36}$ = 3.3; p = 0.07). Interestingly, although methimazole had no effect in VEH-administered mice compared to mice pre-treated NaCl, it significantly reversed D11399-induced decrease of immobility time (Fig. 3C).

Behavioral tests in C57BL/6JRj mice exposed to CORT

Based on the latter results, we then evaluated the effects of D11399 (1.25 mg/kg/day LW) in a mouse model of depression based on chronic exposure to subcutaneous CORT or its vehicle (VEH) for 10 weeks (Fig. 4A). In the OF, one-way ANOVA revealed a significant effect of treatment factor on time and entries in the center zone of the arena ($F_{2,27}$ = 3.6, p = 0.03 and $F_{2,27}$ = 4.2, p = 0.02; respectively) while no significant effect was unveiled regarding total distance travelled ($F_{2,27}$ = 2,3, p = 0.11). Post-hoc analysis showed a significant decrease of time spent in center of arena (p = 0.04) and in the number of entries in the center (p = 0.03) in CORT–VEH treated mice compared to VEH–VEH (Fig. 4B, C). Interestingly, the decrease in time spent in the center of arena was no longer evident in CORT–D11399 mice compared to VEH–VEH mice (p = 0.91) (Fig. 4B). However, this parameter was not significantly different between CORT–VEH and CORT–D11399 mice (p = 0.11) thereby suggesting a partial reversal of anxiety by D11399 (Fig. 4B). In the EPM test, one-way ANOVA did not show significant effects of treatment factor for the time spent ($F_{2,27}$ = 1.6, p = 0.22) and the number of entries in open arms ($F_{2,26}$ = 1.04, p = 0.36) (Fig. 4E, F). In the NSF, one-way ANOVA revealed a significant effect of treatment factor ($F_{2,26}$ = 3.5, p = 0.04). Although an increase in the latency to feed was observed in CORT–VEH compared to VEH–VEH, this effect did not reach statistical significance (p = 0.09). Interestingly this latency to feed did not differ between VEH–VEH and CORT–D11399 mice (p = 0.96) (Fig. 4G). Importantly, home cage consumption was not different between groups ($F_{2,26}$ = 1.2, p = 0.29) thereby ruling out the possibility that changes observed in the latency to feed were related to changes in hunger.

In the TST, one-way ANOVA indicated a significant effect of treatment factor ($F_{2,26}$ = 4.6, p = 0.01). This was reflected by a significant increase in immobility time

Fig. 4. D11399 reverses CORT–induced anxiety and depressive-like phenotype. Three groups of mice were used: one group received a subcutaneous implantation of vehicle pellets (VEH) and two others, a subcutaneous administration of corticosterone pellets (CORT). The latter two groups of CORT mice were concomitantly treated with D11399 (1.25 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH). Experimental protocol **(A)**. The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of time spent and number of entries in the center zone of the open-field (OF) **(B, C)** and total distance travelled **(D)**, time spent and number of entries in the open arms of the elevated plus maze (EPM) **(E, F)**, latency to feed in the novelty suppressed feeding (NSF) **(G)**, immobility time in the tail suspension test (TST), time of grooming in the splash test (ST) **(H)** and percentage of preference in the sucrose preference test (SPT). n = 9–10 mice per group. *$p < 0.05$, **$p < 0.01$ and ***$p < 0.001$: significantly different from the VEH administered group. $^{###}p < 0.001$: significantly different from the CORT–VEH group, $^{\$}p < 0.05$ and $^{\$\$}p < 0.01$: significantly different from the chance value (50%).

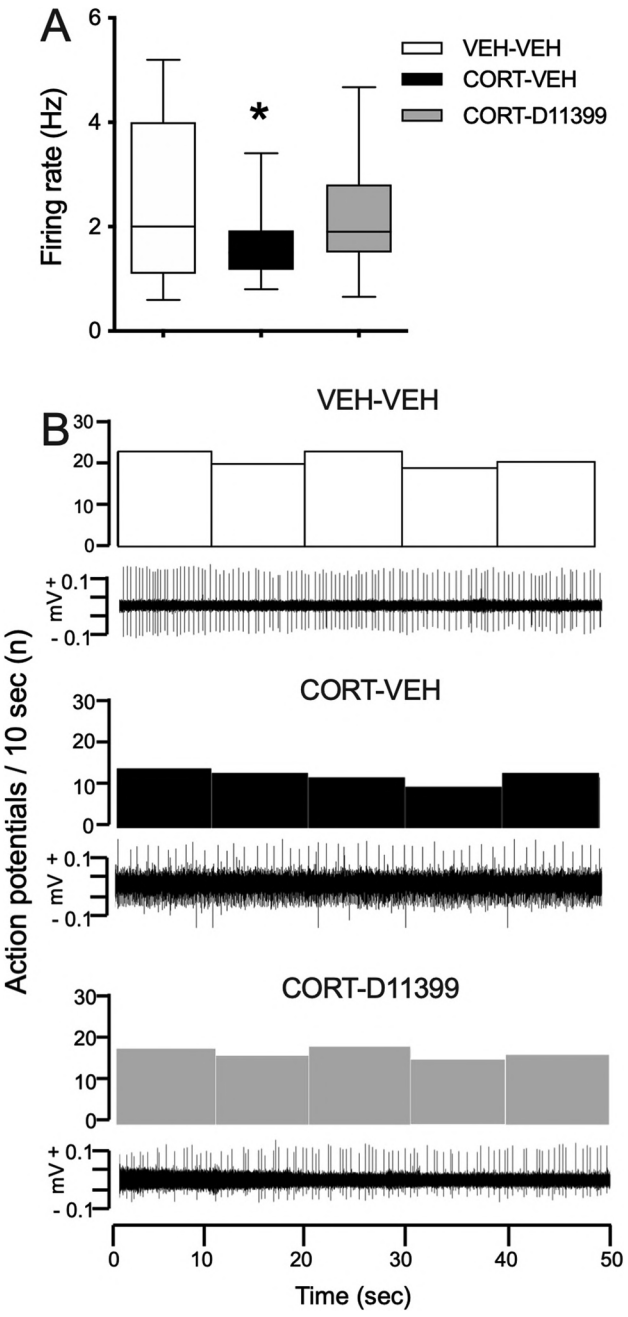


Fig. 6. D11399 reverses CORT–induced decrease in dorsal raphe 5-HT neuronal activity. Three groups of mice were used: one group received a subcutaneous implantation of vehicle pellets (VEH) and two others, a subcutaneous administration of corticosterone pellets (CORT). The latter two groups of CORT mice were concomitantly treated with D11399 (1.25 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH). The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of DR 5-HT firing rate (Hz) **(A)**. Typical traces from a mouse of each experimental group are presented **(B)**. $n = 5$ mice per group. *$p < 0.05$: significantly different from VEH–VEH administered group.

in CORT–VEH compared to VEH–VEH mice ($p = 0.01$) whereas this difference was abolished in CORT–D11399 mice ($p = 0.80$) (Fig. 4H). Immobility time was not significantly different between CORT–VEH and CORT–D11399 mice ($p = 0.07$) emphasizing a partial reversal of despair by D11399 (Fig. 4H). In the ST, used for assessing self-care, a significant effect of treatment was found ($F_{2,26} = 18.4$, $p < 0.001$). CORT–VEH treated mice showed a significant decrease in time of grooming in ST ($p < 0.001$) compared to VEH–VEH mice which was not present in CORT–D11399 mice ($p = 0.22$) (Fig. 4I). Interestingly, a significant difference on time of grooming was observed between CORT–VEH and CORT–D11399 mice ($p < 0.001$). Finally, in SPT, one-way ANOVA showed a significant effect of treatment factor ($F_{2,26} = 6.1$, $p = 0.007$). Sucrose preference in CORT–VEH mice was significantly lower than in VEH–VEH group ($p = 0.005$) but not in CORT–D11399 ($p = 0.23$) compared to VEH–VEH. It is also noteworthy that sucrose preference was not different from the chance level in CORT–VEH treated mice ($p = 0.20$) whereas a significant preference was detected in both VEH–VEH ($p < 0.001$) and CORT–D11399 ($p = 0.002$) (Fig. 4J).

Altogether, these behavioral data emphasize that CORT caused an anxio-depressive-like phenotype which is attenuated by D11399.

Study of the monoaminergic systems in C57BL/6JRj mice exposed to CORT

Because an increase in noradrenergic and serotonergic neurotransmissions has been associated to antidepressant-like response, we then determined to what extent these monoaminergic systems were affected in CORT mice treated with VEH or D11399.

Extracellular NE and 5-HT levels in the vHPC

Using *in vivo* intracerebral microdialysis, we next measured the basal extracellular NE and 5-HT levels in the vHPC of freely moving mice. One-way ANOVA revealed a significant effect of treatment factor on basal NE levels ([NE]ext) ($F_{2,12} = 6.7$; $p = 0.01$). In particular, mice exposed to CORT–VEH ($p = 0.04$) or CORT–D11399 ($p = 0.04$) displayed higher [NE]ext than VEH–VEH mice. However, CORT–VEH and CORT–D11399 groups were not statistically different ($p > 0.05$; Table 1).

In a marked contrast, one-way ANOVA for [5-HT]ext, did not unveil significant effect of treatment factor ($F_{2,25} = 1.8$; $p = 0.17$; Table 1). However, given that 5-HT outflow measured by microdialysis reflects a balance between 5-HT uptake and release, we assumed that any increase in 5-HT release at the nerve terminals could have been counterbalanced by an active 5-HT reuptake process. We thus evaluate vHPC extracellular 5-HT levels in the presence of the SERT inhibitor escitalopram (1 μM) directly perfused through the microdialysis probes (Fig. 5A, B). One-way ANOVA indicated a significant effect of treatment factor ($F_{2,21} = 5.1$; $p = 0.016$). Under this condition, CORT–VEH and CORT–D11399 mice displayed higher levels of [5-HT]ext compared to VEH–VEH mice ($p = 0.04$ and 0.02; respectively) but no differences were detected between CORT–VEH and CORT–D11399 ($p > 0.05$; Fig. 5B).

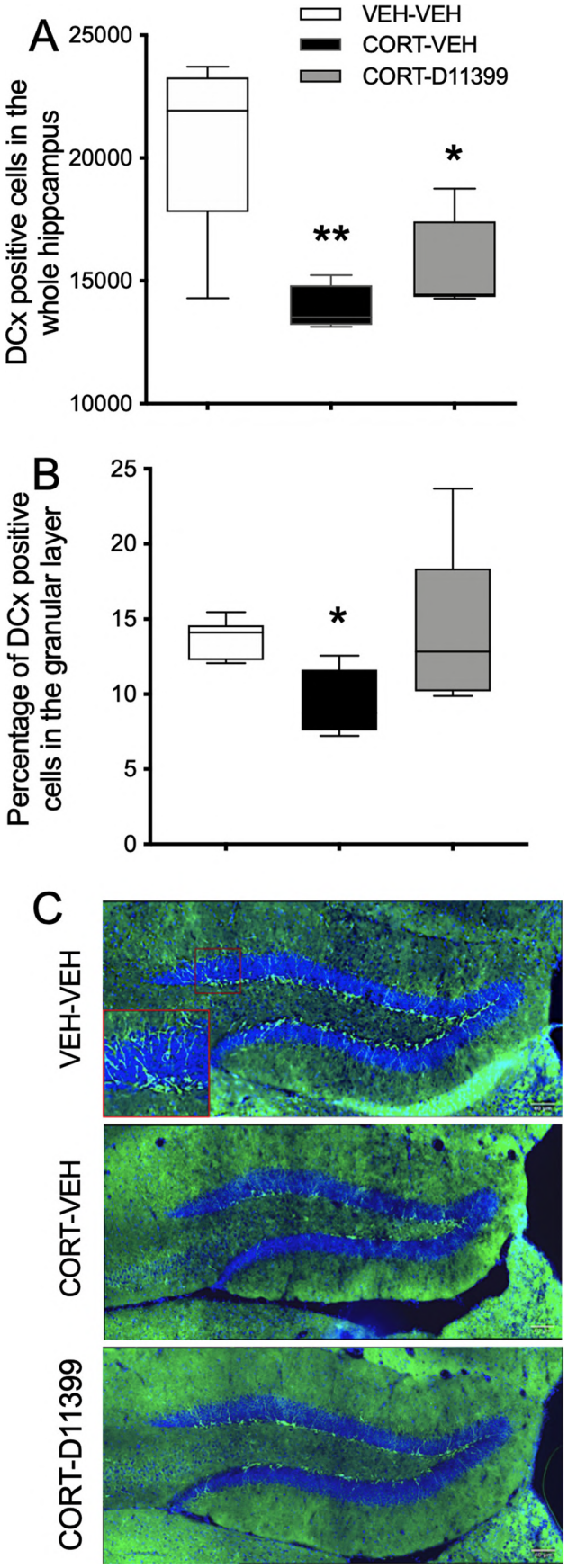


Table 1. D11399 does not modify CORT–induced increase in basal hippocampal extracellular norepinephrine and serotonin levels

Extracellular monoamine levels (pg/15 µl)	VEH–VEH	CORT–VEH	CORT–D11399
NE	2.4 ± 0.3	4.1 ± 0.4*	3.8 ± 0.3*
5-HT	1.1 ± 0.2	1.6 ± 0.4	1.2 ± 0.1

Basal extracellular levels of NE and 5-HT in the hippocampus of VEH–VEH (control), CORT–VEH and CORT–D11399 mice.
* $p < 0.05$: significantly different from VEH–VEH mice.

5-HT neuronal activity in the dorsal raphe nucleus (DRN)

Because 5-HT tone in the vHPC is highly dependent on DRN 5-HT neuronal activity, we then determined the effect of CORT given either alone or in combination with D11399 on the firing rate of this cell population. One-way ANOVA revealed a significant effect of treatment factor ($F_{2,85} = 3.1$; $p = 0.04$). The firing rate of DRN 5-HT was significantly lower in CORT–VEH mice compared to VEH–VEH ($p = 0.04$) and this difference was abolished in CORT–D11399 mice ($p = 0.38$) (Fig. 6A, B). No statistical difference was detected between CORT–VEH and CORT–D11399 mice ($p = 0.16$; Fig. 6A).

Study of the neuronal maturation in the dentate gyrus of the hippocampus in C57BL/6JRj mice exposed to CORT

Finally, we investigated the influence of CORT ± D11399 on neuronal maturation, used as an index of adult hippocampal neurogenesis. Using Kruskal-Wallis test on the number of doublecortin-positive (DCX+) cells, a significant effect of treatment factor was unveiled in the whole dentate gyrus ($H_{2,12} = 8.24$, $p = 0.007$). CORT alone or in combination with D11399 significantly decreased the number of DCX+ cells compared to VEH-VEH mice ($p < 0.01$ and $p < 0.05$ respectively; Fig. 7A). When evaluating the percent of DCX+ cells in the granular layer, Kruskal–Wallis test also revealed a significant effect of treatment factor ($H_{2,12} = 6.01$, $p = 0.04$). Interestingly, a significant reduction in the

Fig. 7. D11399 reverses CORT–induced decrease in hippocampal neuronal maturation. Three groups of mice were used: one group received a subcutaneous implantation of vehicle pellets (VEH) and two others, a subcutaneous administration of corticosterone pellets (CORT). The latter two groups of CORT mice were concomitantly treated with D11399 (1.25 mg/kg/day) or its vehicle (D12250: VEH). The boxplots indicate the median and the 25th and 75th quartiles (boxes) and the 5th and 95th percentile (whiskers) of doublecortin (DCX)-positive cell counts per treatment group in the whole dentate gyrus **(A)**, and of the percent of DCX-positive cells that have migrated in the granular layer **(B)**. Representative image of the dentate gyrus showing DCX immunostaining in green. Scales (white lines) on each photomicrograph represent 40 µm (C). $n = 4$–6 mice per group. *$p < 0.05$ and **$p < 0.01$: significantly different from VEH–VEH administered group.

percent of DCX + cells was detected in CORT–VEH ($p = 0.04$) mice but not in CORT–D11399 ($p > 0.05$) (Fig. 7B-C). No statistical difference was detected between CORT–VEH and CORT–D11399 mice ($p = 0.054$; Fig. 7B).

DISCUSSION

In the present study, we showed that the continuous administration of D11399 in the drinking water produced anxiolytic- and antidepressant-like activities in naïve non-depressed mice. In an attempt to demonstrate the contribution of functional olfaction in such beneficial effects, we tested D11399 after its administration by oral gavage or in presence of methimazole, a drug which has been reported to promote a long-term and reversible inactivation of olfaction. Remarkably, both procedures blocked the effects of D11399. Going one step further, we also showed that D11399 attenuated CORT–induced anxiety and depressive-like state. Mechanistically, our experimental observations suggest that the beneficial effects of D11399 could result from its ability to reverse CORT–induced inhibition of DRN 5-HT neuronal activity and adult-born neuron maturation at the nerve terminals namely in the dentate gyrus of the hippocampus.

The main active component of D11399 is *Citrus sinensis* extract with olfactory/gustatory properties. Several studies have reported that acute or chronic aerial exposure of C*itrus sinensis* elicits anxiolytic- and/or antidepressant-like effects in naïve non-depressed rodents (Wolffenbuttel et al., 2018). Here, we observed in naïve mice that the continuous administration of D11399 in the drinking water elicits anxiolytic-like effects in the NSF and reduces the immobility time in the FST as an index of decreased despair. These findings are interesting since it is well accepted that currently available antidepressant drugs such as the Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRIs) decrease despair while producing anxiogenic effects. Thus, one would expect that D11399 offers a wider spectrum of beneficial effects than antidepressant drugs. It is however important to mention that anxiolytic responses were not detected in the OF and EPM. Such differences could rely on the brain circuits recruited in these paradigms. Indeed, although the OF, EPM and NSF are ethological tests that investigate approach-avoidance conflict, the NSF introduces an additional component of motivation, as the food-deprived animal's drive to eat conflicts with its fear of novel open spaces (Stedenfeld et al., 2011).

The beneficial effects of D11399, lead us to envision that this compound could interfere with the olfactory system. Indeed, although it could seem counterintuitive that the olfactory epithelium is activated following oral administration, a recent study reported than mouse was able to detect and discriminate retronasal odors (Rebello et al., 2015). Such a mechanism may in turn influence stress responses and emotional state. In agreement with this hypothesis, it has been shown that surgical removal of the olfactory bulbs in rats or mice leads to a number of changes usually associated with depression (Hendriksen and Groenink, 2015). In particular, bulbectomy is associated with impaired adult hippocampal neurogenesis (Morales-medina et al., 2017), neurodegeneration in the lateral habenula (Oral et al., 2013) as well as modifications of monoamonergic neuronal activities (Masini et al., 2004; Van der Stelt et al., 2005). Although the underlying mechanisms are poorly documented, it has been proposed that such deficits result from a loss of connectivity between the olfactory bulbs and the limbic system (Song and Leonard, 2005). In an attempt to determine to what extent olfaction played a role in the beneficial behavioral effects of D11399, we conducted a new set of experiments using the oral gavage administration. Our results show that D11399 was no longer effective in the NSF and FST. Although these results strongly suggest a role of olfaction in D11399 activity, we cannot rule out the possibility that the olfactory epithelium was activated using this route of administration. In light of this possibility, we thus implemented another strategy aimed at testing D11399 in presence of methimazole, an antithyroid drug known to cause damage of the olfactory epithelium (Bergstrom et al., 2003). As expected, we found that methimazole induced long-lasting inhibition of olfaction. At the behavioral level, we provided evidence that methimazole by itself did not influence the spontaneous behavioral responses in the NSF and FST. Strikingly, we observed that methimazole prevented the anxiolytic- and antidepressant-like activities of D11399 in both paradigms. The latter experiments emphasize the necessity of the olfactory system in the behavioral activity of D11399 but it did not demonstrate its sufficiency. They also reinforce the idea of additional systemic effects following D11399 oral administration. Although the mechanisms of action have yet to be determined, several hypotheses can be advanced. D11399 contains D-limonene which is an aliphatic hydrocarbon classified as a cyclic monoterpene. This is also one major component in the citrus essential oils (Dosoky and Setzer, 2018) and we can assume that the beneficial effects of D11399 could result, at least in part, from the activation of its preferential olfactory receptors namely Olfr56 and Olfr124 (Koyama and Heinbockel, 2020). D-limonene could also act through non-olfactory receptors expressed in the olfactory epithelium such as transient receptor potential channels (TRP) (Lin et al., 2007) that are expressed in olfactory sensory neurons. These neurons synapse with mitral cells in the olfactory bulbs projecting to multiple areas of the limbic system (e.g., amygdala and hippocampus) (Carnavan et al., 2011; Mainland et al., 2014) and their activation could be a putative mechanism by which D11399 could exerts its beneficial effects on emotional state. Interestingly, Olfr56 and Olfr124 are also found in the mouse gut (Koyama and Heinbockel, 2020) and evidence suggests that their activation could affect the intestinal microflora of mice, more specifically by enhancing the relative abundance of Lactobacillus (Wang et al., 2019). Given the role of microbiota in the regulation of emotional state, D11399 could also interact

in the gut with these micro-organisms to contribute to its anxiolytic and antidepressant-like effects.

To confirm the therapeutic preventive effects of D11399, we decided to extend our results in relevant animal models of depression based on the subcutaneous administration of CORT pellets ensuring a chronic all-day constant delivery of this stress hormone and a dose-controlled administration through drinking water. In agreement with previous data (Demuyser et al., 2016), CORT pellets caused various endophenotypes of depression such as despair in the TST, decreased self-care in the ST and anhedonia in the SPT. We also noticed a significant decrease in the time spent and number of entries in the center of the OF compared to control animals. Our results indicate that D11399 (1.25 mg/kg/day LW dose; p.o.) reversed a part of these behavioral anomalies, strengthening its antidepressant-like profile in pathological conditions. This is consistent with previous findings reporting that *Citrus sinensis* exerts beneficial effects in other animal models of depression such as the chronic unpredictable mild stress (UCMS) after sniffing (Zhang et al., 2019). Remarkably, the beneficial effects of D11399 detected in CORT mice, extended beyond those detected in naïve non-stressed mice. For example, we showed that D11399 exerted anxiolytic effects in the OF while it failed to do so in naïve non-depressed mice. The latter findings are consistent with the fact that psychotropic drugs mainly act on psychopathological conditions.

Mechanistically, it is well known that 5-hydroxytryptamine (5-HT) but also Norepinephrine (NE) are the primary contributors to MD and that most antidepressant drugs act by enhancing monoaminergic tone in various brain areas such as the hippocampus. As mentioned earlier, the latter brain region is anatomically and functionally connected to the olfactory bulbs or the gut, both being directly or indirectly sensitive to odors. Thus, we raised the possibility that the anxiolytic/antidepressant-like effects of D11399 result from the activation of 5-HT/NE systems. Our results indicated that CORT significantly increased basal extracellular norepinephrine levels in the hippocampus. This effect of CORT is well described and contributes to activate the hypothalamic–pituitary–adrenal axis, thereby eliciting stress responses and anxiety (Itoi and Sugimoto, 2010). However, we noticed that D11399 did not reverse CORT–induced increase in hippocampal [NE]ext. Owing to the functional interactions between monoaminergic neurons (Guiard et al., 2009), we then explored the influence of CORT on the serotonergic system. We did not observe any increase in basal hippocampal extracellular 5-HT levels ([5-HT]ext) in CORT mice. Because 5-HT outflow measured by microdialysis reflects a balance between 5-HT uptake and release, we assumed that any increase in 5-HT release at the nerve terminals may be counterbalanced by an active 5-HT reuptake process. If this assumption is correct, stimulating effects on basal extracellular 5-HT levels would be revealed in the presence of a SERT inhibitor. To address this possibility, we perfused the SSRI escitalopram through the dialysis probe. Under these conditions, we showed that CORT–VEH mice display higher hippocampal [5-HT]ext than controls suggesting that CORT favored the release of 5-HT. The latter finding concurs with the fact that stress and activation of glucocorticoid receptors (GRs) increase the expression/activity of the tryptophan hydroxylase 2 (TPH2), the rate-limiting enzyme in the synthesis of neuronal 5-HT (Donner et al., 2018). Despite these experimental precautions, we did not observe any effect of D11399 on CORT–induced increase in hippocampal 5-HT release. We then studied the firing rate of 5-HT neurons in response to CORT given either alone or in combination with D11399. We showed that CORT decreased the firing of DR 5-HT neurons whereas D11399 reversed this response. To reconcile the neurochemical and electrophysiological data, it is plausible that CORT stimulated the release of 5-HT in the DR as observed in the hippocampus and that the excess of this monoamine around 5-HT cell bodies activated inhibitory somatodendritic 5-HT1A autoreceptor, which in turn, could have contributed to reduce DR 5-HT neuronal activity. On these grounds, D11399 would act by preventing the overactivation of 5-HT1A autoreceptor. Interestingly, several studies reported that administration of *Citrus extracts* increase hippocampal 5-HT and NE (Komori et al., 1995; Komiya et al., 2006) while decreasing serum levels of CORT (Yi et al., 2008). Given that these studies were conducted in naïve non-depressed animals, one would expect that the chronic exposure to CORT significantly impacts brain circuits to minimize the action of D11399 on the monoaminergic systems. Finally, the nature of the active compounds, the route of administration as well as the exposure duration represent a combination of multiple factors that might explain the discrepancies between these studies and our findings.

To further investigate the mechanism of action of D11399, we finally focused our attention on adult-born immature neurons in the hippocampus used as an index of adult hippocampal neurogenesis. It is now well accepted that the enhancement of hippocampal neurogenesis is important in the mechanism of action of antidepressant drugs (Santarelli et al., 2003). We showed that CORT mice displayed a decrease in the number of DCX-positive cells in the dentate gyrus of the hippocampus whereas D11399 did not prevent this decrease. However, during their maturation, adult-born neurons migrate from the sub-granular zone to the granular cell layer of the DG. A more detailed analysis revealed that CORT decreased the percentage of DCX+ cells in the granular layer of the DG, suggesting a maturation defect. Interestingly, D11399 prevented this effect. This positive action concurs with our electrophysiological data of 5-HT neurons but not with the microdialysis experiments. In light of the latter data, it would be interesting to measure extracellular 5-HT levels specifically in the DG instead of the CA1 subregion of the hippocampus as described herein. Nevertheless, our observations concur with previous data showing that chronic inhalation of *Citrus sinensis* restored

UCMS-induced downregulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and its receptor TrkB expression in the hippocampus (Zhang et al., 2019). An indirect mechanism could explain this effect since granule cells in the DG receive, through the perforant path, massive afferents from the lateral olfactory tract (Sosulski et al., 2011; Strauch and Manahan-Vaughan, 2020). The DG appears to be sensitive to olfactory stimulation and one would expect that functional modification of this pathway might represent a substrate for the antidepressant-like properties of D11399.

Altogether our results highlight an anxiolytic/antidepressant-like activity of the sensory functional food ingredient D11399 (1.25 mg/kg/day LW dose; p.o.) in adult male mice and this could result from the activation of a brain circuit arising from the olfactory system and dynamically influence the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe. Although multiple source of evidence indicate that 5-HT neurons send dense innervation in the olfactory system to regulate olfaction (Steinfield et al., 2015), the present study raises the possibility that the reciprocal functional interactions may also occur to regulate emotional state. Deciphering such a circuit might pave the way to identify new therapeutic targets to relieve depressive symptoms.

FUNDING SOURCES

This study received financial support from Phodé.

AUTHORS' CONTRIBUTION

CNRS: B.C., K.R. and A.H. performed the surgical procedures and conducted the behavioral, neurochemical, electrophysiological and immunohistochemical experiments. They also performed data analyses. B.F., L.M., B.P.G. supervised the study, interpreted the results and wrote the manuscript.

Phode: P.E. and V.N. provided the D11399 and its vehicle (D12250). They also participated in the discussion regarding the design of the study and assisted the academic authors in the proofreading of the manuscript.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

This work received financial support from Phode. Bruno Guiard and Lionel Mouledous currently receive investigator-initiated research support from Phode. Bruno Guiard also served as a consultant in the areas of target identification and validation and new compound development for Lundbeck and Servier in 2011–12 and Theranexus since 2016.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Nathalie Legendre for the coordination of the research project. The authors also greatly acknowledge the «Mouse Behavioral Phenotyping Core» (Center of Integrative Biology, Toulouse, France) and more particularly Sebastien Lopez for his expertise and assistance in setting up behavioral apparatus and procedures. We also thank the ABC facility and ANEXPLO Toulouse for housing mice.

REFERENCES

Aghajanian GK, Vandermaelen CP (1982) Intracellular recordings from serotonergic dorsal raphe neurons: pacemaker potentials and the effect of LSD. Brain Res 238:463–469.

Bergstrom U, Giovanetti A, Piras E, Brittebo EB (2003) Methimazole-induced damage in the olfactory mucosa: effects on ultrastructure and glutathione levels. Toxicol Pathol 31:379–387.

Blanco-Hernandez E, Valle-Leija P, Zomosa-Signoret V, Drucker-Colin R, Vidaltamayo R (2012) Odor memory stability after reinnervation of the olfactory bulb. PLoS ONE 10 e46338.

Carnavan SV, Mayes LC, Treolar HB (2011) Changes in maternal gene expression in olfactory circuits in the immediate postpartum period. Front Psychiatry 2:40.

Chioca LR, Antunes VD, Ferro MM, Losso EM, Andreatini R (2013) Anosmia does not impair the anxiolytic-like effect of lavender essential oil inhalation in mice. Life Sci 92:971–975.

Darcet F, Mendez-David I, Tritschler L, Gardier AM, Guilloux JP, David DJ (2014) Learning and memory impairments in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression. Front Behav Neurosci 8:138.

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 (2009) Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron 62:479–493.

Donner NC, Kubala KH, Hassell JE, Lieb MW, Nguyen KT, Heinze JD, Drugan RC, Maier SF, Lowry CA (2018) Two models of inescapable stress increase tph2 mRNA expression in the anxiety-related dorsomedial part of the dorsal raphe nucleus. Neurobiol Stress 8:68–81.

Dosoky NS, Setzer WN (2018) Biological activities and safety of citrus spp. Essential oils. Int J Mol Sci 19:1966.

Demuyser T, Bentea E, Deneyer L, Albertini G, Massie A, Smolders I (2016) Disruption of the HPA-axis through corticosterone-release pellets induces robust depressive-like behavior and reduced BDNF levels in mice. Neurosci Lett 626:119–125.

Griffiths JC, Abernethy DR, Schuber S, Williams RL (2009) Functional food ingredient quality: opportunities to improve public health by compendial standardization. J Func Foods 1:128–130.

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 10:1069–1084.

Guilloux JP, Seney M, Edgar N, Sibille E (2011) Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: relevance to emotionality and sex. J Neurosci Methods 197:21–31.

Hache G, Guiard BP, Le Dantec Y, Orvöen S, David DJ, Gardier AM, Coudore F (2012) Antinociceptive effects of fluoxetine in a mouse model of anxiety/depression. NeuroReport 23:525–529.

Hamon M, Blier P (2013) Monoamine neurocircuitry in depression and strategies for new treatments. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry 45:54–63.

Hendriksen H, Groenink L (2015) Back to the future of psychopharmacology: A perspective on animal models in drug discovery. Eur J Pharmacol 759:30–41.

Hodes GE, Brookshire BR, Hill-Smith TE, Teegarden SL, Berton O, Lucki I (2012) Strain differences in the effects of chronic corticosterone exposure in the hippocampus. Neuroscience 11:269–280.

Hoflich A, Baldinger P, Savli M, Lanzenberger R, Kasper S (2012) Imaging treatment effects in depression. Rev Neurosci 23:227–252.

Itoi K, Sugimoto N (2010) The brainstem noradrenergic systems in stress, anxiety and depression. J Neuroendocrinol 22:355–361.
Kohli P, Soler ZM, Nguyen SA, Muus JS, Schlosser RJ (2016) The association between olfaction and depression: A systematic review. Chem Senses 41:479–486.
Komiya M, Takeuchi T, Harada E (2006) Lemon oil vapor causes an anti-stress effect via modulating the 5-HT and DA activities in mice. Behav Brain Res 172:240–249.
Komori T, Fujiwara R, Tanida M, Nomura J (1995) Potential antidepressant effects of lemon odor in rats. Eur Neuropsychopharmacol 5:477–480.
Koyama S, Heinbockel T (2020) The effects of essential oils and terpene in relation to their routes of intake and application. Int J Mol Sci 21:1558.
Le Dantec Y, Hache G, Guilloux JP, Guiard BP, David DJ, Adien J, Escourrou P (2014) NREM sleep hypersomnia and reduced sleep/wake continuity in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression based on chronic corticosterone administraton. Neuroscience 274:357–368.
Lin W, Margolskee R, Donnert G, Hell SW, Restrepo (2007) Olfactory neurons expressing transient receptor potential channel M5 (TRPM5) are involved in sensing semiochemicals. Proc Natl Acad Sci USA 104:2471–2476.
Mainland JD, Lundström JN, Resiert J, Lowe G (2014) From molecule to mind: an integrative perspective on odor intensity. Trands Neurosci 37:443–454.
Masini CV, Holmes PV, Freeman KG, Maki AC, Edwards GL (2004) Dopamine overflow is increased in olfactory bulbectomized rats: an in vivo microdialysis study. Physiol Behav 81:111–119.
Mendez-David I, Guilloux JP, Papp M, Tritschler L, Mocaer E, Gardier AM, Bretin S, David DJ (2017) S47445 produces antidepressant- and anxiolytic-like effects through neurogenesis dependent and independent mechanism. Front Pharmacol 8:462.
Morales-Medina JC, Iannitti T, Freeman A, Caldwell HK (2017) The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: the hippocampal pathway. Behav Brain Res 317:562–575.
Naudin M, Mondon K, El-Hage W, Desmidt T, Jaafari N, Belzung C, Gaillard P, Hommet C, Atanasova B (2014) Long-term odor recognition memory in unipolar major depression and Alzheimers disease. Psychiatry Res 220:861–866.
Oral E, Aydin MD, Aydin N, Ozcan H, Hacimuftuoglu A, Sipal S, Demirci E (2013) How olfaction disorders can cause depression? The role of habenular degeneration. Neuroscience 240:63–69.
Orrico-Sanchez A, Chausset-Boissarie L, Alves de Sousa R, Coutens B, Rezai Amin S, Vialou V, Louis F, Hessani A, Dansette PM, Zornoza T, Gruszczynski C, Giros B, Guiard BP, Acher F, Pietrancosta , Gautron S (2019) Antidepressant efficacy of a selective organic cation transporter blocker in a mouse model of depression. Mol Psychiatry 25:1245–1259. https://doi.org/10.1038/s41380-019-0548-4.
Paxinos G, Franklin K (1997) The mouse brain in stereotaxic coordinates. San Diego: Academic Press.
Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M (2005) Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. Psychopharmacology 177:245–255.
Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature 266:730–732.
Quesseveur G, David DJ, Gaillard MC, Pla P, Wu MV, Nguyen HT, Nicolas V, Auregan G, David I, Dranovsky A, Hantraye P, Hen R, Gardier AM, Déglon N, Guiard BP (2013) BDNF overexpression in a mouse hippocampal astrocytes promotes local neurogenesis and elicits anxiolytic-like activities. Transl Psychiatry 3 e253.
Rainer Q, Nguyen HT, Quesseveur G, Gardier AM, David DJ, Guiard BP (2012a) Functional status of somatodendritic serotonin 1A autoreceptor after long-term treatment with fluoxetine in a mouse model of anxiety/depression based on reteated corticosterone administration. Mol Pharmacol 81:106–112.
Rainer Q, Xia L, Guilloux JP, Gabriel C, Mocaër E, Hen R, Enhamre E, Gardier AM, David DJ (2012b) Beneficial behavioural and neurogenic effects of agomelatine in a mdel of depression/anxiety. Int J Neuropsychopharmacol 15:321–335.
Rebello MR, Kandukuru P, Verhagen JV (2015) Direct behavioral and neurophysiological evidence for retronasal olfaction in mice. PLoS ONE 10,:e0117218.
Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, Belzung C, Hen R (2003) Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science 301:805–809.
Siopi E, Denizet M, Gabellec MM, de Chaumont F, Olivo-Marin JC, Guilloux JP, Lledo PM, Lazarini F (2016) Anxiety- and depression-like states lead to pronounced olfactory deficits and impaired adult neurogenesis in Mice. J Neurosci 36:518–531.
Song C, Leonard BE (2005) The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. Neurosci Biobehav Rev 29:627–647.
Sosulski DL, Bloom ML, Cutforth T, Axel R, Datta SR (2011) Distinct representations of olfactory information in different cortical centres. Nature 472:213–216.
Steinfield R, Herb JT, Sprengel R, Schaefer AT, Fukunaga I (2015) Divergent innervation of the olfactory bulb by distinct raphe nuclei. J Comp Neurol 523:805–813.
Stedenfeld K, Clinton SM, Kerman IA, Akil H, Watson SJ, Sved AF (2011) Novelty-seeking behavior predicts vulnerability in a rodent model of depression. Physiol Behav 103:210–2016.
Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P (1985) The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology 85:367–370.
Strauch C, Manahan-Vaughan D (2020) Orchestration of hippocampal information encoding by the piriform cortex. Cereb Cortex 30:135–147. pii:bhz077.
Taalman H, Wallace C, Milev R (2017) Olfactory functioning and depression: a systematic review. Front Psychiatry 8:190.
Takahashi M, Yamanaka A, Asanuma C, Asano H, Satou T, Koike K (2014) Anxiolytic-like effects of inhalation of essential oil from Lavandula officinalis: investigation of changes in 5-HT turnover and involvement of olfactory stimulation. Nat Prod Commun 9:1023–1026.
Van der Stelt HM, Breuer ME, Olivier B, Westenberg HGM (2005) Permanent deficits in serotonergic functioning of olfactory bulbectomized rats: an in vivo microdialysis study. Biol Psychiatry 57:1061–1067.
Verret L, Trouche S, Zerwas M, Rampon C (2007) Alzheimer's-type amyloidosis in transgenic mice impairs survival of newborn neurons derived from adult hippocampal neurogenesis. J Neurosci 27:6771–6780.
Xu J, Xu H, Liu Y, He H, Li G (2015) Vanillin-induced amelioration of depression-like behaviors in rats by modulating monoamine neurotransmitters in the brain. Psychiatry Res 225:509–514.
Wang L, Zhang Y, Fan G, Ren JN, Zhang LL, Pan SY (2019) Effects of orange essential oil on intestinal microflora in mice. J Sci Food Agric 99:4019–4028.
Wolffenbuttel AN, Zamboni A, Becker G, Dos Santos MK, Borille BT, de Cassia Mariotti K, Fagundes AC, de Oliveira Salomon JL, Coelho VR, Ruiz LV, de Moura Linck V, Dallegrave E, Cano P, Esquifino AI, Leal MB, Limberger RP (2018) Citrus essential oils inhalation by mice: Behavioral testing, GCMS plasma analysis, corticosterone, and melatonin levels evaluation. Phytother Res 32:160–169.
Wong ML, Kling MA, Munson PJ, Listwak S, Licinio J, Prolo P, Karp B, McCutcheon IE, Geracioti Jr TD, DeBellis MD, Rice KC, Goldstein DS, Veldhuis JD, Chrousos GP, Oldfield EH, McCann SM, Gold PW (2000) Pronounced and sustained central hypernoradrenergic function in major depression with melancholic features: relation to hypercortisolism and corticotropin-releasing hormone. PNAS 97:325–330.

Yeap SK, Beh BK, Ami NM, Yusof HM, Ho WY, Koh SP, Alitheen NB, Long K (2015) Antistress and antioxidant effects of virgin coconut oil in vivo. Exp Ther Med 9:39–42.

Yi LT, Li JM, Li YC, Pan Y, Xu Q, Kong LD (2008) Antidepressant-like behavioral and neurochemical effects of the citrus-associated chemical apigenin. Life Sci 82:741–751.

Zhang LL, Yang ZY, Fan G, Ren JN, Yin KJ, Pan SY (2019) Antidepressant-like effect of Citrus sinensis (L.) Osbeck essential oil and its main component limonene on mice. J Agric Food Chem 67:13817–13828.

APPENDIX A. SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.09.040.

(Received 24 March 2020, Accepted 20 September 2020)
(Available online 9 October 2020)

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Vue d'ensemble

Dans l'introduction de ce manuscrit, nous proposons une revue bibliographique présentant les mécanismes d'actions des antidépresseurs actuellement disponibles sur le marché ainsi que leurs limites thérapeutiques. En effet, en dépit du fait que les antidépresseurs augmentent les concentrations extracellulaires des monoamines de manière quasi immédiate, un certain délai est nécessaire avant que les premiers signes thérapeutiques se manifestent chez le patient. Ce délai est préoccupant et problématique car on sait qu'il existe une augmentation du risque de suicide des patients dépressifs pendant les premières semaines de traitement (Reeves and Ladner, 2010). Plusieurs études se sont intéressées à ce long délai d'action, notamment en cherchant à déterminer les mécanismes neurobiologiques mis en jeu. Grâce aux travaux princeps de l'équipe de Ron Duman à l'université de Yale, l'hypothèse selon laquelle l'efficacité antidépressive à long terme des antidépresseurs serait due à une stimulation de la neuroplasticité, a été proposée. On sait aujourd'hui que l'administration prolongée chez l'animal d'un inhibiteur de la recapture de la sérotonine (ISRS ou IRN) ou l'électroconvulsivo-thérapie augmentent la prolifération et/ou la survie des neurones nouvellement générés dans le gyrus denté de l'hippocampe (Duman et al., 2001). A l'inverse, l'inhibition de cette réponse neurogénique bloque les réponses comportementales associées aux ISRS/IRN, suggérant que l'augmentation de la neurogenèse hippocampique serait nécessaire à l'action antidépressive (Santarelli et al., 2003). L'hypothèse d'une relation étroite entre dépression, traitement antidépresseur et neurogenèse hippocampique est renforcée par d'autres expériences montrant par exemple que la production de nouveaux neurones, réduite par des injections de glucocorticoïdes (taux équivalents à un stress chronique), est normalisée après une série d'électrochocs (Hellsten et al., 2002). Depuis, il est admis que le délai d'action des antidépresseurs coïncide avec le temps nécessaire à l'hippocampe pour produire de nouveaux neurones capables de s'intégrer dans les réseaux préexistants (Malberg et al., 2021). Cela semble aussi suggérer que l'établissement de nouvelles synapses est essentiel dans la régulation de l'humeur et laisse penser que la qualité de la réponse antidépressive dépendrait de la capacité des antidépresseurs à renforcer les synapses de l'hippocampe. A cet effet, il a été montré dans une étude récente qu'une

stimulation très brève de la voie perforante du gyrus denté de l'hippocampe réduit les comportements de type dépressif de manière plus rapide que les antidépresseurs classiques (Kanzari et al., 2018). La "voie perforante" formée des axones du cortex entorhinal, assure l'entrée de l'information dans l'hippocampe et forme la première connexion du circuit hippocampique avec les neurones du gyrus denté. L'hippocampe est une région capitale pour la mémoire et les émotions dans le cerveau des mammifères. Il apparaît donc que l'induction d'une potentialisation à long terme (LTP) soit suffisante pour induire des effets antidépresseurs rapides, même si cet effet est perdu après une semaine (Kanzari et al., 2018). Il est intéressant de noter que les effets bénéfiques de cette LTP sont indépendants d'une stimulation de la neurogenèse hippocampique. Ces résultats sont remarquables dans la mesure où ils suggèrent qu'il est possible de "court-circuiter" la neurogenèse hippocampique adulte, et que le simple fait de favoriser la plasticité synaptique entre la voie perforante et l'hippocampe suffit pour déclencher la manifestation d'effets antidépresseurs. Ces résultats offrent donc de nouvelles perspectives thérapeutiques, basées sur notre compréhension des mécanismes de régulation de la LTP, afin de développer des traitements antidépresseurs à action rapide. En particulier, il a été montré que la LTP dépend, du moins en partie, de l'activité des interneurones GABAergiques à parvalbumine (PV) de l'hippocampe (Ji et al., 2020). Ces interneurones limitent le processus de LTP et de ce fait, leur activation s'opposerait à la réponse antidépressive. En accord avec cette nouvelle hypothèse, il a été montré, au contraire, que les effets antidépresseurs rapides de la kétamine sont liés à son action inhibitrice sur ces interneurones GABAergiques PV^+ (Zhou et al., 2015). On sait aujourd'hui que l'activité de ces interneurones dépend d'une matrice extracellulaire qu'ils expriment autour de leurs corps cellulaires. La présence de cette matrice appelée « perineuronal nets » (PNN) renforce l'activité de ces interneurones, tandis que sa dégradation la réduit (Balmer, 2016). Ainsi, la régulation de cette matrice extracellulaire pourrait jouer un rôle majeur dans les processus de LTP et donc représente potentiellement un mécanisme de neuroplasticité essentiel pour la régulation rapide de l'humeur. A ce jour, le lien entre le réseau PV/PNN et la réponse aux traitements antidépresseurs reste très peu étudié.

A travers mes travaux de thèse, nous avons apporté des éléments concernant le rôle de la plasticité cérébrale dans le développement de l'état pseudo-dépressif chez l'animal, et

concernant la réponse aux traitements antidépresseurs, en s'appuyant sur 3 questions fondamentales qui sont discutées dans cette dernière partie du manuscrit.

1) Quels sont les processus hippocampiques altérés dans le modèle de souris déprimées par l'exposition chronique à la corticostérone ?

Le modèle murin d'exposition prolongée à la corticostérone (CORT) est largement répandu pour l'étude de la pathologie dépressive. Au niveau de la symptomatologie, l'exposition chronique de souris à la CORT entraîne une augmentation de l'anxiété et de la résignation (David et al., 2009) mais aussi un comportement anhédonique (Bacq et al., 2012). De manière intéressante, les perturbations comportementales observées dans ce modèle s'étendent à d'autres traits caractéristiques de la maladie, tels que des troubles du sommeil (Le Dantec et al., 2014), de la mémoire (Darcet et al., 2014) ou de la sensibilité douloureuse (Hache et al., 2012). Mes résultats sont en accord avec ces données et montrent que l'exposition prolongée à la CORT dans l'eau de boisson, ou à l'aide de pellets implantés sous la peau, permet l'établissement d'un phénotype pseudo-dépressif chez la souris. Par ailleurs, l'exposition à la CORT induit des troubles de la mémoire (Article 1 & 2) que nous avons notamment observés dans les tests de reconnaissance sociale et de localisation d'objet, une tâche de dépendante de la neurogenèse hippocampique adulte (Goodman et al., 2010).

- Réseau PV/NN

Un résultat important obtenu au cours de mon travail de thèse concerne le fait que l'exposition des souris à la CORT augmente le nombre d'interneurones PV entourés de PNN dans l'aire CA1 de l'hippocampe dorsal (Article 1). D'ailleurs, une corrélation positive entre le pourcentage de neurones GABAergiques entourés des PNN et les perturbations comportementales (émotionnelles et cognitives) est mise en évidence. **Il apparaît ainsi que plus l'état dépressif ou les perturbations cognitives sont importants, plus la proportion de cellules PV^{+} entourées de PNN dans l'hippocampe est élevée** (Figure 23).

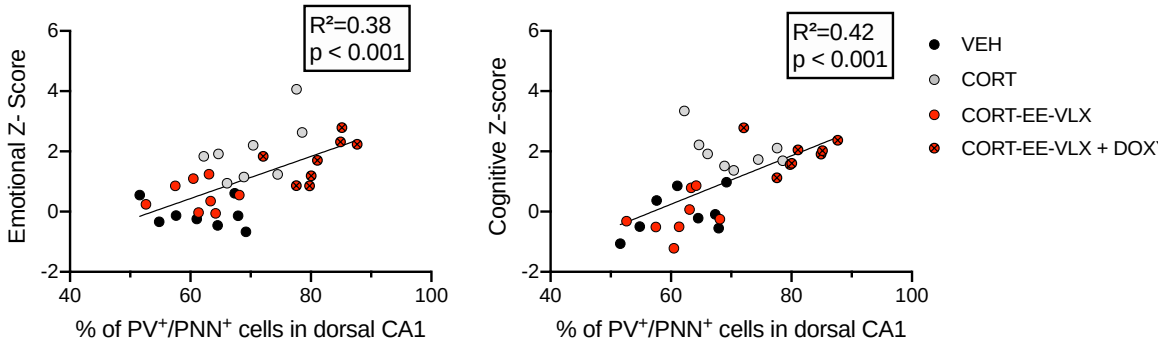


Figure 23. Corrélation entre les z-scores émotionnel (A) et cognitif (B) et le pourcentage d'interneurones PV co-exprimant la WFA, et donc entourés de PNN (PV^+/PNN^+) dans la région CA1 de l'hippocampe dorsal. Ces correlations ont été réalisées à partir des données obtenues dans les expériences avec la doxycycline (voir Partie 1). La doxycycline inhibe les métalloprotéases et assure la stabilisation des PNN autour des interneurones PV+. Le calcul des z-scores a été réalisé en fonction du groupe témoin non exposé à la CORT (VEH, groupe non présenté dans la partie 1). Sur le graphique, chaque point correspond à un animal. Les valeurs de corrélation de Pearson entre les deux paramètres (R^2) et la statistique associée sont encadrées.

Nos résultats sont en accord avec les rares données de la littérature montrant une altération du système PV/PNN dans des modèles murins de dépression et confirment des résultats récents montrant que l'exposition à la CORT augmente la proportion d'interneurones entourés des PNN (Alaiyed et al., 2020a). En revanche, nous ne reproduisons pas certains résultats de l'étude d'Alaiyed qui suggèrent que l'exposition à la CORT induit une augmentation de l'intensité du marquage WFA, ce qui traduirait une densification du maillage PNN autour des interneurones. Cependant, ces auteurs ont étudié l'intensité globale du marquage PNN, alors que nous nous sommes concentrés sur les cellules PV^+/PNN^+. Il est intéressant de noter que l'augmentation du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+ n'est pas spécifique au modèle animal utilisé, puisqu'elle est également retrouvée dans le modèle de défaite sociale (Riga et al., 2017; Koskinen et al., 2020), ce qui renforce l'intérêt de nos données. Dans l'étude de Riga et de ses collaborateurs, certains constituants des PNN augmentent dans le modèle de défaite sociale. La pertinence de ces résultats vis-à-vis de la pathologie est solide, puisque des données similaires sont obtenues chez l'humain, notamment chez des sujets suicidés, victimes d'abus pendant leur enfance (Tanti et al., 2021). Dans le futur, il serait pertinent de confirmer le lien entre le phénotype anxio-dépressif et les altérations du réseau PV^+/PNN^+ au-delà de l'aire CA1 dorsale. Nos résultats préliminaires montrent également une augmentation du pourcentage d'interneurones PV^+/PNN^+ dans les aires CA2 et CA3 de l'hippocampe dorsal chez les souris exposées à la CORT (données non présentées). Si ces données se confirment, elles pourraient permettre d'expliquer les déficits

observés dans le test de reconnaissance sociale, pour lequel, les PNN de la région CA2 semblent fortement impliqués avec une contribution importante dans d'autres pathologies, telle que la maladie d'Alzheimer (Rey et al., 2022).

Une autre piste pour le futur sera de vérifier si les corrélations entre les performances comportementales et la population de cellules PV^+/PNN^+ dans l'hippocampe dorsal sont également observées dans la partie ventrale, qui est intimement liée à la régulation des émotions. Des effets similaires à ceux observés dans l'hippocampe dorsal sont attendus, bien que les modifications du réseau PV^+/PNN^+ dans l'hippocampe dorsal pourraient se répercuter sur la partie ventrale, en raison de la capacité des interneurones à établir des connexions avec des milliers de neurones pyramidaux (Cobb et al., 1997; Chamberland and Topolnik, 2012).

- Matrice extracellulaire

On a vu précédemment que la matrice extracellulaire est composée d'un squelette de polymères d'acide hyaluronique, sur lequel sont attachés des protéoglycanes à base de chondroïtine sulfate (CSPG). Les principaux composants des protéoglycanes sont le lectican, l'aggrécan, le versican, le neurocan et le brevican. Une étude utilisant des souris $brevican^{-/-}$ (modèle génétique de perturbation des PNN), a montré que l'absence de ce brevican diminue la mémoire de travail en lien avec la diminution de la fréquence des potentiels post-synaptiques excitateurs sur les neurones GABAergiques PV+ (Favuzzi et al., 2017). Ainsi, la désorganisation des PNN influencerait négativement la mémoire, alors que dans nos expériences, nous observons au contraire, qu'une augmentation des PNN est corrélée à des perturbations cognitives et émotionnelles.

Pour aller plus loin dans la compréhension des liens existants entre les états émotionnels et le réseau de PNN entourant les interneurones PV^+ de l'hippocampe, nous avons manipulé les PNN en agissant sur une métalloprotéase (MMP), une enzyme responsable de leur dégradation. Nos données montrent que l'exposition à la CORT tend à diminuer l'expression de la MMP9 hippocampique. Si cette tendance était confirmée, cela renforcerait notre hypothèse selon laquelle l'augmentation des PNN autour des interneurones GABAergiques de l'hippocampe est délétère pour les états émotionnels. Il faudra également examiner l'activité protéolytique de cette MMP afin d'étudier son rôle fonctionnel. Cependant, nos résultats sont en contradiction avec une autre étude observant qu'un stress chronique de contrainte augmente l'activité protéolytique de la MMP-9 dans CA1, mais pas dans CA3 (van der Kooij et

al., 2014). Cette étude montre aussi que l'altération des interactions sociales induites dans ce modèle sont corrigées par la perfusion intra-hippocampique d'un inhibiteur des MMP (van der Kooij et al., 2014).

Dans nos travaux, nous avons utilisé la doxycycline comme inhibiteur des métalloprotéases (Bach et al., 2019) afin d'étudier l'effet de la stabilisation du réseau PV/PNN sur l'état émotionnel et cognitif des souris. Comme attendu, l'administration orale de doxycycline augmente la proportion d'interneurones PV^+ entourés de PNN chez les souris exposées à la CORT et empêche les effets antidépresseurs et pro-cognitifs de la venlafaxine et de l'environnement enrichi combinés. Toutefois, ce résultat doit être interprété avec précaution pour deux raisons : (i) la doxycycline administrée via l'alimentation ne cible pas uniquement l'hippocampe, de plus, (ii) ses effets peuvent être liés à son activité antibiotique qui est indépendante de son action sur les MMP. Plusieurs études chez l'animal montrent que les antibiotiques exercent, au contraire, des effets anxiolytiques et/ou antidépresseurs (Desbonnet et al., 2015; Leclercq et al., 2017). Chez l'humain, un traitement à la doxycycline influence la mémoire à valence émotionnelle. Par exemple, une étude montre que le blocage de l'activité de la MMP-9 par la doxycycline, 3,5 heures avant la procédure de conditionnement à la peur, réduit la réponse de peur mesurée une semaine après le test (Bach et al., 2019). Dans cette étude, la doxycycline semble avoir un effet anxiolytique alors qu'une série d'études de cas (« case report ») décrit trois jeunes individus (sans antécédents de troubles mentaux) traités avec la doxycycline pour des affections cutanées et qui développent des idées suicidaires (Atigari et al., 2013). Afin de mieux contrôler la spécificité des cibles, il est nécessaire d'utiliser une approche avec des bloqueurs pharmacologiques plus sélectifs permettant l'inhibition des MMP, directement dans l'hippocampe. Ceci permettrait d'évaluer si l'inhibition spécifique des MMP engendre un phénotype pseudo-dépressif ou permet de reproduire le blocage des effets bénéfiques obtenu avec notre stratégie thérapeutique.

- Influence sur la balance Excitation/Inhibition

Les PNN étant impliqués dans la stabilisation des synapses excitatrices glutamatergiques sur les interneurones GABAergiques, nous avons également étudié la balance Excitation/Inhibition (E/I) dans le modèle de souris exposées à la CORT. En microdialyse intracérébrale, nous avons dosé les concentrations extracellulaires de Glutamate et de GABA

dans l'hippocampe de ces souris. Le ratio Glutamate/GABA diminue dans le modèle de dépression, comme l'indique la figure 24, ce qui semble lié à une augmentation des concentrations extracellulaires de GABA, plutôt qu'à une diminution du glutamate.

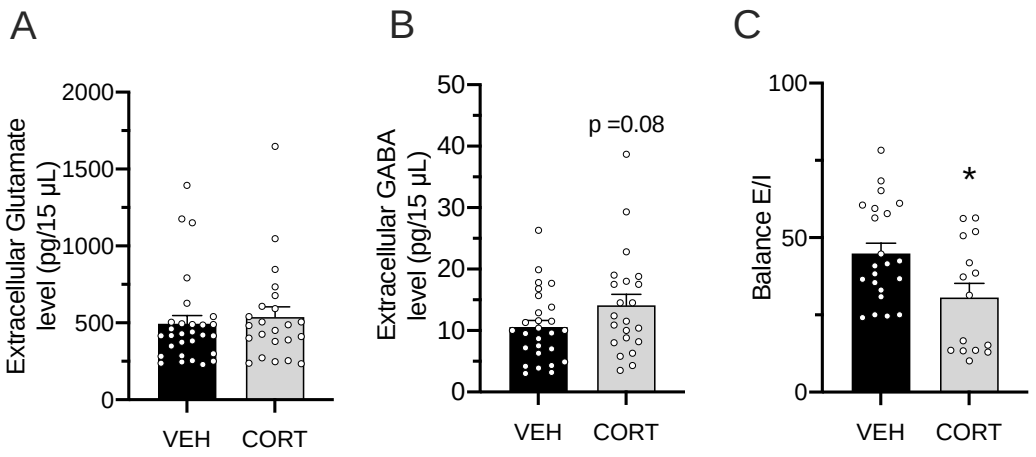


Figure 24. Concentrations extracellulaires de Glutamate (A) et de GABA (B) dans l'hippocampe de souris contrôles (VEH, n=5) et exposées à la corticostérone pendant 10 semaines (CORT, n=4). Des dialysats ont été recueillis pendant 1h30, toutes les 15 minutes afin de doser les deux neurotransmetteurs. Chaque point représente les valeurs obtenues à partir de chaque dialysat. (C) La balance Excitation/Inhibition (E/I) caractérisée par le ratio des concentrations extracellulaires de Glutamate et de GABA. L'analyse statistique révèle une différence significative uniquement pour la balance E/I (t_{35}=2,532, p=0.016). $^{*}p < 0.05$: significativement différent du groupe VEH.

Ces résultats sont intéressants puisqu'ils s'accordent avec le fait que l'augmentation des PNN hippocampiques chez les souris modèles de dépression renforcerait les synapses excitatrices sur les interneurones GABAergiques, conduisant ainsi à un excès de libération locale de GABA. A notre connaissance, notre étude compte parmi les premières à aborder la question de la modulation de la balance E/I à l'aide d'une approche neurochimique par microdialyse. Une étude récente montre qu'une exposition au lipopolysaccharide (LPS), une endotoxine bactérienne responsable d'un phénotype pseudo-dépressif et des troubles cognitifs chez la souris, est associée à une augmentation de la transmission GABAergique et à une diminution de la potentialisation à long terme (LTP) dans l'hippocampe (Ji et al., 2020). De plus, la stimulation de la transmission GABAergique dans CA1 induit un phénotype pseudo-dépressif chez l'animal (Yoon et al., 2020). À la lumière de ces données, et pour confirmer nos résultats de microdialyse, il serait intéressant d'utiliser une approche de patch-clamp sur cellules entières pour mesurer les courants postsynaptiques inhibiteurs miniatures (miPSCs) sur les neurones pyramidaux de CA1. Ceci permettrait d'évaluer la transmission synaptique

inhibitrice GABAergique dans le modèle murin d'exposition chronique à la CORT. Nous nous attendons à observer une augmentation de ces miPSCs qui pourraient avoir des répercussions négatives sur la LTP, par exemple.

L'ensemble de ces données fait également écho à des travaux antérieurs montrant au contraire, que diminuer la transmission inhibitrice améliorerait l'état émotionnel. Par exemple, des doses sub-convulsivantes de bicuculline (un antagoniste des récepteurs $GABA_A$) réduisent significativement le comportement dépressif chez la souris (Betin et al., 1982). De plus, les modulateurs allostériques négatifs du récepteur $GABA_A$ possèdent des effets antidépresseurs à action rapide, et restaurent la force synaptique excitatrice au sein du réseau hippocampique dans le modèle UCMS (Fischell et al., 2015). Ces observations pourraient s'étendre à d'autres structures impliquées dans le trouble dépressif. En effet, une étude récente montre que l'inhibition spécifique des interneurones GABAergiques (SST et PV) du cortex pré-frontal induit des effets antidépresseurs rapides (Fogaça et al., 2021).

Toutefois, des travaux complémentaires sont nécessaires notamment parce que plusieurs arguments persistent à l'encontre de notre hypothèse selon laquelle l'augmentation du tonus GABAergique dans l'hippocampe serait responsable de l'état pathologique de la dépression. Le fait que les benzodiazépines, modulateurs allostériques positifs du récepteur $GABA_A$ qui renforcent la transmission GABAergique, réduisent les symptômes anxieux dans les états dépressifs (Duman et al., 2019), en est un parfait exemple.

- Neurogenèse hippocampique adulte

On a vu dans l'introduction de ma thèse qu'une autre forme de plasticité hippocampique est intiment liée au trouble dépressif. En effet, la modélisation des troubles dépressifs chez le rongeur entraine une diminution de la neurogenèse hippocampique adulte (Pham et al., 2003; Tanti et al., 2012) et le blocage de la neurogenèse engendre une absence d'efficacité des antidépresseurs (Santarelli et al., 2003). Nos travaux confirment ces données puisque l'exposition chronique à la CORT induit un déficit de neurogenèse, caractérisé par une diminution de la prolifération cellulaire, sans atteinte à la survie des nouveaux neurones, comme observé dans la littérature (David et al., 2009; Rainer et al., 2012). Notre étude chez des souris implantées avec des pellets de CORT montre une diminution du nombre de cellules DCX^+ dans le gyrus denté, ce qui peut être interprété de plusieurs façons. En effet, ceci suggère que la CORT accélère la maturation (diminution du temps à exprimer la DCX) mais

peut également refléter une mort cellulaire accrue au stade de neurones immatures, ou encore un engagement plus marqué des nouvelles cellules vers la voie gliale (Coutens et al., 2020). Il serait donc intéressant de réaliser d'autres analyses immunohistochimiques en couplant par exemple, un marquage BrdU avec d'autres marqueurs cellulaires (NeuN ou S100ß) pour éclaircir ce point. L'altération de l'arborisation dendritique des nouveaux neurones chez les souris du modèle CORT est aussi documentée (Fenton et al., 2015; Chan et al., 2017). Il pourrait donc être pertinent d'étudier la morphologie des nouveaux neurones, car cela n'a jamais été fait dans le modèle d'induction d'un phénotype dépressif à l'aide de pellet de CORT.

L'ensemble de nos résultats suggère que les déficits émotionnels et cognitifs induits par l'exposition chronique à la CORT sont associés à des défauts de plasticité hippocampique impliquant les interneurones PV et de leur matrice extracellulaire, qui régulent la transmission GABAergique et la neurogenèse hippocampique adulte.

2) Quels sont les processus de neuroplasticité affectés par nos différentes stratégies antidépressives pharmacologiques et non-pharmacologiques ?

2A) Stratégie pharmacologique : La venlafaxine

Nous avons utilisé la venlafaxine comme antidépresseur de référence car il est très largement prescrit en clinique, et notamment chez notre partenaire Clinéa. Cet antidépresseur cible les systèmes monoaminergiques, en bloquant simultanément les transporteurs de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN). Comme nous l'avons décrit dans l'introduction, les données cliniques montrent que la venlafaxine nécessite, comme les autres classes d'antidépresseurs, plusieurs semaines d'administration avant que les premiers signes thérapeutiques soient observables. À travers une étude longitudinale, nous avons étudié les effets comportementaux de la venlafaxine dans le modèle de souris exposées à la CORT, après 2 et 8 semaines de traitement. Comme attendu sur la base des données cliniques, nos données expérimentales ne montrent aucun effet comportemental bénéfique de la venlafaxine après seulement 2 semaines de traitement. En revanche, après 8 semaines de traitement, des effets antidépresseurs robustes sont mis en évidence. Ces résultats sont en accord avec ceux de la littérature qui rapportent des améliorations non seulement sur l'état émotionnel (Bacq et al.,

2012; Venzala et al., 2012) mais également sur les performances cognitives (Li and Zhang, 2021) avec cet IRSN.

- Réseau PV/PNN hippocampique

Nous observons que 2 semaines de traitement à la venlafaxine ne permettent pas de corriger l'augmentation du nombre de neurones PV^+/PNN^+ induite par la CORT. Il est intéressant de confronter nos résultats aux travaux récents portant sur les effets des antidépresseurs sur ces PNN (Alaiyed et al., 2020a; Mukhopadhyay et al., 2021). Dans l'étude de Alaiyed et al. (2020), l'exposition à la CORT est plus courte (4 semaines) que celle utilisée dans ma thèse, et les auteurs montrent que 2 semaines de traitement à la venlafaxine (30 mg/kg) diminuent les PNN des interneurones GABAergiques. Il est donc possible que dans leur étude, l'altération du réseau PV/PNN soit moins importante que dans nos travaux, et permette de dévoiler un effet comportemental et cellulaire de la venlafaxine. D'ailleurs à la dose utilisée dans les travaux d'Alaiyed (2020), les auteurs observent un effet anxiolytique que nous n'observons pas. Au regard de ces résultats, nous nous attendons à trouver une diminution du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+ dans l'hippocampe des animaux traités 8 semaines à la venlafaxine. Cette analyse n'a pas encore été réalisée. De manière intéressante, un remodelage du réseau PV/PNN hippocampique a été observé après l'administration de fluoxétine chez le marmouset (Ohira et al., 2019), suggérant que les effets observés ne sont pas propres à la venlafaxine.

- Neurogenèse hippocampique adulte

On a vu dans nos travaux que 2 semaines de venlafaxine n'améliorent pas la prolifération des cellules souches neurales, ni la survie des nouvelles cellules. Ces résultats étaient attendus, car on n'observe pas non plus de modifications comportementales à ce délai, bien que (Martisova et al., 2015) rapporte une augmentation de la prolifération à ce court délai. Les effets neurogéniques induits par 2 semaines de venlafaxine ont été observés dans un modèle pathologique, chez le rongeur juvénile, alors que nous avons utilisé des souris adultes (âgées de 10 semaines au début de l'exposition à la CORT). Après 8 semaines de traitement avec l'antidépresseur, l'amélioration comportementale s'accompagne d'une augmentation de la prolifération cellulaire, uniquement dans le gyrus denté ventral, sans amélioration dans la partie dorsale. La survie des nouvelles cellules n'est pas modifiée. Ce résultat contraste avec

une étude utilisant la fluoxétine dans ce modèle de dépression et qui rapporte une plus grande survie des nouvelles cellules (David et al., 2009). Encore une fois, la durée d'exposition à la CORT ou la nature de l'antidépresseur utilisé pourraient expliquer que ces résultats diffèrent. Pourtant, les effets de différentes classes d'antidépresseur sur la neurogenèse hippocampique adulte sont plutôt consistants entre molécules utilisées (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008). L'effet sur la prolifération cellulaire varie selon la zone du gyrus denté étudiée. Comme cela a été discuté dans la discussion de l'article présenté en partie 2, cela pourrait s'expliquer par l'organisation somatotopique des fonctions émotionnelles et cognitives au sein de l'hippocampe (Tanti et al., 2013; Tanti and Belzung, 2013). Au vu de nos données, les autres processus de neurogenèse hippocampique telles que la maturation ou la destinée neuronale/gliale des nouvelles cellules devront être étudiées en détail, car l'exposition à la CORT modifie ces processus (Wong and Herbert, 2006; Chan et al., 2017) alors que les antidépresseurs monoaminergiques semblent les restaurer (Cabras et al., 2010; Mendez-David et al., 2017). Dans l'ensemble, nos travaux confirment qu'un traitement long est nécessaire afin d'observer les effets bénéfiques de la venlafaxine sur le phénotype pseudo-dépressif. Ces effets bénéfiques s'accompagnent d'une stimulation de la prolifération des nouvelles cellules hippocampiques.

2B) Stratégies non pharmacologiques

-L'environnement enrichi (EE)

Les effets propres de l'EE sur le phénotype pseudo-dépressif et les altérations moléculaires et cellulaires des animaux ont été étudiés. Sur le plan comportemental, 2 semaines d'EE produisent des effets antidépresseurs partiels sur le comportement émotionnel et totaux sur les capacités cognitives. Ces données sont accord avec la littérature (Yang et al., 2007; Nicolas et al., 2015; Ortiz-Pérez et al., 2016).

- Réseau PV/PNN hippocampique

Concernant les processus cellulaires impliqués, nous n'avons pas mis en évidence de réduction significative du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+ après deux semaines d'exposition à un EE dans l'aire CA1 de l'hippocampe dorsal des souris sous CORT. Ce résultat n'est pas aberrant car les précédentes études n'ont observé le remodelage du réseau que

dans des modèles non pathologiques, après une courte exposition (8 et 30 jours) à un EE. Nos analyses devront être complétées et étendues aux autres régions de l'hippocampe ainsi qu'à sa partie ventrale. Dans de futures expériences, nous projetons également d'étudier l'état du réseau PV/PNN dans l'hippocampe des souris exposées 8 semaines à l'EE. Nous émettons l'hypothèse qu'une réduction significative du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+ sera observée, ce qui corrèlerait avec les effets bénéfiques comportementaux observés à ce délai. Afin d'établir un lien causal entre le comportement et les modifications du réseau PV/PNN, il serait intéressant de dégrader les PNN dans différentes aires hippocampiques et déterminer si cela suffit pour induire un bénéfice comportemental. Les études utilisant la ChABC (Chondroitinase ABC) pour dégrader les PNN n'ont pas examiné l'état émotionnel des animaux. En revanche l'injection de ChABC dans la formation hippocampique (le cortex périrhinal et hippocampe) induit un effet pro-cognitif chez le rongeur (Romberg et al., 2013; Végh et al., 2014; Yang et al., 2015). Dans le futur, nous prévoyons de mesurer l'expression et l'activité enzymatique des métalloprotéases en faisant l'hypothèse que celles-ci devraient augmenter après le séjour en EE (Stamenkovic et al., 2017).

- Neurogenèse hippocampique adulte

L'effet précoce de l'EE sur le comportement des animaux a déjà été observé lors d'une étude dans laquelle, 3 semaines d'exposition à un EE suffisent à améliorer l'état émotionnel des animaux ainsi que la survie des nouveaux neurones, sans affecter la prolifération cellulaire (Schloesser et al., 2010). Bien que non présentées dans le manuscrit, nos données expérimentales montrent que 2 semaines d'exposition à un EE stimulent la survie cellulaire des neurones âgés de 3 semaines, mais aussi la prolifération cellulaire chez les animaux exposés à la CORT. En revanche, après 8 semaines de traitement, l'effet sur la prolifération n'est plus observé, alors que la survie des nouvelles cellules âgées de 6 semaines reste améliorée. Nos travaux suggèrent donc que l'effet comportemental observé, principalement sur les capacités cognitives, coïncide avec les effets pro-neurogéniques. Cependant, l'existence d'un lien de causalité n'est pas démontrée dans notre étude. Sur la base des données de la littérature, il est probable que la suppression de la neurogenèse hippocampique induise une perte des effets antidépresseurs de l'EE.

L'EE que nous avons utilisé, les cages Marlau (Viewpoint), offre un ensemble de stimulations cognitives, sociales et physiques reproductible et validé dans plusieurs études. Afin de

déterminer la contribution de l'exercice physique qui est une modalité simple à utiliser chez l'humain (c'est le cas dans la clinique Clinéa) comme le rongeur, nous avons introduit des roues d'activités dans les cages des souris.

-L'exercice physique volontaire

L'analyse comportementale montre que comme l'EE, l'exercice physique induit des effets précoces mais partiel sur l'état émotionnel des animaux après deux semaines. Par ailleurs, ces effets se maintiennent de façon stable et sans amélioration au cours du temps. Pourtant, l'exercice physique n'a pas permis d'améliorer les déficits cognitifs détectés dans le modèle CORT, aux deux délais testés. Comparé à l'EE qui montre des effets partiels sur l'état émotionnel après 2 semaines et une récupération totale du phénotype pseudo-dépressif après 8 semaines, l'exercice physique conserve des effets partiels tout au long de notre étude longitudinale. Ainsi, la composante activité physique de l'EE n'est pas suffisante pour améliorer seule, l'état émotionnel des animaux. Par ailleurs, l'exercice physique volontaire ne semble que peu ou pas du tout impliqué dans les effets pro-cognitifs de l'EE dans ce modèle d'exposition à la CORT. Nos résultats contrastent avec une étude montrant des effets pro-cognitifs de l'exercice physique après une exposition de 4 semaines à la CORT (Yau et al., 2012). Bien que dans différents modèles du trouble dépressif l'activité physique exerce un bénéfice sur les symptômes émotionnels et cognitifs (Lapmanee et al., 2013, 2017), nous démontrons pour la première fois l'effet de l'exercice physique sur le phénotype anxio-dépressif dans le modèle CORT. D'un point de vue mécanistique, nous n'avons pas eu le temps d'étudier l'impact de l'exercice sur la plasticité du réseau PV/PNN au sein de l'hippocampe, ce qui sera fait dans le futur. Une étude montre que des animaux sains exposés pendant 4 semaines à des roues d'activité présentent une diminution de la densité de PNN dans le DG de l'hippocampe (Briones et al., 2021). On peut donc penser que la modulation du réseau PV/PNN suite à l'exercice physique pourrait s'étendre aux autres régions de l'hippocampe comme retrouvée suite à une exposition à un EE dans nos travaux. Il est probable que les stimulations diverses et variées offertes par l'EE aient un effet plus marqué et plus robuste que l'exercice physique seul.

- Neurogenèse hippocampique adulte

Nos données suggèrent que la stimulation physique seule ne suffit pas à contrecarrer l'effet de la CORT sur la prolifération cellulaire, ce qui contraste avec certaines données de la littérature sur ce modèle de dépression (Yau et al., 2012; Lee et al., 2016). En revanche, bien que 2 semaines seulement d'exercice physique ne stimulent pas la survie cellulaire, on observe un effet bénéfique après 8 semaines. Il semble donc que l'augmentation de la survie des nouvelles cellules observée à la suite de l'exposition à un EE soit due, en partie, à la stimulation physique. Dans ce sens, une étude a mesuré l'effet spécifique de l'exercice physique, en plaçant des animaux dans un EE dans lequel les roues d'activité pouvaient être bloquées. Les auteurs ont constaté que les souris des deux groupes " roues" et " roues bloquées " présentaient des augmentations de la prolifération cellulaire. Cependant, seuls les animaux qui courent présentaient une augmentation du nombre de neurones ayant survécu (Bednarczyk et al., 2011). Ceci révèle l'effet neurogénique spécifique de l'activité physique sur la modulation de la survie de nouvelles cellules hippocampiques.

-Stimulation olfactive : Le D11399

Bien que non présentes dans l'EE, les stimulations olfactives peuvent avoir un effet bénéfique sur le comportement en régulant la réponse au stress (Masuo et al., 2021). Ce constat repose sur des évidences anatomiques montrant que l'épithélium olfactif est composé de neurones qui envoient leurs projections vers le système limbique et plus particulièrement dans l'hippocampe. Dans ce contexte, nous avons évalué l'effet antidépresseur d'un enrichissement olfactif à l'aide d'un composé, le D11399, fourni par la société PHODE. Nous avons précédemment montré que l'implantation de pellet de CORT induit l'apparition d'un phénotype pseudo-dépressif chez la souris (Coutens et al., 2020), associé à des perturbations de la neurogenèse hippocampique. Le D11399 est un « ingrédient olfactif » contenant du *Citrus sinensis,* le composé principal du limonène. Ce composé a induit des effets de type antidépresseurs, chez la souris naïve, ainsi que dans un modèle d'exposition à la CORT. Ce résultat est en accord avec les données de la littérature concernant la capacité des produits à base de limonène à diminuer l'anxiété chez l'humain (Lehrner et al., 2000) et chez le rongeur, chez lequel il a également des effets pro-cognitifs (Faturi et al., 2010; Bigdeli et al., 2019). Ce dernier aspect n'a pas été étudié dans ma thèse mais il pourrait être intéressant d'évaluer si ce produit améliore les performances cognitives des animaux implantés avec les pellets de

CORT. De manière intéressante, alors que la CORT altère la maturation des nouveaux neurones, le D11399 prévient cet effet. L'effet spécifique du D11399 sur les nouveaux neurones pourra être étudié en utilisant un marquage BrdU pour dater les cellules et en analysant les effets de ce composé odorant sur l'arborisation dendritique des nouveaux neurones.

2C) Stratégies combinant plusieurs approches

Puisque le traitement pharmacologique avec la venlafaxine s'est avéré inefficace après 2 semaines et que les stratégies non-pharmacologiques (EE ou l'activité physique) ont engendré des bénéfices partiels chez les souris déprimées, nous avons voulu tester l'effet de la combinaison de ces 2 stratégies et évaluer la cinétique de leurs effets.

L'étude comportementale a permis de mettre en évidence une efficacité de la combinaison EE-venlafaxine chez les souris pseudo-déprimées dès la deuxième semaine d'administration qui se traduit par une correction complète des troubles comportementaux. De son côté, la stratégie thérapeutique combinant la venlafaxine à l'exercice physique n'a pas induit de nette amélioration de ces deux composantes à ce délai. Après 8 semaines de traitement, les bénéfices de la combinaison du traitement à la venlafaxine avec l'EE n'est pas différente de celles observées avec les deux stratégies prises indépendamment. En revanche, cette étude longitudinale montre qu'arrêter l'exposition à un EE entraîne des effets délétères se traduisant par une réapparition des troubles de l'état émotionnel des animaux ainsi qu'un retour des déficits cognitifs malgré le maintien de la venlafaxine. Par ce protocole de retrait des animaux de l'EE, nous avons tenté de modéliser le phénomène de rechute régulièrement observé chez l'humain (Williams et al., 2009). L'effet de l'arrêt de l'exercice physique n'a cependant pas été étudié, mais il semblerait que l'arrêt de celui-ci induit des effets anxiogènes associés à des troubles de neurogenèse hippocampique (Nishijima et al., 2013).

- Réseau PV/PNN hippocampique

À la suite des études comportementales, nos travaux ont permis pour la première fois de montrer que la combinaison de venlafaxine et de l'EE pendant 2 semaines permet de moduler le réseau PV/PNN qui est altéré par l'exposition chronique à la CORT. Ces résultats coïncident avec les effets comportementaux de la combinaison. Nous avons utilisé plusieurs approches

afin de voir le lien de causalité entre le comportement et cette modification du réseau PV/PNN. Comme vu précédemment, l'utilisation de la doxycycline nous a permis de montrer que l'inhibition du remodelage du réseau PV/PNN bloque les effets bénéfiques comportementaux de la combinaison bien que d'autres expériences soient nécessaires pour conclure quant au rôle des MMP dans l'hippocampe (voir partie sur modèle CORT). Pour pallier au problème de spécificité de la doxycycline, nous avons choisi au contraire d'injecter la ChABC, une enzyme dégradant les PNN, directement dans l'hippocampe. Nos résultats montrent que la ChABC induit une diminution du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+ dans l'aire CA1 et corrige le phénotype pseudo-dépressif des animaux CORT à la fois sur l'état émotionnel et les performances cognitives. Ces données renforcent donc notre hypothèse selon laquelle la diminution du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+ permet une amélioration rapide du phénotype pseudo-dépressif. Bien que l'effet pro-cognitif de la ChABC soit documenté (Végh et al., 2014; Yang et al., 2015), notre étude montre pour la première fois ces bénéfices sur l'état émotionnel des animaux. De plus lorsque nous avons combiné l'injection intra-hippocampique de ChABC avec un pré-traitement à la venlafaxine de 2 semaines, on a pu observer une efficacité supérieure de la combinaison VLX-ChABC par rapport au traitement par la venlafaxine seule ou de l'injection de ChABC sur l'état émotionnel (mais pas sur les performances cognitives).

Des données de la littérature soutiennent l'hypothèse selon laquelle la dégradation des PNN pourrait être liée au délai d'action des antidépresseurs. En particulier, le fait que la kétamine, qui induit dès sa première injection des effets antidépresseurs (Pham and Gardier, 2019), cible également les interneurones PV en entraînant une diminution de cette matrice extracellulaire (Zanos and Gould, 2018; Kaushik et al., 2021), est un argument en faveur de notre hypothèse. Pour compléter mes travaux de thèse et pour relier ces résultats sur les PNN avec les conséquences sur la balance E/I, nous avons réalisé des expériences de microdialyse intracérébrale dans le but de quantifier les quantités de GABA et glutamate dans l'hippocampe. Nos données préliminaires indiquent que les stratégies thérapeutiques (seules ou en combinaison) ne restaurent pas l'augmentation des concentrations de GABA observé chez les souris CORT. Cette absence d'effet peut s'expliquer par le fait qu'il y ait plusieurs sous populations d'interneurones GABAergiques dans l'hippocampe et qu'on ne peut pas doser uniquement les quantités de GABA provenant des interneurones PV. Nos analyses ne portent que sur les interneurones PV et il pourrait être intéressant d'observer l'effet de nos

stratégies thérapeutiques sur la transmission GABAergique dépendante d'autres interneurones et notamment les interneurones à SST. En effet, dans une revue de la littérature, il a été observé une diminution de l'activité des interneurones SST dans le cortex préfrontal suite à un stress chronique (Page and Coutellier, 2019). Il se peut alors qu'en réponse à nos différentes stratégies thérapeutique, l'activité de ces interneurones SST soit augmentée et stimule la libération de GABA extracellulaire notamment au niveau de l'hippocampe.

- Neurogenèse hippocampique adulte

Sur ces mécanismes, nous avons observé que la combinaison VLX-Ex montre un effet bénéfique sur la survie des nouvelles cellules après seulement 2 semaines alors que cet effet n'est pas observé avec les deux stratégies prises indépendamment. En revanche, après 8 semaines l'effet de cette combinaison est similaire à celui observé avec l'exercice physique seul sur la survie cellulaire. Cependant, à ce délai nous observons une restauration de la prolifération cellulaire indiquant un effet spécifique de la combinaison par rapport aux stratégies appliquées séparément. Les effets bénéfiques de la combinaison au niveau de la neurogenèse ne coïncident donc pas avec les données comportementales qui ne mettent pas en évidence d'amélioration du comportement avec cette stratégie.

Les mêmes analyses ont été effectuées pour la combinaison VLX-EE sur la prolifération et la survie cellulaire. Bien que non présenté cette combinaison restaure la prolifération cellulaire après seulement 2 semaines tout comme l'EE seul, ce qui contraste avec les données d'exercice physique ne montrant pas de tel effet suggérant ainsi que les autres stimulations de l'EE ont un impact sur ce processus cellulaire. En revanche, l'analyse de la survie cellulaire n'a pas pu être menée chez les animaux générés ayant été soumis à la combinaison EE-VLX, cependant étant donné l'effet positif de l'EE sur la survie des nouvelles cellules on devrait s'attendre à un effet similaire. Par ailleurs ces effets bénéfiques de la combinaison EE-VLX sont également observables après 8 semaines mais lorsque les animaux ont été sortis de l'EE, on a observé une perte de l'effet sur la survie sans altération de la prolifération suggérant que la diminution de la survie pourrait être à l'origine de la perte des effets antidépresseurs de la combinaison VLX-EE observés en comportement. Afin de caractériser au mieux le lien entre la survie cellulaire et le retour des symptômes pseudo-dépressifs, nous envisageons d'étudier spécifiquement le profil ces nouvelles cellules à l'aide de différents marqueurs neuronaux, qui

pourrait nous renseigner sur l'état de maturation des nouveaux neurones, mais également si ces nouvelles cellules ont suivi une destinée neuronale ou gliale.

3) Est-ce que la modulation de la balance excitation/inhibition sous-tendue par les PNN peut engendrer des déficits de neurogenèse hippocampique ?

Au cours de mes travaux de thèse, nous avons observé que l'état pseudo-dépressif ainsi que les stratégies thérapeutiques modulent la plasticité hippocampique et notamment les PNN entourant les interneurones GABAergiques ainsi que la neurogenèse adulte. Bien qu'analysés de façon distincte, il est probable que ces deux processus s'influencent mutuellement.

Les cellules souches neuronales de type 1, situées au niveau de la zone sous-granulaire du DG de l'hippocampe (Figure 5) sont quiescentes ou prolifèrent. Ces cellules sont sensibles aux stimulations GABAergiques, notamment par l'intermédiaire du récepteur $GABA_A$ (Song et al., 2012). L'inactivation génétique d'une sous-unité de ce récepteur augmente la prolifération des cellules souches de type I (Song et al., 2012). De plus, après avoir confirmé que la source de l'innervation GABAergique provenait exclusivement de la sous-population PV^+ situé entre le « hile » et la couche granulaire, les auteurs montrent que la stimulation de ces interneurones PV diminue la prolifération cellulaire (Song et al., 2012). Cette étude confirme donc que les interneurones PV contrôlent la prolifération cellulaire. Ceci fait écho avec nos données de microdialyse, montrant que l'exposition prolongée à la CORT induit une augmentation des concentrations extracellulaires de GABA hippocampique associée à un déficit de neurogenèse.

Les interneurones PV^+ du DG sont également entourés de PNN (Briones et al., 2021) suggérant que des modifications du réseau PV/PNN du DG pourraient participer à la régulation de processus tels que la prolifération cellulaire et de manière plus générale à la neurogenèse hippocampique adulte. Aussi, puisque les PNN augmentent l'excitabilité des interneurones PV^+ (Balmer, 2016) et qu'au contraire, la disparition des PNN la réduit (Slaker et al., 2015), il est possible que les effets bénéfiques de la combinaison EE-VLX reposent sur une réduction du nombre d'interneurones PV^+/PNN^+. Ainsi c'est sur cette observation que repose notre hypothèse. Ce remodelage du réseau aurait pour conséquence de diminuer le tonus GABAergique, un processus favorable à la stimulation de la neurogenèse. Afin de confirmer ces résultats, il faudrait étendre l'analyse des interneurones PV^+/PNN^+ au DG. Pour

confirmer le lien entre les PNN et la neurogenèse, on peut imaginer déterminer l'effet de l'injection de ChABC dans le DG sur la prolifération cellulaire et vérififer si cette enzyme augmente la prolifération. A notre connaissance, une seule étude s'est penchée sur cette question et a montré, au contraire, que la ChABC diminue la prolifération des neurosphères *in vitro* (Sirko et al., 2007). Par ailleurs, il est important de souligner que dans nos expériences, nous ne regardons pas les effets aigus de la ChABC et il est envisageable que les effets soient différents selon le délai étudié.

La régulation du réseau PV/PNN met également en jeu d'autres acteurs cellulaires, notamment les métalloprotéases qui sont sécrétées par les neurones et les astrocytes (Kinoshita et al., 2013). Or, des travaux récents montrent que différentes classes d'antidépresseurs augmentent l'activité enzymatique de la MMP9 dans les astrocytes (Abe et al., 2016, 2019). Les antidépresseurs connus pour activer ces cellules gliales (Czéh and Di Benedetto, 2013), pourraient être des pourvoyeurs de MMP (Li et al., 2019) et ainsi contribuer à la régulation des PNN. Nous prévoyons de caractériser l'activité des astrocytes et celles des MMP dans nos différentes conditions expérimentales, afin de déterminer dans quelle mesure ces acteurs cellulaires sont impliqués dans les effets comportementaux et cellulaires présentés ici.

Dans l'ensemble, bien qu'il reste de nombreuses hypothèses à tester pour élucider les mécanismes à l'origine du raccourcissement du délai d'action de la venlafaxine lorsqu'elle est combinée à une exposition à un milieu enrichi en stimulations, nos travaux ouvrent une piste originale et séduisante en révélant un possible rôle de cette matrice extracellulaire. La compréhension du rôle des PNN dans l'action antidépressante permettrait de reconcilier plusieurs formes de plasticité qui à ce jour ont été étudiées séparement, dans un contexte pathologique, ou en réponse aux traitements antidépresseurs (figure 25).

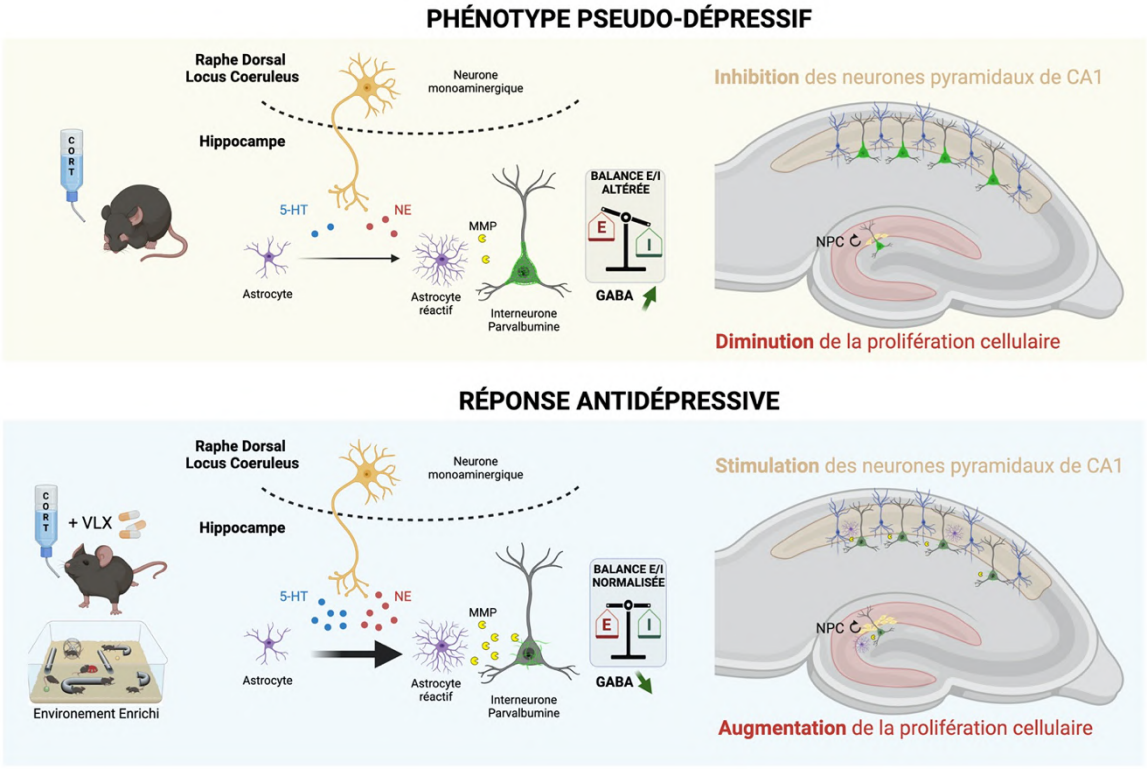


Figure 25. Hypothèses mécanistiques concernant les liens entre les comportements émotionnels, les PNN et les processus de neuroplasticité hippocampiques. Panel supérieur : L'exposition chronique à la corticostérone (CORT) entrainant un phénotype pseudo-dépressif chez la souris serait associée à une diminution de l'activité et/ou de l'expression des métalloprotéases (MMP) dépendante, du moins en partie, de l'activité astrocytaire. Cette diminution des MMP favoriserait alors la présence de PNN autour des interneurones GABAergiques PV^+ responsable d'un déséquilibre de la balance E/I (en faveur d'un excès de GABA). Ceci aurait pour conséquence fonctionnelle d'entrainer une inhibition des cellules pyramidales de l'aire CA1 et de la prolifération des cellule progénitrice neurale (NPC) dans la couche sous-granulaire du gyrus denté de l'hippocampe. Panel inférieur : Le traitement prolongé par la venlafaxine combiné à un EE serait responsable d'une augmentation significative des concentrations extracellulaires de sérotonine (5-HT) et de noradrénaline (NE) hippocampiques, favorisant l'activité et/ou de l'expression des MMP notamment en réponse l'activation des astrocytes. La dégradation des PNN autour des interneurones GABAergiques PV^+ provoquerait alors une diminution de libération du GABA, rééquilibrant la balance E/I et prévenant les effets délétères de l'exposition à la CORT sur la plasticité hippocampique et le comportement.

CONCLUSION

Ce projet, qui s'inscrivait initialement dans une démarche translationnelle, fait finalement le lien avec la clinique, en confirmant l'apport des stratégies non-pharmacologiques pour la prise en charge de la pathologie dépressive. De plus, nos travaux révèlent des mécanismes neurobiologiques pouvant être à l'origine des effets bénéfiques observés, ce qui laisse entrevoir des possibilités de développement de nouveaux médicaments. Les stimulations cognitives, sociales et physiques peuvent facilement être proposées aux patients à qui elles devraient permettre d'apporter une réelle plus-value vis-à-vis des traitements pharmacologiques actuellement disponibles. Nous montrons aussi comment leur arrêt brutal peut être un facteur de risque entraînant la rechute du patient. Intégrés à la riche littérature existante, nos résultats contribuent à une meilleure compréhension de la pathologie dépressive et du mécanisme responsable du long délai d'action des antidépresseurs, et encouragent le développement de stratégies thérapeutiques plus efficaces et surtout à action plus rapide.

RÉFÉRENCES

REFERENCES

Abdollahi, A., LeBouthillier, D.M., Najafi, M., Asmundson, G.J.G., Hosseinian, S., Shahidi, S., Carlbring, P., Kalhori, A., Sadeghi, H., and Jalili, M. (2017). Effect of exercise augmentation of cognitive behavioural therapy for the treatment of suicidal ideation and depression. J Affect Disord *219*, 58–63. https://doi.org/10.1016/j.jad.2017.05.012.

Abe, H., Hisaoka-Nakashima, K., Kajitani, N., Okada-Tsuchioka, M., Yano, R., Itagaki, K., Shibasaki, C., Morioka, N., Nakata, Y., and Takebayashi, M. (2016). The expression of glial cell line-derived neurotrophic factor mRNA by antidepressants involves matrix metalloproteinase-9 activation in rat astroglial cells. Biochem Biophys Res Commun *479*, 907–912. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.09.070.

Abe, H., Kajitani, N., Okada-Tsuchioka, M., Omori, W., Yatsumoto, M., and Takebayashi, M. (2019). Antidepressant amitriptyline-induced matrix metalloproteinase-9 activation is mediated by Src family tyrosine kinase, which leads to glial cell line-derived neurotrophic factor mRNA expression in rat astroglial cells. Neuropsychopharmacol Rep *39*, 156–163. https://doi.org/10.1002/npr2.12055.

Abela, A.R., Browne, C.J., Sargin, D., Prevot, T.D., Ji, X.D., Li, Z., Lambe, E.K., and Fletcher, P.J. (2020). Median raphe serotonin neurons promote anxiety-like behavior via inputs to the dorsal hippocampus. Neuropharmacology *168*, 107985. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.107985.

Aberg, M.A., Aberg, N.D., Hedbäcker, H., Oscarsson, J., and Eriksson, P.S. (2000). Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. J Neurosci *20*, 2896–2903. .

Aghajanian, G.K., and Vandermaelen, C.P. (1982). Intracellular recording in vivo from serotonergic neurons in the rat dorsal raphe nucleus: methodological considerations. J Histochem Cytochem *30*, 813–814. https://doi.org/10.1177/30.8.6749973.

Ahmad, A., Rasheed, N., Banu, N., and Palit, G. (2010). Alterations in monoamine levels and oxidative systems in frontal cortex, striatum, and hippocampus of the rat brain during chronic unpredictable stress. Stress *13*, 355–364. https://doi.org/10.3109/10253891003667862.

Akinfiresoye, L., and Tizabi, Y. (2013). Antidepressant effects of AMPA and ketamine combination: role of hippocampal BDNF, synapsin, and mTOR. Psychopharmacology (Berl) *230*, 291–298. https://doi.org/10.1007/s00213-013-3153-2.

Alaiyed, S., and Conant, K. (2019). A Role for Matrix Metalloproteases in Antidepressant Efficacy. Front Mol Neurosci *12*, 117. https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00117.

Alaiyed, S., Bozzelli, P.L., Caccavano, A., Wu, J.Y., and Conant, K. (2019). Venlafaxine stimulates PNN proteolysis and MMP-9-dependent enhancement of gamma power; relevance to antidepressant efficacy. J. Neurochem. *148*, 810–821. https://doi.org/10.1111/jnc.14671.

Alaiyed, S., McCann, M., Mahajan, G., Rajkowska, G., Stockmeier, C.A., Kellar, K.J., Wu, J.Y., and Conant, K. (2020a). Venlafaxine Stimulates an MMP-9-Dependent Increase in Excitatory/Inhibitory Balance in a Stress Model of Depression. J Neurosci *40*, 4418–4431. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2387-19.2020.

Alaiyed, S., McCann, M., Mahajan, G., Rajkowska, G., Stockmeier, C.A., Kellar, K.J., Wu, J.Y., and Conant, K. (2020b). Venlafaxine Stimulates an MMP-9-Dependent Increase in Excitatory/Inhibitory Balance in a Stress Model of Depression. J. Neurosci. *40*, 4418–4431. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2387-19.2020.

Albert, P.R., and Lemonde, S. (2004). 5-HT1A receptors, gene repression, and depression: guilt by association. Neuroscientist *10*, 575–593. https://doi.org/10.1177/1073858404267382.

Albert, P.R., and Vahid-Ansari, F. (2019). The 5-HT1A receptor: Signaling to behavior. Biochimie *161*, 34–45. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2018.10.015.

Althoff, R., Ametti, M., and Bertmann, F. (2016). The Role of Food Insecurity in Developmental Psychopathology. Prev Med *92*, 106–109. https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2016.08.012.

Altinay, M., Estemalik, E., and Malone, D.A. (2015). A comprehensive review of the use of deep brain stimulation (DBS) in treatment of psychiatric and headache disorders. Headache *55*, 345–350. https://doi.org/10.1111/head.12517.

Amaral, D.G., Scharfman, H.E., and Lavenex, P. (2007). The dentate gyrus: fundamental neuroanatomical organization (dentate gyrus for dummies). Prog Brain Res *163*, 3–22. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(07)63001-5.

American Psychiatric Association (2013). Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (American Psychiatric Association).

Anacker, C., Zunszain, P.A., Carvalho, L.A., and Pariante, C.M. (2011). The glucocorticoid receptor: pivot of depression and of antidepressant treatment? Psychoneuroendocrinology *36*, 415–425.

https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.03.007.

Andrade, R., and Nicoll, R.A. (1987). Pharmacologically distinct actions of serotonin on single pyramidal neurones of the rat hippocampus recorded in vitro. J Physiol *394*, 99–124. https://doi.org/10.1113/jphysiol.1987.sp016862.

Anstötz, M., Lee, S.K., Neblett, T.I., Rune, G.M., and Maccaferri, G. (2018). Experience-Dependent Regulation of Cajal-Retzius Cell Networks in the Developing and Adult Mouse Hippocampus. Cereb Cortex *28*, 672–687. https://doi.org/10.1093/cercor/bhx153.

Antypa, N., Drago, A., and Serretti, A. (2013). The role of COMT gene variants in depression: Bridging neuropsychological, behavioral and clinical phenotypes. Neurosci Biobehav Rev *37*, 1597–1610. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.06.006.

Ardayfio, 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. https://doi.org/10.1037/0735-7044.120.2.249.

Arnone, D., McKie, S., Elliott, R., Thomas, E.J., Downey, D., Juhasz, G., Williams, S.R., Deakin, J.F.W., and Anderson, I.M. (2012). Increased amygdala responses to sad but not fearful faces in major depression: relation to mood state and pharmacological treatment. Am J Psychiatry *169*, 841–850. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.11121774.

Artigas, F. (1993). 5-HT and antidepressants: new views from microdialysis studies. Trends Pharmacol Sci *14*, 262. https://doi.org/10.1016/0165-6147(93)90125-4.

Asberg, M., Träskman, L., and Thorén, P. (1976). 5-HIAA in the cerebrospinal fluid. A biochemical suicide predictor? Arch Gen Psychiatry *33*, 1193–1197. https://doi.org/10.1001/archpsyc.1976.01770100055005.

Ashokan, A., Hegde, A., and Mitra, R. (2016). Short-term environmental enrichment is sufficient to counter stress-induced anxiety and associated structural and molecular plasticity in basolateral amygdala. Psychoneuroendocrinology *69*, 189–196. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.04.009.

Ashokan, A., Lim, J.W.H., Hang, N., and Mitra, R. (2018a). Complex housing causes a robust increase in dendritic complexity and spine density of medial prefrontal cortical neurons. Sci Rep *8*, 7308. https://doi.org/10.1038/s41598-018-25399-4.

Ashokan, A., Hegde, A., Balasingham, A., and Mitra, R. (2018b). Housing environment influences stress-related hippocampal substrates and depression-like behavior. Brain Res *1683*, 78–85. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2018.01.021.

Atigari, O.V., Hogan, C., and Healy, D. (2013). Doxycycline and suicidality. BMJ Case Rep *2013*, bcr2013200723. https://doi.org/10.1136/bcr-2013-200723.

Avenevoli, S., and Merikangas, K.R. (2006). Implications of high-risk family studies for prevention of depression. Am J Prev Med *31*, S126-135. https://doi.org/10.1016/j.amepre.2006.07.003.

Bach, D.R., Näf, M., Deutschmann, M., Tyagarajan, S.K., and Quednow, B.B. (2019). Threat Memory Reminder Under Matrix Metalloproteinase 9 Inhibitor Doxycycline Globally Reduces Subsequent Memory Plasticity. J Neurosci *39*, 9424–9434. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1285-19.2019.

Bacq, A., Balasse, L., Biala, G., Guiard, B., Gardier, A.M., Schinkel, A., Louis, F., Vialou, V., Martres, M.-P., Chevarin, C., et al. (2012). Organic cation transporter 2 controls brain norepinephrine and serotonin clearance and antidepressant response. Mol Psychiatry *17*, 926–939. https://doi.org/10.1038/mp.2011.87.

Balmer, T.S. (2016). Perineuronal Nets Enhance the Excitability of Fast-Spiking Neurons. ENeuro *3*, ENEURO.0112-16.2016. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0112-16.2016.

Bambico, F.R., Nguyen, N.-T., and Gobbi, G. (2009). Decline in serotonergic firing activity and desensitization of 5-HT1A autoreceptors after chronic unpredictable stress. Eur Neuropsychopharmacol *19*, 215–228. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.11.005.

Banasr, M., Hery, M., Printemps, R., and 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*, 450–460. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300320.

Barbier, M., Fellmann, D., and Risold, P.-Y. (2018). Morphofunctional Organization of the Connections From the Medial and Intermediate Parts of the Central Nucleus of the Amygdala Into Distinct Divisions of the Lateral Hypothalamic Area in the Rat. Front Neurol *9*, 688. https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00688.

Barr, J.L., and Forster, G.L. (2011). Serotonergic neurotransmission in the ventral hippocampus is enhanced by corticosterone and altered by chronic amphetamine treatment. Neuroscience *182*, 105–114. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.03.020.

Bashiri, H., Houwing, D.J., Homberg, J.R., and Salari, A.-A. (2021). The combination of fluoxetine and environmental enrichment reduces postpartum stress-related behaviors through the oxytocinergic system and

HPA axis in mice. Sci Rep *11*, 8518. https://doi.org/10.1038/s41598-021-87800-z.

Beauregard, M., Paquette, V., and Lévesque, J. (2006). Dysfunction in the neural circuitry of emotional self-regulation in major depressive disorder. Neuroreport *17*, 843–846. https://doi.org/10.1097/01.wnr.0000220132.32091.9f.

Bednarczyk, M.R., Hacker, L.C., Fortin-Nunez, S., Aumont, A., Bergeron, R., and Fernandes, K.J.L. (2011). Distinct stages of adult hippocampal neurogenesis are regulated by running and the running environment. Hippocampus *21*, 1334–1347. https://doi.org/10.1002/hipo.20831.

Bekkers, J.M. (2011). Pyramidal neurons. Curr Biol *21*, R975. https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.10.037.

Bel, N., and Artigas, F. (1992). Fluvoxamine preferentially increases extracellular 5-hydroxytryptamine in the raphe nuclei: an in vivo microdialysis study. Eur J Pharmacol *229*, 101–103. https://doi.org/10.1016/0014-2999(92)90292-c.

Belmer, A., Patkar, O.L., Lanoue, V., and Bartlett, S.E. (2018). 5-HT1A receptor-dependent modulation of emotional and neurogenic deficits elicited by prolonged consumption of alcohol. Sci Rep *8*, 2099. https://doi.org/10.1038/s41598-018-20504-z.

Belz, E.E., Kennell, J.S., Czambel, R.K., Rubin, R.T., and Rhodes, M.E. (2003). Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. Pharmacol Biochem Behav *76*, 481–486. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.09.005.

Benaroya-Milshtein, N., Hollander, N., Apter, A., Kukulansky, T., Raz, N., Wilf, A., Yaniv, I., and Pick, C.G. (2004). Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. Eur J Neurosci *20*, 1341–1347. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03587.x.

Beneyto, M., Kristiansen, L.V., Oni-Orisan, A., McCullumsmith, R.E., and Meador-Woodruff, J.H. (2007). Abnormal glutamate receptor expression in the medial temporal lobe in schizophrenia and mood disorders. Neuropsychopharmacology *32*, 1888–1902. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301312.

Bengel, D., Jöhren, O., Andrews, A.M., Heils, A., Mössner, R., Sanvitto, G.L., Saavedra, J.M., Lesch, K.P., and Murphy, D.L. (1997). Cellular localization and expression of the serotonin transporter in mouse brain. Brain Res *778*, 338–345. https://doi.org/10.1016/s0006-8993(97)01080-9.

Berchtold, N.C., Castello, N., and Cotman, C.W. (2010). Exercise and time-dependent benefits to learning and memory. Neuroscience *167*, 588–597. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.02.050.

Berlim, M.T., Broadbent, H.J., and Van den Eynde, F. (2013). Blinding integrity in randomized sham-controlled trials of repetitive transcranial magnetic stimulation for major depression: a systematic review and meta-analysis. Int J Neuropsychopharmacol *16*, 1173–1181. https://doi.org/10.1017/S1461145712001691.

Berlim, M.T., van den Eynde, F., Tovar-Perdomo, S., and Daskalakis, Z.J. (2014). Response, remission and drop-out rates following high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) for treating major depression: a systematic review and meta-analysis of randomized, double-blind and sham-controlled trials. Psychol Med *44*, 225–239. https://doi.org/10.1017/S0033291713000512.

Bernstein, H.G., Stanarius, A., Baumann, B., Henning, H., Krell, D., Danos, P., Falkai, P., and Bogerts, B. (1998). Nitric oxide synthase-containing neurons in the human hypothalamus: reduced number of immunoreactive cells in the paraventricular nucleus of depressive patients and schizophrenics. Neuroscience *83*, 867–875. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00461-2.

Betin, C., DeFeudis, F.V., Blavet, N., and Clostre, F. (1982). Further characterization of the behavioral despair test in mice: positive effects of convulsants. Physiol Behav *28*, 307–311. https://doi.org/10.1016/0031-9384(82)90080-4.

Bhatnagar, S., Vining, C., and 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. https://doi.org/10.1196/annals.1314.050.

Bielau, H., Brisch, R., Gos, T., Dobrowolny, H., Baumann, B., Mawrin, C., Kreutzmann, P., Bernstein, H.-G., Bogerts, B., and Steiner, J. (2013). Volumetric analysis of the hypothalamus, amygdala and hippocampus in non-suicidal and suicidal mood disorder patients--a post-mortem study. CNS Neurol Disord Drug Targets *12*, 914–920. https://doi.org/10.2174/18715273113129990092.

Bigdeli, Y., Asle-Rousta, M., and Rahnema, M. (2019). Effects of Limonene on Chronic Restraint Stress-Induced Memory Impairment and Anxiety in Male Rats. Neurophysiology *51*, 107–113. https://doi.org/10.1007/s11062-019-09800-0.

Bjørnebekk, A., Mathé, A.A., and Brené, S. (2005). The antidepressant effect of running is associated with increased hippocampal cell proliferation. Int J Neuropsychopharmacol *8*, 357–368. https://doi.org/10.1017/S1461145705005122.

Bjørnebekk, A., Mathé, A.A., Gruber, S.H.M., and Brené, S. (2008). Housing conditions modulate

escitalopram effects on antidepressive-like behaviour and brain neurochemistry. Int J Neuropsychopharmacol *11*, 1135–1147. https://doi.org/10.1017/S1461145708008912.

Blanco, I., and Conant, K. (2021). Extracellular matrix remodeling with stress and depression: Studies in human, rodent and zebrafish models. Eur J Neurosci *53*, 3879–3888. https://doi.org/10.1111/ejn.14910.

Blasey, C.M., Debattista, C., Roe, R., Block, T., and Belanoff, J.K. (2009). A multisite trial of mifepristone for the treatment of psychotic depression: a site-by-treatment interaction. Contemp Clin Trials *30*, 284–288. https://doi.org/10.1016/j.cct.2009.03.001.

Błaszczyk, B., and Czuczwar, S.J. (2016). Epilepsy coexisting with depression. Pharmacol Rep *68*, 1084–1092. https://doi.org/10.1016/j.pharep.2016.06.011.

Blier, P., and Bergeron, R. (1998). The use of pindolol to potentiate antidepressant medication. J Clin Psychiatry *59 Suppl 5*, 16–23; discussion 24-25. .

Blier, P., de Montigny, C., and Tardif, D. (1984). Effects of the two antidepressant drugs mianserin and indalpine on the serotonergic system: single-cell studies in the rat. Psychopharmacology (Berl) *84*, 242–249. https://doi.org/10.1007/BF00427453.

Blier, P., de Montigny, C., and Chaput, Y. (1987). Modifications of the serotonin system by antidepressant treatments: implications for the therapeutic response in major depression. J Clin Psychopharmacol *7*, 24S-35S. .

Blumenthal, J.A., Babyak, M.A., Doraiswamy, P.M., Watkins, L., Hoffman, B.M., Barbour, K.A., Herman, S., Craighead, W.E., Brosse, A.L., Waugh, R., et al. (2007). Exercise and pharmacotherapy in the treatment of major depressive disorder. Psychosom Med *69*, 587–596. https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e318148c19a.

Bobińska, K., Szemraj, J., Czarny, P., and Gałecki, P. (2016a). Expression and Activity of Metalloproteinases in Depression. Med Sci Monit *22*, 1334–1341. https://doi.org/10.12659/msm.895978.

Bobińska, K., Szemraj, J., Czarny, P., and Gałecki, P. (2016b). Role of MMP-2, MMP-7, MMP-9 and TIMP-2 in the development of recurrent depressive disorder. J Affect Disord *205*, 119–129. https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.03.068.

Bogner, H.R., Morales, K.H., Post, E.P., and Bruce, M.L. (2007). Diabetes, depression, and death: a randomized controlled trial of a depression treatment program for older adults based in primary care (PROSPECT). Diabetes Care *30*, 3005–3010. https://doi.org/10.2337/dc07-0974.

Boldrini, M., Underwood, M.D., Mann, J.J., and Arango, V. (2008). Serotonin-1A autoreceptor binding in the dorsal raphe nucleus of depressed suicides. J Psychiatr Res *42*, 433–442. https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2007.05.004.

Boldrini, M., Underwood, M.D., Hen, R., Rosoklija, G.B., Dwork, A.J., John Mann, J., and Arango, V. (2009). Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. Neuropsychopharmacology *34*, 2376–2389. https://doi.org/10.1038/npp.2009.75.

Boldrini, M., Santiago, A.N., Hen, R., Dwork, A.J., Rosoklija, G.B., Tamir, H., Arango, V., and John Mann, J. (2013). Hippocampal granule neuron number and dentate gyrus volume in antidepressant-treated and untreated major depression. Neuropsychopharmacology *38*, 1068–1077. https://doi.org/10.1038/npp.2013.5.

Bombardi, C., and Di Giovanni, G. (2013). Functional anatomy of 5-HT2A receptors in the amygdala and hippocampal complex: relevance to memory functions. Exp Brain Res *230*, 427–439. https://doi.org/10.1007/s00221-013-3512-6.

Borodovitsyna, O., Flamini, M., and Chandler, D. (2017). Noradrenergic Modulation of Cognition in Health and Disease. Neural Plast *2017*, 6031478. https://doi.org/10.1155/2017/6031478.

Bortolozzi, A., Castañé, A., Semakova, J., Santana, N., Alvarado, G., Cortés, R., Ferrés-Coy, A., Fernández, G., Carmona, M.C., Toth, M., et al. (2012). Selective siRNA-mediated suppression of 5-HT1A autoreceptors evokes strong anti-depressant-like effects. Mol Psychiatry *17*, 612–623. https://doi.org/10.1038/mp.2011.92.

Bouet, V., Freret, T., Dutar, P., Billard, J.-M., and Boulouard, M. (2011). Continuous enriched environment improves learning and memory in adult NMRI mice through theta burst-related-LTP independent mechanisms but is not efficient in advanced aged animals. Mech Ageing Dev *132*, 240–248. https://doi.org/10.1016/j.mad.2011.04.006.

Brachman, R.A., McGowan, J.C., Perusini, J.N., Lim, S.C., Pham, T.H., Faye, C., Gardier, A.M., Mendez-David, I., David, D.J., Hen, R., et al. (2016). Ketamine as a Prophylactic Against Stress-Induced Depressive-like Behavior. Biol Psychiatry *79*, 776–786. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.04.022.

Bratek, A., Zawada, K., Beil-Gawełczyk, J., Beil, S., Sozańska, E., Krysta, K., Barczyk, A., Krupka-Matuszczyk, I., and Pierzchała, W. (2015). Depressiveness, symptoms of anxiety and cognitive dysfunctions in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD): possible associations with inflammation markers: a pilot study. J Neural Transm (Vienna) *122 Suppl 1*, S83-91.

https://doi.org/10.1007/s00702-014-1171-9.

Bremner, J.D., Narayan, M., Anderson, E.R., Staib, L.H., Miller, H.L., and Charney, D.S. (2000). Hippocampal volume reduction in major depression. Am J Psychiatry *157*, 115–118. https://doi.org/10.1176/ajp.157.1.115.

Brenes, J.C., and Fornaguera, J. (2008). Effects of environmental enrichment and social isolation on sucrose consumption and preference: associations with depressive-like behavior and ventral striatum dopamine. Neurosci Lett *436*, 278–282. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.045.

Brenes, J.C., Padilla, M., and Fornaguera, J. (2009). A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. Behav Brain Res *197*, 125–137. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.08.014.

Brenes, J.C., Fornaguera, J., and Sequeira-Cordero, A. (2020). Environmental Enrichment and Physical Exercise Attenuate the Depressive-Like Effects Induced by Social Isolation Stress in Rats. Front Pharmacol *11*, 804. https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00804.

Brezun, J.M., and Daszuta, A. (1999). Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. Neuroscience *89*, 999–1002. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00693-9.

Briones, B.A., Pisano, T.J., Pitcher, M.N., Haye, A.E., Diethorn, E.J., Engel, E.A., Cameron, H.A., and Gould, E. (2021). Adult-born granule cell mossy fibers preferentially target parvalbumin-positive interneurons surrounded by perineuronal nets. Hippocampus *31*, 375–388. https://doi.org/10.1002/hipo.23296.

Brockett, A.T., LaMarca, E.A., and Gould, E. (2015). Physical exercise enhances cognitive flexibility as well as astrocytic and synaptic markers in the medial prefrontal cortex. PLoS One *10*, e0124859. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0124859.

Brown, S.S.G., Rutland, J.W., Verma, G., Feldman, R.E., Alper, J., Schneider, M., Delman, B.N., Murrough, J.M., and Balchandani, P. (2019). Structural MRI at 7T reveals amygdala nuclei and hippocampal subfield volumetric association with Major Depressive Disorder symptom severity. Sci Rep *9*, 10166. https://doi.org/10.1038/s41598-019-46687-7.

Bruel-Jungerman, E., Rampon, C., and Laroche, S. (2007). Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses. Rev Neurosci *18*, 93–114. https://doi.org/10.1515/revneuro.2007.18.2.93.

Brummelte, S., and Galea, L. a. M. (2010). Chronic high corticosterone reduces neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rats. Neuroscience *168*, 680–690. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.04.023.

Bymaster, F.P., Dreshfield-Ahmad, L.J., Threlkeld, P.G., Shaw, J.L., Thompson, L., Nelson, D.L., Hemrick-Luecke, S.K., and Wong, D.T. (2001). Comparative affinity of duloxetine and venlafaxine for serotonin and norepinephrine transporters in vitro and in vivo, human serotonin receptor subtypes, and other neuronal receptors. Neuropsychopharmacology *25*, 871–880. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00298-6.

Bymaster, F.P., Zhang, W., Carter, P.A., Shaw, J., Chernet, E., Phebus, L., Wong, D.T., and Perry, K.W. (2002a). Fluoxetine, but not other selective serotonin uptake inhibitors, increases norepinephrine and dopamine extracellular levels in prefrontal cortex. Psychopharmacology (Berl) *160*, 353–361. https://doi.org/10.1007/s00213-001-0986-x.

Bymaster, F.P., Katner, J.S., Nelson, D.L., Hemrick-Luecke, S.K., Threlkeld, P.G., Heiligenstein, J.H., Morin, S.M., Gehlert, D.R., and Perry, K.W. (2002b). Atomoxetine increases extracellular levels of norepinephrine and dopamine in prefrontal cortex of rat: a potential mechanism for efficacy in attention deficit/hyperactivity disorder. Neuropsychopharmacology *27*, 699–711. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(02)00346-9.

Cabras, S., Saba, F., Reali, C., Scorciapino, M.L., Sirigu, A., Talani, G., Biggio, G., and Sogos, V. (2010). Antidepressant imipramine induces human astrocytes to differentiate into cells with neuronal phenotype. Int J Neuropsychopharmacol *13*, 603–615. https://doi.org/10.1017/S1461145710000210.

Caetano, S.C., Kaur, S., Brambilla, P., Nicoletti, M., Hatch, J.P., Sassi, R.B., Mallinger, A.G., Keshavan, M.S., Kupfer, D.J., Frank, E., et al. (2006). Smaller cingulate volumes in unipolar depressed patients. Biol Psychiatry *59*, 702–706. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.10.011.

Cambiaghi, M., Crupi, R., Bautista, E.L., Elsamadisi, A., Malik, W., Pozdniakova, H., Han, Z., Buffelli, M., and Battaglia, F. (2020). The Effects of 1-Hz rTMS on Emotional Behavior and Dendritic Complexity of Mature and Newly Generated Dentate Gyrus Neurons in Male Mice. Int J Environ Res Public Health *17*, E4074. https://doi.org/10.3390/ijerph17114074.

Carabelli, B., Delattre, A.M., Waltrick, A.P.F., Araújo, G., Suchecki, D., Machado, R.B., de Souza, L.E.R., Zanata, S.M., Zanoveli, J.M., and Ferraz, A.C. (2020). Fish-oil supplementation decreases Indoleamine-2,3-

Dioxygenase expression and increases hippocampal serotonin levels in the LPS depression model. Behav Brain Res *390*, 112675. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112675.

Caroni, P. (2015). Regulation of Parvalbumin Basket cell plasticity in rule learning. Biochem Biophys Res Commun *460*, 100–103. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.02.023.

Carroll, B.J. (1982). Clinical applications of the dexamethasone suppression test for endogenous depression. Pharmacopsychiatria *15*, 19–25. https://doi.org/10.1055/s-2007-1019504.

Carstens, K.E., Phillips, M.L., Pozzo-Miller, L., Weinberg, R.J., and Dudek, S.M. (2016). Perineuronal Nets Suppress Plasticity of Excitatory Synapses on CA2 Pyramidal Neurons. J Neurosci *36*, 6312–6320. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0245-16.2016.

Caruana, D.A., Alexander, G.M., and Dudek, S.M. (2012). New insights into the regulation of synaptic plasticity from an unexpected place: Hippocampal area CA2. Learn Mem *19*, 391–400. https://doi.org/10.1101/lm.025304.111.

Caspi, A., Sugden, K., Moffitt, T.E., Taylor, A., Craig, I.W., Harrington, H., McClay, J., Mill, J., Martin, J., Braithwaite, A., et al. (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. Science *301*, 386–389. https://doi.org/10.1126/science.1083968.

Cattaud, V., Bezzina, C., Rey, C.C., Lejards, C., Dahan, L., and Verret, L. (2018). Early disruption of parvalbumin expression and perineuronal nets in the hippocampus of the Tg2576 mouse model of Alzheimer's disease can be rescued by enriched environment. Neurobiol Aging *72*, 147–158. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2018.08.024.

Celada, P., and Artigas, F. (1993). Monoamine oxidase inhibitors increase preferentially extracellular 5-hydroxytryptamine in the midbrain raphe nuclei. A brain microdialysis study in the awake rat. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol *347*, 583–590. https://doi.org/10.1007/BF00166940.

Cerqueira, J.J., Pêgo, J.M., Taipa, R., Bessa, J.M., Almeida, O.F.X., and Sousa, N. (2005). Morphological correlates of corticosteroid-induced changes in prefrontal cortex-dependent behaviors. J Neurosci *25*, 7792–7800. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1598-05.2005.

Chail, A., Saini, R.K., Bhat, P.S., Srivastava, K., and Chauhan, V. (2018). Transcranial magnetic stimulation: A review of its evolution and current applications. Ind Psychiatry J *27*, 172–180. https://doi.org/10.4103/ipj.ipj_88_18.

Chamberland, S., and Topolnik, L. (2012). Inhibitory control of hippocampal inhibitory neurons. Front Neurosci *6*, 165. https://doi.org/10.3389/fnins.2012.00165.

Chan, J.N.-M., Lee, J.C.-D., Lee, S.S.P., Hui, K.K.Y., Chan, A.H.L., Fung, T.K.-H., Sánchez-Vidaña, D.I., Lau, B.W.-M., and Ngai, S.P.-C. (2017). Interaction Effect of Social Isolation and High Dose Corticosteroid on Neurogenesis and Emotional Behavior. Front Behav Neurosci *11*, 18. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00018.

Chaput, Y., Blier, P., and de Montigny, C. (1986). In vivo electrophysiological evidence for the regulatory role of autoreceptors on serotonergic terminals. J Neurosci *6*, 2796–2801. .

Chen, C., Nakagawa, S., Kitaichi, Y., An, Y., Omiya, Y., Song, N., Koga, M., Kato, A., Inoue, T., and Kusumi, I. (2016). The role of medial prefrontal corticosterone and dopamine in the antidepressant-like effect of exercise. Psychoneuroendocrinology *69*, 1–9. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.03.008.

Chen, C.-H., Ridler, K., Suckling, J., Williams, S., Fu, C.H.Y., Merlo-Pich, E., and Bullmore, E. (2007). Brain imaging correlates of depressive symptom severity and predictors of symptom improvement after antidepressant treatment. Biol Psychiatry *62*, 407–414. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.09.018.

Choudary, P.V., Molnar, M., Evans, S.J., Tomita, H., Li, J.Z., Vawter, M.P., Myers, R.M., Bunney, W.E., Akil, H., Watson, S.J., et al. (2005). Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. Proc Natl Acad Sci U S A *102*, 15653–15658. https://doi.org/10.1073/pnas.0507901102.

Chourbaji, S., Hellweg, R., Brandis, D., Zörner, B., Zacher, C., Lang, U.E., Henn, F.A., Hörtnagl, H., and Gass, P. (2004). Mice with reduced brain-derived neurotrophic factor expression show decreased choline acetyltransferase activity, but regular brain monoamine levels and unaltered emotional behavior. Brain Res Mol Brain Res *121*, 28–36. https://doi.org/10.1016/j.molbrainres.2003.11.002.

Chourbaji, S., Vogt, M.A., Fumagalli, F., Sohr, R., Frasca, A., Brandwein, C., Hörtnagl, H., Riva, M.A., Sprengel, R., and Gass, P. (2008). AMPA receptor subunit 1 (GluR-A) knockout mice model the glutamate hypothesis of depression. FASEB J *22*, 3129–3134. https://doi.org/10.1096/fj.08-106450.

Chourbaji, S., Hörtnagl, H., Molteni, R., Riva, M.A., Gass, P., and Hellweg, R. (2012). The impact of environmental enrichment on sex-specific neurochemical circuitries - effects on brain-derived neurotrophic factor and the serotonergic system. Neuroscience *220*, 267–276. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.06.016.

Ciric, T., Cahill, S.P., and Snyder, J.S. (2019). Dentate gyrus neurons that are born at the peak of development, but not before or after, die in adulthood. Brain Behav *9*, e01435. https://doi.org/10.1002/brb3.1435.

Clark, D.L., Boutros, N.N., and Mendez, M.F. (2018). The Brain and Behavior: An Introduction to Behavioral Neuroanatomy (Cambridge University Press).

Clark, P.J., Amat, J., McConnell, S.O., Ghasem, P.R., Greenwood, B.N., Maier, S.F., and Fleshner, M. (2015). Running Reduces Uncontrollable Stress-Evoked Serotonin and Potentiates Stress-Evoked Dopamine Concentrations in the Rat Dorsal Striatum. PLoS One *10*, e0141898. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141898.

Cobb, S.R., Halasy, K., Vida, I., Nyiri, G., Tamás, G., Buhl, E.H., and Somogyi, P. (1997). Synaptic effects of identified interneurons innervating both interneurons and pyramidal cells in the rat hippocampus. Neuroscience *79*, 629–648. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00055-9.

Coelho, V., Mazzardo-Martins, L., Martins, D.F., Santos, A.R.S., da Silva Brum, L.F., Picada, J.N., and Pereira, P. (2013). Neurobehavioral and genotoxic evaluation of (-)-linalool in mice. J Nat Med *67*, 876–880. https://doi.org/10.1007/s11418-013-0751-6.

Comeau, W.L., McDonald, R.J., and Kolb, B.E. (2010). Learning-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology. Behav Brain Res *214*, 91–101. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.04.033.

Coutens, B., Rekik, K., Harster, A., Etienne, P., Noirot, V., Frances, B., Moulédous, L., and Guiard, B.P. (2020). A Citrus Based Sensory Functional Food Ingredient Induces Antidepressant-like Effects: Possible Involvement of an Interplay between the Olfactory and the Serotonergic Systems. Neuroscience *451*, 149–163. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.09.040.

Cuadra, G., Zurita, A., Gioino, G., and Molina, V. (2001). Influence of different antidepressant drugs on the effect of chronic variable stress on restraint-induced dopamine release in frontal cortex. Neuropsychopharmacology *25*, 384–394. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00234-2.

Cunha, M.P., Oliveira, Á., Pazini, F.L., Machado, D.G., Bettio, L.E.B., Budni, J., Aguiar, A.S., Martins, D.F., Santos, A.R.S., and Rodrigues, A.L.S. (2013). The antidepressant-like effect of physical activity on a voluntary running wheel. Med Sci Sports Exerc *45*, 851–859. https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31827b23e6.

Cunningham, J.L., Wernroth, L., von Knorring, L., Berglund, L., and Ekselius, L. (2011). Agreement between physicians' and patients' ratings on the Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale. J Affect Disord *135*, 148–153. https://doi.org/10.1016/j.jad.2011.07.005.

Cusack, B., Nelson, A., and Richelson, E. (1994). Binding of antidepressants to human brain receptors: focus on newer generation compounds. Psychopharmacology (Berl) *114*, 559–565. https://doi.org/10.1007/BF02244985.

Cusin, C., and Dougherty, D.D. (2012). Somatic therapies for treatment-resistant depression: ECT, TMS, VNS, DBS. Biol Mood Anxiety Disord *2*, 14. https://doi.org/10.1186/2045-5380-2-14.

Czachura, J.F., and Rasmussen, K. (2000). Effects of acute and chronic administration of fluoxetine on the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol *362*, 266–275. https://doi.org/10.1007/s002100000290.

Czéh, B., and Di Benedetto, B. (2013). Antidepressants act directly on astrocytes: evidences and functional consequences. Eur Neuropsychopharmacol *23*, 171–185. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2012.04.017.

Czéh, B., Fuchs, E., Wiborg, O., and Simon, M. (2016). Animal models of major depression and their clinical implications. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *64*, 293–310. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.04.004.

Dale, E., Pehrson, A.L., Jeyarajah, T., Li, Y., Leiser, S.C., Smagin, G., Olsen, C.K., and Sanchez, C. (2016). Effects of serotonin in the hippocampus: how SSRIs and multimodal antidepressants might regulate pyramidal cell function. CNS Spectr *21*, 143–161. https://doi.org/10.1017/S1092852915000425.

Darcet, F., Mendez-David, I., Tritschler, L., Gardier, A.M., Guilloux, J.-P., and David, D.J. (2014). Learning and memory impairments in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression. Front Behav Neurosci *8*, 136. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00136.

David, D.J., and Gardier, A.M. (2016). [The pharmacological basis of the serotonin system: Application to antidepressant response]. Encephale *42*, 255–263. https://doi.org/10.1016/j.encep.2016.03.012.

David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.-W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guiard, B.P., Guilloux, J.-P., et al. (2009). Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron *62*, 479–493. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.04.017.

De Paermentier, F., Mauger, J.M., Lowther, S., Crompton, M.R., Katona, C.L., and Horton, R.W. (1997). Brain alpha-adrenoceptors in depressed suicides. Brain Res *757*, 60–68. https://doi.org/10.1016/s0006-

8993(97)00138-8.

DeFelipe, J., and Fariñas, I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. Prog Neurobiol *39*, 563–607. https://doi.org/10.1016/0301-0082(92)90015-7.

Demuyser, T., Bentea, E., Deneyer, L., Albertini, G., Massie, A., and Smolders, I. (2016). Disruption of the HPA-axis through corticosterone-release pellets induces robust depressive-like behavior and reduced BDNF levels in mice. Neurosci Lett *626*, 119–125. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.05.026.

Desbonnet, L., Clarke, G., Traplin, A., O'Sullivan, O., Crispie, F., Moloney, R.D., Cotter, P.D., Dinan, T.G., and Cryan, J.F. (2015). Gut microbiota depletion from early adolescence in mice: Implications for brain and behaviour. Brain Behav Immun *48*, 165–173. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.04.004.

Diamond, M.C., Law, F., Rhodes, H., Lindner, B., Rosenzweig, M.R., Krech, D., and Bennett, E.L. (1966). Increases in cortical depth and glia numbers in rats subjected to enriched environment. J Comp Neurol *128*, 117–126. https://doi.org/10.1002/cne.901280110.

Diaz, S.L., and Maroteaux, L. (2011). Implication of 5-HT(2B) receptors in the serotonin syndrome. Neuropharmacology *61*, 495–502. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.01.025.

Diaz, S.L., Doly, S., Narboux-Nême, N., Fernández, S., Mazot, P., Banas, S.M., Boutourlinsky, K., Moutkine, I., Belmer, A., Roumier, A., et al. (2012). 5-HT(2B) receptors are required for serotonin-selective antidepressant actions. Mol Psychiatry *17*, 154–163. https://doi.org/10.1038/mp.2011.159.

Diorio, D., Viau, V., and Meaney, M.J. (1993). The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. J Neurosci *13*, 3839–3847. .

Dityatev, A., Schachner, M., and Sonderegger, P. (2010). The dual role of the extracellular matrix in synaptic plasticity and homeostasis. Nat Rev Neurosci *11*, 735–746. https://doi.org/10.1038/nrn2898.

Doly, S., Valjent, E., Setola, V., Callebert, J., Hervé, D., Launay, J.-M., and Maroteaux, L. (2008). Serotonin 5-HT2B receptors are required for 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced hyperlocomotion and 5-HT release in vivo and in vitro. J Neurosci *28*, 2933–2940. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5723-07.2008.

Dostes, S., Dubreucq, S., Ladevèze, E., Marsicano, G., Abrous, D.N., Chaouloff, F., and Koehl, M. (2016). Running per se stimulates the dendritic arbor of newborn dentate granule cells in mouse hippocampus in a duration-dependent manner. Hippocampus *26*, 282–288. https://doi.org/10.1002/hipo.22551.

Dranovsky, A., Picchini, A.M., Moadel, T., Sisti, A.C., Yamada, A., Kimura, S., Leonardo, E.D., and Hen, R. (2011). Experience dictates stem cell fate in the adult hippocampus. Neuron *70*, 908–923. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.022.

Dremencov, E., Csatlósová, K., Durišová, B., Moravcíková, L., Lacinová, L., and Ježová, D. (2017). Effect of Physical Exercise and Acute Escitalopram on the Excitability of Brain Monoamine Neurons: In Vivo Electrophysiological Study in Rats. Int J Neuropsychopharmacol *20*, 585–592. https://doi.org/10.1093/ijnp/pyx024.

Drevets, W.C., Videen, T.O., Price, J.L., Preskorn, S.H., Carmichael, S.T., and Raichle, M.E. (1992). A functional anatomical study of unipolar depression. J Neurosci *12*, 3628–3641. .

Drevets, W.C., Price, J.L., Simpson, J.R., Todd, R.D., Reich, T., Vannier, M., and Raichle, M.E. (1997). Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. Nature *386*, 824–827. https://doi.org/10.1038/386824a0.

Drevets, W.C., Price, J.L., Bardgett, M.E., Reich, T., Todd, R.D., and Raichle, M.E. (2002). Glucose metabolism in the amygdala in depression: relationship to diagnostic subtype and plasma cortisol levels. Pharmacol Biochem Behav *71*, 431–447. https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00687-6.

Droste, S.K., Gesing, A., Ulbricht, S., Müller, M.B., Linthorst, A.C.E., and Reul, J.M.H.M. (2003). Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. Endocrinology *144*, 3012–3023. https://doi.org/10.1210/en.2003-0097.

Droste, S.K., Chandramohan, Y., Hill, L.E., Linthorst, A.C.E., and Reul, J.M.H.M. (2007). Voluntary exercise impacts on the rat hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis mainly at the adrenal level. Neuroendocrinology *86*, 26–37. https://doi.org/10.1159/000104770.

Du, J., Zhang, L., Weiser, M., Rudy, B., and McBain, C.J. (1996). Developmental expression and functional characterization of the potassium-channel subunit Kv3.1b in parvalbumin-containing interneurons of the rat hippocampus. J Neurosci *16*, 506–518. .

Dubreucq, S., Marsicano, G., and Chaouloff, F. (2015). Duration- and environment-dependent effects of repeated voluntary exercise on anxiety and cued fear in mice. Behav Brain Res *282*, 1–5. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.12.042.

Ducat, L., Philipson, L.H., and Anderson, B.J. (2014). The mental health comorbidities of diabetes.

JAMA *312*, 691–692. https://doi.org/10.1001/jama.2014.8040.

Duman, R.S., Nakagawa, S., and Malberg, J. (2001). Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. Neuropsychopharmacology *25*, 836–844. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00358-X.

Duman, R.S., Sanacora, G., and Krystal, J.H. (2019). Altered Connectivity in Depression: GABA and Glutamate Neurotransmitter Deficits and Reversal by Novel Treatments. Neuron *102*, 75–90. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.03.013.

Dupont, R.M., Jernigan, T.L., Heindel, W., Butters, N., Shafer, K., Wilson, T., Hesselink, J., and Gillin, J.C. (1995). Magnetic resonance imaging and mood disorders. Localization of white matter and other subcortical abnormalities. Arch Gen Psychiatry *52*, 747–755. https://doi.org/10.1001/archpsyc.1995.03950210041009.

Dupret, D., Revest, J.-M., Koehl, M., Ichas, F., De Giorgi, F., Costet, P., Abrous, D.N., and Piazza, P.V. (2008). Spatial relational memory requires hippocampal adult neurogenesis. PLoS One *3*, e1959. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001959.

Duric, V., Banasr, M., Stockmeier, C.A., Simen, A.A., Newton, S.S., Overholser, J.C., Jurjus, G.J., Dieter, L., and Duman, R.S. (2013). Altered expression of synapse and glutamate related genes in post-mortem hippocampus of depressed subjects. Int J Neuropsychopharmacol *16*, 69–82. https://doi.org/10.1017/S1461145712000016.

Eadie, B.D., Redila, V.A., and Christie, B.R. (2005). Voluntary exercise alters the cytoarchitecture of the adult dentate gyrus by increasing cellular proliferation, dendritic complexity, and spine density. J Comp Neurol *486*, 39–47. https://doi.org/10.1002/cne.20493.

Ehninger, D., Wang, L.-P., Klempin, F., Römer, B., Kettenmann, H., and Kempermann, G. (2011). Enriched environment and physical activity reduce microglia and influence the fate of NG2 cells in the amygdala of adult mice. Cell Tissue Res *345*, 69–86. https://doi.org/10.1007/s00441-011-1200-z.

van Eijndhoven, P., van Wingen, G., van Oijen, K., Rijpkema, M., Goraj, B., Jan Verkes, R., Oude Voshaar, R., Fernández, G., Buitelaar, J., and Tendolkar, I. (2009). Amygdala volume marks the acute state in the early course of depression. Biol Psychiatry *65*, 812–818. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.10.027.

El Yacoubi, M., Bouali, S., Popa, D., Naudon, L., Leroux-Nicollet, I., Hamon, M., Costentin, J., Adrien, J., and Vaugeois, J.-M. (2003). Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression. Proc Natl Acad Sci U S A *100*, 6227–6232. https://doi.org/10.1073/pnas.1034823100.

Ennaceur, A., Neave, N., and Aggleton, J.P. (1997). Spontaneous object recognition and object location memory in rats: the effects of lesions in the cingulate cortices, the medial prefrontal cortex, the cingulum bundle and the fornix. Exp Brain Res *113*, 509–519. https://doi.org/10.1007/pl00005603.

Espinoza Oyarce, D.A., Shaw, M.E., Alateeq, K., and Cherbuin, N. (2020). Volumetric brain differences in clinical depression in association with anxiety: a systematic review with meta-analysis. J Psychiatry Neurosci *45*, 406–429. https://doi.org/10.1503/jpn.190156.

Fabel, K., and Kempermann, G. (2008). Physical activity and the regulation of neurogenesis in the adult and aging brain. Neuromolecular Med *10*, 59–66. https://doi.org/10.1007/s12017-008-8031-4.

Fairchild, G., Leitch, M.M., and Ingram, C.D. (2003). Acute and chronic effects of corticosterone on 5-HT1A receptor-mediated autoinhibition in the rat dorsal raphe nucleus. Neuropharmacology *45*, 925–934. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(03)00269-7.

Falkenberg, T., Mohammed, A.K., Henriksson, B., Persson, H., Winblad, B., and Lindefors, N. (1992). Increased expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat hippocampus is associated with improved spatial memory and enriched environment. Neurosci Lett *138*, 153–156. https://doi.org/10.1016/0304-3940(92)90494-r.

Fan, Y., Liu, Z., Weinstein, P.R., Fike, J.R., and Liu, J. (2007). Environmental enrichment enhances neurogenesis and improves functional outcome after cranial irradiation. Eur J Neurosci *25*, 38–46. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05269.x.

Fan, Y., Chen, P., Li, Y., Cui, K., Noel, D.M., Cummins, E.D., Peterson, D.J., Brown, R.W., and Zhu, M.-Y. (2014). Corticosterone administration up-regulated expression of norepinephrine transporter and dopamine β-hydroxylase in rat locus coeruleus and its terminal regions. J Neurochem *128*, 445–458. https://doi.org/10.1111/jnc.12459.

Fanselow, M.S., and Dong, H.-W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? Neuron *65*, 7–19. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031.

Fares, R.P., Belmeguenai, A., Sanchez, P.E., Kouchi, H.Y., Bodennec, J., Morales, A., Georges, B., Bonnet, C., Bouvard, S., Sloviter, R.S., et al. (2013). Standardized Environmental Enrichment Supports Enhanced Brain Plasticity in Healthy Rats and Prevents Cognitive Impairment in Epileptic Rats. PLoS One *8*, e53888. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053888.

Faturi, C.B., Leite, J.R., Alves, P.B., Canton, A.C., and Teixeira-Silva, F. (2010). Anxiolytic-like effect of sweet orange aroma in Wistar rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *34*, 605–609. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.02.020.

Favuzzi, E., Marques-Smith, A., Deogracias, R., Winterflood, C.M., Sánchez-Aguilera, A., Mantoan, L., Maeso, P., Fernandes, C., Ewers, H., and Rico, B. (2017). Activity-Dependent Gating of Parvalbumin Interneuron Function by the Perineuronal Net Protein Brevican. Neuron *95*, 639-655.e10. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.028.

Fenton, E.Y., Fournier, N.M., Lussier, A.L., Romay-Tallon, R., Caruncho, H.J., and Kalynchuk, L.E. (2015). Imipramine protects against the deleterious effects of chronic corticosterone on depression-like behavior, hippocampal reelin expression, and neuronal maturation. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *60*, 52–59. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.02.001.

Fiksdal, A., Hanlin, L., Kuras, Y., Gianferante, D., Chen, X., Thoma, M.V., and Rohleder, N. (2019). Associations between symptoms of depression and anxiety and cortisol responses to and recovery from acute stress. Psychoneuroendocrinology *102*, 44–52. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.11.035.

Firouzabadi, N., Raeesi, R., Zomorrodian, K., Bahramali, E., and Yavarian, I. (2017). Beta Adrenoceptor Polymorphism and Clinical Response to Sertraline in Major Depressive Patients. J Pharm Pharm Sci *20*, 1–7. https://doi.org/10.18433/J3W31F.

Fischell, J., Van Dyke, A.M., Kvarta, M.D., LeGates, T.A., and Thompson, S.M. (2015). Rapid Antidepressant Action and Restoration of Excitatory Synaptic Strength After Chronic Stress by Negative Modulators of Alpha5-Containing GABAA Receptors. Neuropsychopharmacology *40*, 2499–2509. https://doi.org/10.1038/npp.2015.112.

Flint, J., and Kendler, K.S. (2014). The genetics of major depression. Neuron *81*, 484–503. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.01.027.

Fogaça, M.V., Wu, M., Li, C., Li, X.-Y., Picciotto, M.R., and Duman, R.S. (2021). Inhibition of GABA interneurons in the mPFC is sufficient and necessary for rapid antidepressant responses. Mol Psychiatry *26*, 3277–3291. https://doi.org/10.1038/s41380-020-00916-y.

Foggetti, A., Baccini, G., Arnold, P., Schiffelholz, T., and Wulff, P. (2019). Spiny and Non-spiny Parvalbumin-Positive Hippocampal Interneurons Show Different Plastic Properties. Cell Rep *27*, 3725-3732.e5. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.05.098.

Freed, C.R., and Yamamoto, B.K. (1985). Regional brain dopamine metabolism: a marker for the speed, direction, and posture of moving animals. Science *229*, 62–65. https://doi.org/10.1126/science.4012312.

Friedman, R.A. (2012). Grief, Depression, and the DSM-5. New England Journal of Medicine *366*, 1855–1857. https://doi.org/10.1056/NEJMp1201794.

Frischknecht, R., Heine, M., Perrais, D., Seidenbecher, C.I., Choquet, D., and Gundelfinger, E.D. (2009). Brain extracellular matrix affects AMPA receptor lateral mobility and short-term synaptic plasticity. Nat Neurosci *12*, 897–904. https://doi.org/10.1038/nn.2338.

Friske, J.E., and Gammie, S.C. (2005). Environmental enrichment alters plus maze, but not maternal defense performance in mice. Physiol Behav *85*, 187–194. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.03.022.

Fugger, G., Dold, M., Bartova, L., Kautzky, A., Souery, D., Mendlewicz, J., Serretti, A., Zohar, J., Montgomery, S., Frey, R., et al. (2018). Comorbid thyroid disease in patients with major depressive disorder - results from the European Group for the Study of Resistant Depression (GSRD). Eur Neuropsychopharmacol *28*, 752–760. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2018.03.011.

Fulk, L.J., Stock, H.S., Lynn, A., Marshall, J., Wilson, M.A., and Hand, G.A. (2004). Chronic physical exercise reduces anxiety-like behavior in rats. Int J Sports Med *25*, 78–82. https://doi.org/10.1055/s-2003-45235.

Furukawa, T.A. (2010). Assessment of mood: guides for clinicians. J Psychosom Res *68*, 581–589. https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2009.05.003.

Galani, R., Berthel, M.-C., Lazarus, C., Majchrzak, M., Barbelivien, A., Kelche, C., and Cassel, J.-C. (2007). The behavioral effects of enriched housing are not altered by serotonin depletion but enrichment alters hippocampal neurochemistry. Neurobiol Learn Mem *88*, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.03.009.

Galts, C.P.C., Bettio, L.E.B., Jewett, D.C., Yang, C.C., Brocardo, P.S., Rodrigues, A.L.S., Thacker, J.S., and Gil-Mohapel, J. (2019). Depression in neurodegenerative diseases: Common mechanisms and current treatment options. Neurosci Biobehav Rev *102*, 56–84. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.04.002.

Gao, J., Jia, M., Qiao, D., Qiu, H., Sokolove, J., Zhang, J., and Pan, Z. (2016). TPH2 gene polymorphisms and bipolar disorder: A meta-analysis. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet *171B*, 145–152. https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32381.

García-Sevilla, J.A., Escribá, P.V., Ozaita, A., La Harpe, R., Walzer, C., Eytan, A., and Guimón, J. (1999).

Up-regulation of immunolabeled alpha2A-adrenoceptors, Gi coupling proteins, and regulatory receptor kinases in the prefrontal cortex of depressed suicides. J Neurochem *72*, 282–291. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1999.0720282.x.

Gardier, A.M., David, D.J., Jego, G., Przybylski, C., Jacquot, C., Durier, S., Gruwez, B., Douvier, E., Beauverie, P., Poisson, N., et al. (2003). Effects of chronic paroxetine treatment on dialysate serotonin in 5-HT1B receptor knockout mice. J Neurochem *86*, 13–24. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01827.x.

Gautron, S., and Pietranscosta, N. (2020). [Organic cation transporters as novel therapeutic targets for depression]. Med Sci (Paris) *36*, 703–705. https://doi.org/10.1051/medsci/2020143.

George Paxinos and Keith B.J. Franklin (2019). Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, Compact: The Coronal Plates and Diagrams.

Ghalandari-Shamami, M., Nourizade, S., Yousefi, B., Vafaei, A.A., Pakdel, R., and Rashidy-Pour, A. (2019). Beneficial Effects of Physical Activity and Crocin Against Adolescent Stress Induced Anxiety or Depressive-Like Symptoms and Dendritic Morphology Remodeling in Prefrontal Cortex in Adult Male Rats. Neurochem Res *44*, 917–929. https://doi.org/10.1007/s11064-019-02727-2.

Goekint, M., Bos, I., Heyman, E., Meeusen, R., Michotte, Y., and Sarre, S. (2012). Acute running stimulates hippocampal dopaminergic neurotransmission in rats, but has no influence on brain-derived neurotrophic factor. J Appl Physiol (1985) *112*, 535–541. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00306.2011.

Gomez-Merino, D., Béquet, F., Berthelot, M., Chennaoui, M., and Guezennec, C.Y. (2001). Site-dependent effects of an acute intensive exercise on extracellular 5-HT and 5-HIAA levels in rat brain. Neurosci Lett *301*, 143–146. https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01626-3.

Gonçalves, J.T., Schafer, S.T., and Gage, F.H. (2016). Adult Neurogenesis in the Hippocampus: From Stem Cells to Behavior. Cell *167*, 897–914. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.10.021.

González, A.M., Pascual, J., Meana, J.J., Barturen, F., del Arco, C., Pazos, A., and García-Sevilla, J.A. (1994). Autoradiographic demonstration of increased alpha 2-adrenoceptor agonist binding sites in the hippocampus and frontal cortex of depressed suicide victims. J Neurochem *63*, 256–265. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.63010256.x.

Goodman, T., Trouche, S., Massou, I., Verret, L., Zerwas, M., Roullet, P., and Rampon, C. (2010). Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. Neuroscience *171*, 769–778. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.09.047.

Gordillo-Salas, M., Pascual-Antón, R., Ren, J., Greer, J., and Adell, A. (2020). Antidepressant-Like Effects of CX717, a Positive Allosteric Modulator of AMPA Receptors. Mol Neurobiol *57*, 3498–3507. https://doi.org/10.1007/s12035-020-01954-x.

Gould, E., Reeves, A.J., Graziano, M.S., and Gross, C.G. (1999). Neurogenesis in the neocortex of adult primates. Science *286*, 548–552. https://doi.org/10.1126/science.286.5439.548.

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. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2007.07.016.

Grabiec, M., Turlejski, K., and Djavadian, R.L. (2009). The partial 5-HT1A receptor agonist buspirone enhances neurogenesis in the opossum (Monodelphis domestica). Eur Neuropsychopharmacol *19*, 431–439. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.01.013.

Grabowski, Ł. (2021). Monoamine oxidase inhibitors (MAOI): pharmacology, metabolism and application in the treatment of depression. Postepy Biochem *67*, 130–140. https://doi.org/10.18388/pb.2021_382.

Grant, B.F., and Harford, T.C. (1995). Comorbidity between DSM-IV alcohol use disorders and major depression: results of a national survey. Drug Alcohol Depend *39*, 197–206. https://doi.org/10.1016/0376-8716(95)01160-4.

Green, T.A., Alibhai, I.N., Roybal, C.N., Winstanley, C.A., Theobald, D.E.H., Birnbaum, S.G., Graham, A.R., Unterberg, S., Graham, D.L., Vialou, V., et al. (2010). Environmental Enrichment Produces a Behavioral Phenotype Mediated by Low Cyclic Adenosine Monophosphate Response Element Binding (CREB) Activity in the Nucleus Accumbens. Biol Psychiatry *67*, 28–35. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.06.022.

Greenwood, B.N., Kennedy, S., Smith, T.P., Campeau, S., Day, H.E.W., and Fleshner, M. (2003). Voluntary freewheel running selectively modulates catecholamine content in peripheral tissue and c-Fos expression in the central sympathetic circuit following exposure to uncontrollable stress in rats. Neuroscience *120*, 269–281. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00047-2.

Greenwood, B.N., Foley, T.E., Day, H.E.W., Burhans, D., Brooks, L., Campeau, S., and Fleshner, M. (2005). Wheel running alters serotonin (5-HT) transporter, 5-HT1A, 5-HT1B, and alpha 1b-adrenergic receptor mRNA in the rat raphe nuclei. Biol Psychiatry *57*, 559–568. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.11.025.

Grimonprez, A., Raedt, R., Baeken, C., Boon, P., and Vonck, K. (2015). The antidepressant mechanism of action of vagus nerve stimulation: Evidence from preclinical studies. Neurosci Biobehav Rev *56*, 26–34. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.06.019.

Gritti, A., Parati, E.A., Cova, L., Frolichsthal, P., Galli, R., Wanke, E., Faravelli, L., Morassutti, D.J., Roisen, F., Nickel, D.D., et al. (1996). Multipotential stem cells from the adult mouse brain proliferate and self-renew in response to basic fibroblast growth factor. J Neurosci *16*, 1091–1100. .

Gross-Isseroff, R., Dillon, K.A., Fieldust, S.J., and Biegon, A. (1990). Autoradiographic analysis of alpha 1-noradrenergic receptors in the human brain postmortem. Effect of suicide. Arch Gen Psychiatry *47*, 1049–1053. https://doi.org/10.1001/archpsyc.1990.01810230065010.

Guan, S.-Z., Ji, W.-J., Jiang, Y., Ning, L., Lian, Y.-L., and Liu, J.-W. (2017). Enriched environment treatment remediated hippocampal monoamine neurotransmitters and emotional deficits in offspring induced by maternal chronic stress rat during pregnancy. International Journal of Clinical and Experimental Medicine *10*, 9963–9975. .

Guilloux, J.-P., Seney, M., Edgar, N., and Sibille, E. (2011). Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: relevance to emotionality and sex. J Neurosci Methods *197*, 21–31. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2011.01.019.

Guilloux, J.-P., Mendez-David, I., Pehrson, A., Guiard, B.P., Repérant, C., Orvoën, S., Gardier, A.M., Hen, R., Ebert, B., Miller, S., et al. (2013). Antidepressant and anxiolytic potential of the multimodal antidepressant vortioxetine (Lu AA21004) assessed by behavioural and neurogenesis outcomes in mice. Neuropharmacology *73*, 147–159. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.014.

Guirado, R., Perez-Rando, M., Sanchez-Matarredona, D., Castrén, E., and Nacher, J. (2014). Chronic fluoxetine treatment alters the structure, connectivity and plasticity of cortical interneurons. Int J Neuropsychopharmacol *17*, 1635–1646. https://doi.org/10.1017/S1461145714000406.

Gupta, M.K., Papay, R.S., Jurgens, C.W.D., Gaivin, R.J., Shi, T., Doze, V.A., and Perez, D.M. (2009). alpha1-Adrenergic receptors regulate neurogenesis and gliogenesis. Mol Pharmacol *76*, 314–326. https://doi.org/10.1124/mol.109.057307.

Gutiérrez, B., Arias, B., Gastó, C., Catalán, R., Papiol, S., Pintor, L., and Fañanás, L. (2004). Association analysis between a functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter and severe mood disorders. Psychiatr Genet *14*, 203–208. https://doi.org/10.1097/00041444-200412000-00007.

Hache, G., Guiard, B.P., Le Dantec, Y., Orvoën, S., David, D.J., Gardier, A.M., and Coudoré, F. (2012). Antinociceptive effects of fluoxetine in a mouse model of anxiety/depression. Neuroreport *23*, 525–529. https://doi.org/10.1097/WNR.0b013e328353d70a.

Haddjeri, N., de Montigny, C., and Blier, P. (1997). Modulation of the firing activity of noradrenergic neurones in the rat locus coeruleus by the 5-hydroxtryptamine system. Br J Pharmacol *120*, 865–875. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0700968.

Hamilton, M. (1960). A rating scale for depression. J Neurol Neurosurg Psychiatry *23*, 56–62. https://doi.org/10.1136/jnnp.23.1.56.

Han, K.-M., Won, E., Sim, Y., and Tae, W.-S. (2016). Hippocampal subfield analysis in medication-naïve female patients with major depressive disorder. J Affect Disord *194*, 21–29. https://doi.org/10.1016/j.jad.2016.01.019.

Hare, B.D., Beierle, J.A., Toufexis, D.J., Hammack, S.E., and Falls, W.A. (2014). Exercise-associated changes in the corticosterone response to acute restraint stress: evidence for increased adrenal sensitivity and reduced corticosterone response duration. Neuropsychopharmacology *39*, 1262–1269. https://doi.org/10.1038/npp.2013.329.

Hasler, G. (2010). Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? World Psychiatry *9*, 155–161. https://doi.org/10.1002/j.2051-5545.2010.tb00298.x.

Hayani, H., Song, I., and Dityatev, A. (2018). Increased Excitability and Reduced Excitatory Synaptic Input Into Fast-Spiking CA2 Interneurons After Enzymatic Attenuation of Extracellular Matrix. Front Cell Neurosci *12*, 149. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00149.

Heisler, L.K., Zhou, L., Bajwa, P., Hsu, J., and Tecott, L.H. (2007). Serotonin 5-HT(2C) receptors regulate anxiety-like behavior. Genes Brain Behav *6*, 491–496. https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2007.00316.x.

Hellsten, J., Wennström, M., Mohapel, P., Ekdahl, C.T., Bengzon, J., and Tingström, A. (2002). Electroconvulsive seizures increase hippocampal neurogenesis after chronic corticosterone treatment. Eur J Neurosci *16*, 283–290. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02093.x.

Hendershott, T.R., Cronin, M.E., Langella, S., McGuinness, P.S., and Basu, A.C. (2016). Effects of environmental enrichment on anxiety-like behavior, sociability, sensory gating, and spatial learning in male and female C57BL/6J mice. Behav Brain Res *314*, 215–225. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.08.004.

Hendriksen, H., Prins, J., Olivier, B., and Oosting, R.S. (2010). Environmental enrichment induces behavioral recovery and enhanced hippocampal cell proliferation in an antidepressant-resistant animal model for PTSD. PLoS One *5*, e11943. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011943.

Hervás, I., and Artigas, F. (1998). Effect of fluoxetine on extracellular 5-hydroxytryptamine in rat brain. Role of 5-HT autoreceptors. Eur J Pharmacol *358*, 9–18. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(98)00579-2.

Holsboer, F. (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. Neuropsychopharmacology *23*, 477–501. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00159-7.

Horvath, J.C., Perez, J.M., Forrow, L., Fregni, F., and Pascual-Leone, A. (2011). Transcranial magnetic stimulation: a historical evaluation and future prognosis of therapeutically relevant ethical concerns. J Med Ethics *37*, 137–143. https://doi.org/10.1136/jme.2010.039966.

Hu, H., and Jonas, P. (2014). A supercritical density of Na(+) channels ensures fast signaling in GABAergic interneuron axons. Nat Neurosci *17*, 686–693. https://doi.org/10.1038/nn.3678.

Hu, S., Zhe, Y., Gomez-Pinilla, F., and Frautschy, S.A. (2009). Exercise can increase small heat shock proteins (sHSP) and pre- and post-synaptic proteins in the hippocampus. Brain Res *1249*, 191–201. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.10.054.

Hu, W., Zhang, M., Czéh, B., Flügge, G., and Zhang, W. (2010). Stress impairs GABAergic network function in the hippocampus by activating nongenomic glucocorticoid receptors and affecting the integrity of the parvalbumin-expressing neuronal network. Neuropsychopharmacology *35*, 1693–1707. https://doi.org/10.1038/npp.2010.31.

Huang, Y.-Q., Wu, C., He, X.-F., Wu, D., He, X., Liang, F.-Y., Dai, G.-Y., Pei, Z., Xu, G.-Q., and Lan, Y. (2018). Effects of Voluntary Wheel-Running Types on Hippocampal Neurogenesis and Spatial Cognition in Middle-Aged Mice. Front Cell Neurosci *12*, 177. https://doi.org/10.3389/fncel.2018.00177.

Hurwitz, T.A., Clark, C., Murphy, E., Klonoff, H., Martin, W.R., and Pate, B.D. (1990). Regional cerebral glucose metabolism in major depressive disorder. Can J Psychiatry *35*, 684–688. https://doi.org/10.1177/070674379003500807.

Husain, M.M., McDonald, W.M., Doraiswamy, P.M., Figiel, G.S., Na, C., Escalona, P.R., Boyko, O.B., Nemeroff, C.B., and Krishnan, K.R. (1991). A magnetic resonance imaging study of putamen nuclei in major depression. Psychiatry Res *40*, 95–99. https://doi.org/10.1016/0925-4927(91)90001-7.

Hutton, C.P., Déry, N., Rosa, E., Lemon, J.A., Rollo, C.D., Boreham, D.R., Fahnestock, M., deCatanzaro, D., Wojtowicz, J.M., and Becker, S. (2015). Synergistic effects of diet and exercise on hippocampal function in chronically stressed mice. Neuroscience *308*, 180–193. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.005.

Ilin, Y., and Richter-Levin, G. (2009). Enriched environment experience overcomes learning deficits and depressive-like behavior induced by juvenile stress. PLoS One *4*, e4329. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004329.

Imoto, Y., Kira, T., Sukeno, M., Nishitani, N., Nagayasu, K., Nakagawa, T., Kaneko, S., Kobayashi, K., and Segi-Nishida, E. (2015). Role of the 5-HT4 receptor in chronic fluoxetine treatment-induced neurogenic activity and granule cell dematuration in the dentate gyrus. Mol Brain *8*, 29. https://doi.org/10.1186/s13041-015-0120-3.

Invernizzi, R.W., and Garattini, S. (2004). Role of presynaptic alpha2-adrenoceptors in antidepressant action: recent findings from microdialysis studies. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *28*, 819–827. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.05.026.

Invernizzi, R., Bramante, M., and Samanin, R. (1994). Chronic treatment with citalopram facilitates the effect of a challenge dose on cortical serotonin output: role of presynaptic 5-HT1A receptors. Eur J Pharmacol *260*, 243–246. https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)90344-1.

Jacobs, B.L., and Azmitia, E.C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. Physiol Rev *72*, 165–229. https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.165.

Jacobs, B.L., van Praag, H., and Gage, F.H. (2000). Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. Mol Psychiatry *5*, 262–269. https://doi.org/10.1038/sj.mp.4000712.

Jacobson, L., and Sapolsky, R. (1991). The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. Endocr Rev *12*, 118–134. https://doi.org/10.1210/edrv-12-2-118.

Jasnow, A.M., Cooper, M.A., and Huhman, K.L. (2004). N-methyl-D-aspartate receptors in the amygdala are necessary for the acquisition and expression of conditioned defeat. Neuroscience *123*, 625–634. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.10.015.

Jaworska, N., Yücel, K., Courtright, A., MacMaster, F.P., Sembo, M., and MacQueen, G. (2016). Subgenual anterior cingulate cortex and hippocampal volumes in depressed youth: The role of comorbidity and age. J Affect Disord *190*, 726–732. https://doi.org/10.1016/j.jad.2015.10.064.

Jayatissa, M.N., Henningsen, K., West, M.J., and 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. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.07.001.

Jha, S., Dong, B., and Sakata, K. (2011). Enriched environment treatment reverses depression-like behavior and restores reduced hippocampal neurogenesis and protein levels of brain-derived neurotrophic factor in mice lacking its expression through promoter IV. Transl Psychiatry *1*, e40. https://doi.org/10.1038/tp.2011.33.

Jhaveri, D.J., Mackay, E.W., Hamlin, A.S., Marathe, S.V., Nandam, L.S., Vaidya, V.A., and Bartlett, P.F. (2010). Norepinephrine directly activates adult hippocampal precursors via beta3-adrenergic receptors. J Neurosci *30*, 2795–2806. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3780-09.2010.

Ji, M.-H., Zhang, L., Mao, M.-J., Zhang, H., Yang, J.-J., and Qiu, L.-L. (2020). Overinhibition mediated by parvalbumin interneurons might contribute to depression-like behavior and working memory impairment induced by lipopolysaccharide challenge. Behav Brain Res *383*, 112509. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.112509.

Jia, Y., Liu, L., Sheng, C., Cheng, Z., Cui, L., Li, M., Zhao, Y., Shi, T., Yau, T.O., Li, F., et al. (2019). Increased Serum Levels of Cortisol and Inflammatory Cytokines in People With Depression. J Nerv Ment Dis *207*, 271–276. https://doi.org/10.1097/NMD.0000000000000957.

Jin, K., Zhu, Y., Sun, Y., Mao, X.O., Xie, L., and Greenberg, D.A. (2002). Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A *99*, 11946–11950. https://doi.org/10.1073/pnas.182296499.

Joëls, M., Karst, H., DeRijk, R., and de Kloet, E.R. (2008). The coming out of the brain mineralocorticoid receptor. Trends Neurosci *31*, 1–7. https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.10.005.

Johnson, S., Stockmeier, C.A., Meyer, J.H., Austin, M.C., Albert, P.R., Wang, J., May, W.L., Rajkowska, G., Overholser, J.C., Jurjus, G., et al. (2011). The reduction of R1, a novel repressor protein for monoamine oxidase A, in major depressive disorder. Neuropsychopharmacology *36*, 2139–2148. https://doi.org/10.1038/npp.2011.105.

Joseph, M.H., Risby, D., Crow, T.J., Deakin, J.F., Johnstone, E.C., and Lawler, P. (1985). MHPG excretion in endogenous depression: relationship to clinical state and the effects of ECT. Psychopharmacology (Berl) *87*, 442–448. https://doi.org/10.1007/BF00432510.

Joshi, S.H., Espinoza, R.T., Pirnia, T., Shi, J., Wang, Y., Ayers, B., Leaver, A., Woods, R.P., and Narr, K.L. (2016). Structural Plasticity of the Hippocampus and Amygdala Induced by Electroconvulsive Therapy in Major Depression. Biol Psychiatry *79*, 282–292. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.02.029.

Kallarackal, A.J., Kvarta, M.D., Cammarata, E., Jaberi, L., Cai, X., Bailey, A.M., and Thompson, S.M. (2013). Chronic stress induces a selective decrease in AMPA receptor-mediated synaptic excitation at hippocampal temporoammonic-CA1 synapses. J Neurosci *33*, 15669–15674. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2588-13.2013.

Kaltenboeck, A., and Harmer, C. (2018). The neuroscience of depressive disorders: A brief review of the past and some considerations about the future. Brain and Neuroscience Advances *2*, 239821281879926. https://doi.org/10.1177/2398212818799269.

Kanzari, A., Bourcier-Lucas, C., Freyssin, A., Abrous, D.N., Haddjeri, N., and Lucas, G. (2018). Inducing a long-term potentiation in the dentate gyrus is sufficient to produce rapid antidepressant-like effects. Mol Psychiatry *23*, 587–596. https://doi.org/10.1038/mp.2017.94.

Kaushik, R., Lipachev, N., Matuszko, G., Kochneva, A., Dvoeglazova, A., Becker, A., Paveliev, M., and Dityatev, A. (2021). Fine structure analysis of perineuronal nets in the ketamine model of schizophrenia. Eur J Neurosci *53*, 3988–4004. https://doi.org/10.1111/ejn.14853.

Keeney, A., Jessop, D.S., Harbuz, M.S., Marsden, C.A., Hogg, S., and Blackburn-Munro, R.E. (2006). Differential effects of acute and chronic social defeat stress on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and hippocampal serotonin release in mice. J Neuroendocrinol *18*, 330–338. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2006.01422.x.

Keers, R., and Aitchison, K.J. (2010). Gender differences in antidepressant drug response. Int Rev Psychiatry *22*, 485–500. https://doi.org/10.3109/09540261.2010.496448.

Kellner, C.H., Tobias, K.G., and Wiegand, J. (2010). Electrode placement in electroconvulsive therapy (ECT): A review of the literature. J ECT *26*, 175–180. https://doi.org/10.1097/YCT.0b013e3181e48154.

Kempermann, G. (2011). Seven principles in the regulation of adult neurogenesis. Eur J Neurosci *33*, 1018–1024. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07599.x.

Kempermann, G. (2019). Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. Nat Rev Neurosci *20*, 235–245. https://doi.org/10.1038/s41583-019-0120-x.

Kempermann, G., and Gage, F.H. (1999). Experience-dependent regulation of adult hippocampal

neurogenesis: effects of long-term stimulation and stimulus withdrawal. Hippocampus *9*, 321–332. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1999)9:3<321::AID-HIPO11>3.0.CO;2-C.

Kempermann, G., Kuhn, H.G., and Gage, F.H. (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. Nature *386*, 493–495. https://doi.org/10.1038/386493a0.

Kendler, K.S., Karkowski, L.M., and Prescott, C.A. (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. Am J Psychiatry *156*, 837–841. https://doi.org/10.1176/ajp.156.6.837.

Kennedy, S.H., Evans, K.R., Krüger, S., Mayberg, H.S., Meyer, J.H., McCann, S., Arifuzzman, A.I., Houle, S., and Vaccarino, F.J. (2001). Changes in regional brain glucose metabolism measured with positron emission tomography after paroxetine treatment of major depression. Am J Psychiatry *158*, 899–905. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.6.899.

Kepecs, A., and Fishell, G. (2014). Interneuron cell types are fit to function. Nature *505*, 318–326. https://doi.org/10.1038/nature12983.

Kessler, R.C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Koretz, D., Merikangas, K.R., Rush, A.J., Walters, E.E., and Wang, P.S. (2003). The Epidemiology of Major Depressive Disorder: Results From the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). JAMA *289*, 3095. https://doi.org/10.1001/jama.289.23.3095.

Kimbrell, T.A., Ketter, T.A., George, M.S., Little, J.T., Benson, B.E., Willis, M.W., Herscovitch, P., and Post, R.M. (2002). Regional cerebral glucose utilization in patients with a range of severities of unipolar depression. Biol Psychiatry *51*, 237–252. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01216-1.

Kinoshita, M., Nasu-Tada, K., Fujishita, K., Sato, K., and Koizumi, S. (2013). Secretion of matrix metalloproteinase-9 from astrocytes by inhibition of tonic P2Y14-receptor-mediated signal(s). Cell Mol Neurobiol *33*, 47–58. https://doi.org/10.1007/s10571-012-9869-4.

Klimek, V., Stockmeier, C., Overholser, J., Meltzer, H.Y., Kalka, S., Dilley, G., and Ordway, G.A. (1997). Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in major depression. J Neurosci *17*, 8451–8458. .

Kling, M.A., Coleman, V.H., and Schulkin, J. (2009). Glucocorticoid inhibition in the treatment of depression: can we think outside the endocrine hypothalamus? Depress Anxiety *26*, 641–649. https://doi.org/10.1002/da.20546.

Knapen, J., Vancampfort, D., Moriën, Y., and Marchal, Y. (2015). Exercise therapy improves both mental and physical health in patients with major depression. Disabil Rehabil *37*, 1490–1495. https://doi.org/10.3109/09638288.2014.972579.

Knierim, J.J. (2015). The hippocampus. Curr Biol *25*, R1116-1121. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.10.049.

Knowland, D., Lilascharoen, V., Pacia, C.P., Shin, S., Wang, E.H.-J., and Lim, B.K. (2017). Distinct Ventral Pallidal Neural Populations Mediate Separate Symptoms of Depression. Cell *170*, 284-297.e18. https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.015.

Koch, S., Hemrick-Luecke, S.K., Thompson, L.K., Evans, D.C., Threlkeld, P.G., Nelson, D.L., Perry, K.W., and Bymaster, F.P. (2003). Comparison of effects of dual transporter inhibitors on monoamine transporters and extracellular levels in rats. Neuropharmacology *45*, 935–944. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(03)00268-5.

Koe, A.S., Ashokan, A., and Mitra, R. (2016). Short environmental enrichment in adulthood reverses anxiety and basolateral amygdala hypertrophy induced by maternal separation. Transl Psychiatry *6*, e729. https://doi.org/10.1038/tp.2015.217.

Kondo, M., Nakamura, Y., Ishida, Y., and Shimada, S. (2015). The 5-HT3 receptor is essential for exercise-induced hippocampal neurogenesis and antidepressant effects. Mol Psychiatry *20*, 1428–1437. https://doi.org/10.1038/mp.2014.153.

Konkle, A.T.M., Kentner, A.C., Baker, S.L., Stewart, A., and Bielajew, C. (2010). Environmental-enrichment-related variations in behavioral, biochemical, and physiologic responses of Sprague-Dawley and Long Evans rats. J Am Assoc Lab Anim Sci *49*, 427–436. .

van der Kooij, M.A., Fantin, M., Rejmak, E., Grosse, J., Zanoletti, O., Fournier, C., Ganguly, K., Kalita, K., Kaczmarek, L., and Sandi, C. (2014). Role for MMP-9 in stress-induced downregulation of nectin-3 in hippocampal CA1 and associated behavioural alterations. Nat Commun *5*, 4995. https://doi.org/10.1038/ncomms5995.

Koolschijn, P.C.M.P., van Haren, N.E.M., Lensvelt-Mulders, G.J.L.M., Hulshoff Pol, H.E., and Kahn, R.S. (2009). Brain volume abnormalities in major depressive disorder: a meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. Hum Brain Mapp *30*, 3719–3735. https://doi.org/10.1002/hbm.20801.

Koskinen, M.-K., van Mourik, Y., Smit, A.B., Riga, D., and Spijker, S. (2020). From stress to depression: development of extracellular matrix-dependent cognitive impairment following social stress. Sci Rep *10*, 17308.

https://doi.org/10.1038/s41598-020-73173-2.

Krusemark, E.A., and Li, W. (2012). Enhanced Olfactory Sensory Perception of Threat in Anxiety: An Event-Related fMRI Study. Chemosens Percept *5*, 37–45. https://doi.org/10.1007/s12078-011-9111-7.

Krusemark, E.A., Novak, L.R., Gitelman, D.R., and Li, W. (2013). When the sense of smell meets emotion: anxiety-state-dependent olfactory processing and neural circuitry adaptation. J Neurosci *33*, 15324–15332. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1835-13.2013.

Kuhn, R. (1958). THE TREATMENT OF DEPRESSIVE STATES WITH G 22355 (IMIPRAMINE HYDROCHLORIDE). AJP *115*, 459–464. https://doi.org/10.1176/ajp.115.5.459.

Kulkarni, S.K., and Dhir, A. (2007). Effect of various classes of antidepressants in behavioral paradigms of despair. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *31*, 1248–1254. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.05.002.

Kulkarni, V.A., Jha, S., and Vaidya, V.A. (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*, 2008–2012. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2002.02268.x.

Kwok, J.C.F., Dick, G., Wang, D., and Fawcett, J.W. (2011). Extracellular matrix and perineuronal nets in CNS repair. Dev Neurobiol *71*, 1073–1089. https://doi.org/10.1002/dneu.20974.

Lacroix, D., Blier, P., Curet, O., and de Montigny, C. (1991). Effects of long-term desipramine administration on noradrenergic neurotransmission: electrophysiological studies in the rat brain. J Pharmacol Exp Ther *257*, 1081–1090. .

Lai, T., Payne, M.E., Byrum, C.E., Steffens, D.C., and Krishnan, K.R. (2000). Reduction of orbital frontal cortex volume in geriatric depression. Biol Psychiatry *48*, 971–975. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)01042-8.

Lambert, T.J., Fernandez, S.M., and Frick, K.M. (2005). Different types of environmental enrichment have discrepant effects on spatial memory and synaptophysin levels in female mice. Neurobiol Learn Mem *83*, 206–216. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.12.001.

Lapmanee, S., Charoenphandhu, J., and Charoenphandhu, N. (2013). Beneficial effects of fluoxetine, reboxetine, venlafaxine, and voluntary running exercise in stressed male rats with anxiety- and depression-like behaviors. Behav Brain Res *250*, 316–325. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.05.018.

Lapmanee, S., Charoenphandhu, J., Teerapornpuntakit, J., Krishnamra, N., and Charoenphandhu, N. (2017). Agomelatine, venlafaxine, and running exercise effectively prevent anxiety- and depression-like behaviors and memory impairment in restraint stressed rats. PLoS One *12*, e0187671. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187671.

Lasek, A.W., Chen, H., and Chen, W.-Y. (2018). Releasing Addiction Memories Trapped in Perineuronal Nets. Trends Genet *34*, 197–208. https://doi.org/10.1016/j.tig.2017.12.004.

Le Dantec, Y., Hache, G., Guilloux, J.P., Guiard, B.P., David, D.J., Adrien, J., and Escourrou, P. (2014). NREM sleep hypersomnia and reduced sleep/wake continuity in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression based on chronic corticosterone administration. Neuroscience *274*, 357–368. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.05.050.

Leal-Galicia, P., Saldívar-González, A., Morimoto, S., and Arias, C. (2007). Exposure to environmental enrichment elicits differential hippocampal cell proliferation: role of individual responsiveness to anxiety. Dev Neurobiol *67*, 395–405. https://doi.org/10.1002/dneu.20322.

Leasure, J.L., and Jones, M. (2008). Forced and voluntary exercise differentially affect brain and behavior. Neuroscience *156*, 456–465. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.041.

Leclercq, S., Mian, F.M., Stanisz, A.M., Bindels, L.B., Cambier, E., Ben-Amram, H., Koren, O., Forsythe, P., and Bienenstock, J. (2017). Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior. Nat Commun *8*, 15062. https://doi.org/10.1038/ncomms15062.

Lee, C.Z., Yao, J.S., Huang, Y., Zhai, W., Liu, W., Guglielmo, B.J., Lin, E., Yang, G.-Y., and Young, W.L. (2006). Dose-response effect of tetracyclines on cerebral matrix metalloproteinase-9 after vascular endothelial growth factor hyperstimulation. J Cereb Blood Flow Metab *26*, 1157–1164. https://doi.org/10.1038/sj.jcbfm.9600268.

Lee, J., Duan, W., and Mattson, M.P. (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*, 1367–1375. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.01085.x.

Lee, J.C.-D., Yau, S.-Y., Lee, T.M.C., Lau, B.W.-M., and So, K.-F. (2016). Voluntary Wheel Running Reverses the Decrease in Subventricular Zone Neurogenesis Caused by Corticosterone. Cell Transplant *25*, 1979–1986. https://doi.org/10.3727/096368916X692195.

Lefaucheur, J.-P., Aleman, A., Baeken, C., Benninger, D.H., Brunelin, J., Di Lazzaro, V., Filipović, S.R., Grefkes, C., Hasan, A., Hummel, F.C., et al. (2020). Evidence-based guidelines on the therapeutic use of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS): An update (2014-2018). Clin Neurophysiol *131*, 474–528. https://doi.org/10.1016/j.clinph.2019.11.002.

Leger, M., Bouet, V., Freret, T., Darmaillacq, A.-S., Dacher, M., Dauphin, F., Boulouard, M., and Schumann-Bard, P. (2012). Environmental enrichment improves recent but not remote memory in association with a modified brain metabolic activation profile in adult mice. Behav Brain Res *228*, 22–29. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.11.022.

Leger, M., Paizanis, E., Dzahini, K., Quiedeville, A., Bouet, V., Cassel, J.-C., Freret, T., Schumann-Bard, P., and Boulouard, M. (2015). Environmental Enrichment Duration Differentially Affects Behavior and Neuroplasticity in Adult Mice. Cereb Cortex *25*, 4048–4061. https://doi.org/10.1093/cercor/bhu119.

Lehmann, M.L., and Herkenham, M. (2011). Environmental enrichment confers stress resiliency to social defeat through an infralimbic cortex-dependent neuroanatomical pathway. J Neurosci *31*, 6159–6173. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0577-11.2011.

Lehrner, J., Eckersberger, C., Walla, P., Pötsch, G., and Deecke, L. (2000). Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. Physiol Behav *71*, 83–86. https://doi.org/10.1016/s0031-9384(00)00308-5.

Leistner, C., and Menke, A. (2018). How to measure glucocorticoid receptor's sensitivity in patients with stress-related psychiatric disorders. Psychoneuroendocrinology *91*, 235–260. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.01.023.

Lerman, I., Harrison, B.C., Freeman, K., Hewett, T.E., Allen, D.L., Robbins, J., and Leinwand, L.A. (2002). Genetic variability in forced and voluntary endurance exercise performance in seven inbred mouse strains. J Appl Physiol (1985) *92*, 2245–2255. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.01045.2001.

Levitt, P., and Moore, R.Y. (1979). Origin and organization of brainstem catecholamine innervation in the rat. J Comp Neurol *186*, 505–528. https://doi.org/10.1002/cne.901860402.

Li, L., and Zhang, C. (2021). Venlafaxine Attenuated the Cognitive and Memory Deficit in Mice Exposed to Isoflurane Alone. Front Neurol *12*, 591223. https://doi.org/10.3389/fneur.2021.591223.

Li, H., Huang, Y., Wu, F., Lang, X., and Zhang, X.Y. (2020). Prevalence and related factors of suicide attempts in first-episode and untreated Chinese Han outpatients with psychotic major depression. Journal of Affective Disorders *270*, 108–113. https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.03.093.

Li, T., Chen, X., Zhang, C., Zhang, Y., and Yao, W. (2019). An update on reactive astrocytes in chronic pain. J Neuroinflammation *16*, 140. https://doi.org/10.1186/s12974-019-1524-2.

Liang, X., Tang, J., Chao, F.-L., Zhang, Y., Chen, L.-M., Wang, F.-F., Tan, C.-X., Luo, Y.-M., Xiao, Q., Zhang, L., et al. (2019). Exercise improves depressive symptoms by increasing the number of excitatory synapses in the hippocampus of CUS-Induced depression model rats. Behav Brain Res *374*, 112115. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112115.

Lifschytz, T., Gur, E., Lerer, B., and Newman, M.E. (2004). Effects of triiodothyronine and fluoxetine on 5-HT1A and 5-HT1B autoreceptor activity in rat brain: regional differences. J Neurosci Methods *140*, 133–139. https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.03.028.

Lima, N.G.P.B., De Sousa, D.P., Pimenta, F.C.F., Alves, M.F., De Souza, F.S., Macedo, R.O., Cardoso, R.B., de Morais, L.C.S.L., Melo Diniz, M. de F.F., and de Almeida, R.N. (2013). Anxiolytic-like activity and GC-MS analysis of (R)-(+)-limonene fragrance, a natural compound found in foods and plants. Pharmacol Biochem Behav *103*, 450–454. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.09.005.

Liotti, M., Mayberg, H.S., Brannan, S.K., McGinnis, S., Jerabek, P., and Fox, P.T. (2000). Differential limbic--cortical correlates of sadness and anxiety in healthy subjects: implications for affective disorders. Biol Psychiatry *48*, 30–42. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)00874-x.

Liu, C., Gu, J.-Y., Han, J.-H., Yan, F.-L., Li, Y., Lv, T.-T., Zhao, L.-Q., Shao, Q.-J., Feng, Y.-Y., Zhang, X.-Y., et al. (2017). Enriched environment combined with fluoxetine ameliorates depression-like behaviors and hippocampal SYP expression in a rat CUS model. Brain Res Bull *135*, 33–39. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.09.009.

Liu, Y., Grigorovsky, V., and Bardakjian, B. (2020). Excitation and Inhibition Balance Underlying Epileptiform Activity. IEEE Trans Biomed Eng *67*, 2473–2481. https://doi.org/10.1109/TBME.2019.2963430.

Liu, Y.-F., Chen, H., Wu, C.-L., Kuo, Y.-M., Yu, L., Huang, A.-M., Wu, F.-S., Chuang, J.-I., and Jen, C.J. (2009). Differential effects of treadmill running and wheel running on spatial or aversive learning and memory: roles of amygdalar brain-derived neurotrophic factor and synaptotagmin I. J Physiol *587*, 3221–3231. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.173088.

Loomer, H.P., Saunders, J.C., and Kline, N.S. (1957). A clinical and pharmacodynamic evaluation of

iproniazid as a psychic energizer. Psychiatr Res Rep Am Psychiatr Assoc *8*, 129–141. .

Lopresti, A.L., Hood, S.D., and Drummond, P.D. (2013). A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: diet, sleep and exercise. J Affect Disord *148*, 12–27. https://doi.org/10.1016/j.jad.2013.01.014.

Loy, R., Koziell, D.A., Lindsey, J.D., and Moore, R.Y. (1980). Noradrenergic innervation of the adult rat hippocampal formation. J Comp Neurol *189*, 699–710. https://doi.org/10.1002/cne.901890406.

Lu, Q., Mouri, A., Yang, Y., Kunisawa, K., Teshigawara, T., Hirakawa, M., Mori, Y., Yamamoto, Y., Libo, Z., Nabeshima, T., et al. (2019). Chronic unpredictable mild stress-induced behavioral changes are coupled with dopaminergic hyperfunction and serotonergic hypofunction in mouse models of depression. Behav Brain Res *372*, 112053. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.112053.

Lucas, G., Rymar, V.V., Du, J., Mnie-Filali, O., Bisgaard, C., Manta, S., Lambas-Senas, L., Wiborg, O., Haddjeri, N., Piñeyro, G., et al. (2007). Serotonin(4) (5-HT(4)) receptor agonists are putative antidepressants with a rapid onset of action. Neuron *55*, 712–725. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.041.

Lucassen, P.J., Tilders, F.J., Salehi, A., and Swaab, D.F. (1997). Neuropeptides vasopressin (AVP), oxytocin (OXT) and corticotropin-releasing hormone (CRH) in the human hypothalamus: activity changes in aging, Alzheimer's disease and depression. Aging (Milano) *9*, 48–50. https://doi.org/10.1007/BF03339703.

Lucassen, P.J., Meerlo, P., Naylor, A.S., van Dam, A.M., Dayer, A.G., Fuchs, E., Oomen, C.A., and Czéh, B. (2010). Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action. Eur Neuropsychopharmacol *20*, 1–17. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2009.08.003.

Lussier, A.L., Lebedeva, K., Fenton, E.Y., Guskjolen, A., Caruncho, H.J., and Kalynchuk, L.E. (2013). The progressive development of depression-like behavior in corticosterone-treated rats is paralleled by slowed granule cell maturation and decreased reelin expression in the adult dentate gyrus. Neuropharmacology *71*, 174–183. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.012.

Ly, C., Greb, A.C., Cameron, L.P., Wong, J.M., Barragan, E.V., Wilson, P.C., Burbach, K.F., Soltanzadeh Zarandi, S., Sood, A., Paddy, M.R., et al. (2018). Psychedelics Promote Structural and Functional Neural Plasticity. Cell Rep *23*, 3170–3182. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.022.

Magariños, A.M., Orchinik, M., and McEwen, B.S. (1998). Morphological changes in the hippocampal CA3 region induced by non-invasive glucocorticoid administration: a paradox. Brain Res *809*, 314–318. https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)00882-8.

Magariños, A.M., Li, C.J., Gal Toth, J., Bath, K.G., Jing, D., Lee, F.S., and McEwen, B.S. (2011). Effect of brain-derived neurotrophic factor haploinsufficiency on stress-induced remodeling of hippocampal neurons. Hippocampus *21*, 253–264. https://doi.org/10.1002/hipo.20744.

Mahar, I., Bambico, F.R., Mechawar, N., and Nobrega, J.N. (2014). Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. Neurosci Biobehav Rev *38*, 173–192. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.11.009.

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. .

Malberg, J.E., Hen, R., and Madsen, T.M. (2021). Adult Neurogenesis and Antidepressant Treatment: The Surprise Finding by Ron Duman and the Field 20 Years Later. Biol Psychiatry *90*, 96–101. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.01.010.

Malek, Z.S., Sage, D., Pévet, P., and Raison, S. (2007). Daily rhythm of tryptophan hydroxylase-2 messenger ribonucleic acid within raphe neurons is induced by corticoid daily surge and modulated by enhanced locomotor activity. Endocrinology *148*, 5165–5172. https://doi.org/10.1210/en.2007-0526.

Malykhin, N.V., Carter, R., Seres, P., and Coupland, N.J. (2010). Structural changes in the hippocampus in major depressive disorder: contributions of disease and treatment. J Psychiatry Neurosci *35*, 337–343. https://doi.org/10.1503/jpn.100002.

Mansur, R.B., Brietzke, E., and McIntyre, R.S. (2015). Is there a "metabolic-mood syndrome"? A review of the relationship between obesity and mood disorders. Neurosci Biobehav Rev *52*, 89–104. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.017.

Manta, S., El Mansari, M., Debonnel, G., and Blier, P. (2013). Electrophysiological and neurochemical effects of long-term vagus nerve stimulation on the rat monoaminergic systems. Int J Neuropsychopharmacol *16*, 459–470. https://doi.org/10.1017/S1461145712000387.

Marais, L., Stein, D.J., and Daniels, W.M.U. (2009). Exercise increases BDNF levels in the striatum and decreases depressive-like behavior in chronically stressed rats. Metab Brain Dis *24*, 587–597. https://doi.org/10.1007/s11011-009-9157-2.

Marlin, B.J., and Froemke, R.C. (2017). Oxytocin modulation of neural circuits for social behavior. Dev

Neurobiol *77*, 169–189. https://doi.org/10.1002/dneu.22452.

Martin, K.F., Phillips, I., Hearson, M., Prow, M.R., and Heal, D.J. (1992). Characterization of 8-OH-DPAT-induced hypothermia in mice as a 5-HT1A autoreceptor response and its evaluation as a model to selectively identify antidepressants. Br J Pharmacol *107*, 15–21. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb14457.x.

Martisova, E., Aisa, B., Tordera, R.M., Puerta, E., Solas, M., and Ramirez, M.J. (2015). Venlafaxine reverses decreased proliferation in the subventricular zone in a rat model of early life stress. Behav Brain Res *292*, 79–82. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.05.059.

Masuo, Y., Satou, T., Takemoto, H., and Koike, K. (2021). Smell and Stress Response in the Brain: Review of the Connection between Chemistry and Neuropharmacology. Molecules *26*, 2571. https://doi.org/10.3390/molecules26092571.

Matsunaga, D., Nakagawa, H., and Ishiwata, T. (2021). Difference in the brain serotonin and its metabolite level and anxiety-like behavior between forced and voluntary exercise conditions in rats. Neurosci Lett *744*, 135556. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2020.135556.

Mayberg, H.S., Brannan, S.K., Tekell, J.L., Silva, J.A., Mahurin, R.K., McGinnis, S., and Jerabek, P.A. (2000). Regional metabolic effects of fluoxetine in major depression: serial changes and relationship to clinical response. Biol Psychiatry *48*, 830–843. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)01036-2.

McKinney, W.T., and Bunney, W.E. (1969). Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research. Arch Gen Psychiatry *21*, 240–248. https://doi.org/10.1001/archpsyc.1969.01740200112015.

McQuaid, R.J., Audet, M.-C., Jacobson-Pick, S., and Anisman, H. (2013). The differential impact of social defeat on mice living in isolation or groups in an enriched environment: plasma corticosterone and monoamine variations. Int J Neuropsychopharmacol *16*, 351–363. https://doi.org/10.1017/S1461145712000120.

McQuaid, R.J., Dunn, R., Jacobson-Pick, S., Anisman, H., and Audet, M.-C. (2018). Post-weaning Environmental Enrichment in Male CD-1 Mice: Impact on Social Behaviors, Corticosterone Levels and Prefrontal Cytokine Expression in Adulthood. Front Behav Neurosci *12*, 145. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00145.

Meana, J.J., and García-Sevilla, J.A. (1987). Increased alpha 2-adrenoceptor density in the frontal cortex of depressed suicide victims. J Neural Transm *70*, 377–381. https://doi.org/10.1007/BF01253612.

Mekiri, M., Gardier, A.M., David, D.J., and Guilloux, J.-P. (2017). Chronic corticosterone administration effects on behavioral emotionality in female c57bl6 mice. Exp Clin Psychopharmacol *25*, 94–104. https://doi.org/10.1037/pha0000112.

de Mello Cruz, A.P., Pinheiro, G., Alves, S.H., Ferreira, G., Mendes, M., Faria, L., Macedo, C.E., Motta, V., and Landeira-Fernandez, J. (2005). Behavioral effects of systemically administered MK-212 are prevented by ritanserin microinfusion into the basolateral amygdala of rats exposed to the elevated plus-maze. Psychopharmacology (Berl) *182*, 345–354. https://doi.org/10.1007/s00213-005-0108-2.

Mendez-David, I., David, D.J., Darcet, F., Wu, M.V., Kerdine-Römer, S., Gardier, A.M., and Hen, R. (2014). Rapid anxiolytic effects of a 5-HT_4 receptor agonist are mediated by a neurogenesis-independent mechanism. Neuropsychopharmacology *39*, 1366–1378. https://doi.org/10.1038/npp.2013.332.

Mendez-David, I., Guilloux, J.-P., Papp, M., Tritschler, L., Mocaer, E., Gardier, A.M., Bretin, S., and David, D.J. (2017). S 47445 Produces Antidepressant- and Anxiolytic-Like Effects through Neurogenesis Dependent and Independent Mechanisms. Front Pharmacol *8*, 462. https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00462.

Meyer, J.H., Ginovart, N., Boovariwala, A., Sagrati, S., Hussey, D., Garcia, A., Young, T., Praschak-Rieder, N., Wilson, A.A., and Houle, S. (2006). Elevated monoamine oxidase a levels in the brain: an explanation for the monoamine imbalance of major depression. Arch Gen Psychiatry *63*, 1209–1216. https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.11.1209.

Millan, M.J., Gobert, A., Lejeune, F., Newman-Tancredi, A., Rivet, J.M., Auclair, A., and Peglion, J.L. (2001). S33005, a novel ligand at both serotonin and norepinephrine transporters: I. Receptor binding, electrophysiological, and neurochemical profile in comparison with venlafaxine, reboxetine, citalopram, and clomipramine. J Pharmacol Exp Ther *298*, 565–580. .

Mitra, R., and Sapolsky, R.M. (2008). Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. Proc Natl Acad Sci U S A *105*, 5573–5578. https://doi.org/10.1073/pnas.0705615105.

Moghaddam, B., Adams, B., Verma, A., and Daly, D. (1997). Activation of Glutamatergic Neurotransmission by Ketamine: A Novel Step in the Pathway from NMDA Receptor Blockade to Dopaminergic and Cognitive Disruptions Associated with the Prefrontal Cortex. J Neurosci *17*, 2921–2927. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-08-02921.1997.

Mojtahedi, S., Shabkhiz, F., Ravasi, A.A., Rosenkranz, S., Soori, R., Soleimani, M., and Tavakoli, R. (2020). Voluntary wheel running promotes improvements in biomarkers associated with neurogenic activity in

adult male rats. Biochem Biophys Res Commun *533*, 1505–1511. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.09.110.

Moncek, F., Duncko, R., Johansson, B.B., and Jezova, D. (2004). Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. J Neuroendocrinol *16*, 423–431. https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2004.01173.x.

Mongeau, R., Weiss, M., de Montigny, C., and Blier, P. (1998). Effect of acute, short- and long-term milnacipran administration on rat locus coeruleus noradrenergic and dorsal raphe serotonergic neurons. Neuropharmacology *37*, 905–918. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(98)00083-5.

Montgomery, S.A., and Asberg, M. (1979). A new depression scale designed to be sensitive to change. Br J Psychiatry *134*, 382–389. https://doi.org/10.1192/bjp.134.4.382.

Moradi-Kor, N., Ghanbari, A., Rashidipour, H., Yousefi, B., Bandegi, A.R., and Rashidy-Pour, A. (2019). Beneficial effects of Spirulina platensis, voluntary exercise and environmental enrichment against adolescent stress induced deficits in cognitive functions, hippocampal BDNF and morphological remolding in adult female rats. Horm Behav *112*, 20–31. https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2019.03.004.

Morales-Medina, J.C., Sanchez, F., Flores, G., Dumont, Y., and Quirion, R. (2009). Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. J Chem Neuroanat *38*, 266–272. https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2009.05.009.

Morano, R., Hoskins, O., Smith, B.L., and Herman, J.P. (2018). Loss of Environmental Enrichment Elicits Behavioral and Physiological Dysregulation in Female Rats. Front Behav Neurosci *12*, 287. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00287.

Moreno-Jiménez, E.P., Jurado-Arjona, J., Ávila, J., and Llorens-Martín, M. (2019). The Social Component of Environmental Enrichment Is a Pro-neurogenic Stimulus in Adult c57BL6 Female Mice. Front Cell Dev Biol *7*, 62. https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00062.

Moreno-Jiménez, E.P., Terreros-Roncal, J., Flor-García, M., Rábano, A., and Llorens-Martín, M. (2021). Evidences for Adult Hippocampal Neurogenesis in Humans. J Neurosci *41*, 2541–2553. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0675-20.2020.

Moret, C. (2005). Combination/augmentation strategies for improving the treatment of depression. Neuropsychiatr Dis Treat *1*, 301–309. .

Morgan, J.A., Singhal, G., Corrigan, F., Jaehne, E.J., Jawahar, M.C., and Baune, B.T. (2018). The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice. Behav Brain Res *337*, 193–203. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.09.022.

Morgan, J.K., Olino, T.M., McMakin, D.L., Ryan, N.D., and Forbes, E.E. (2013). Neural response to reward as a predictor of increases in depressive symptoms in adolescence. Neurobiol Dis *52*, 66–74. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.03.039.

Morley-Fletcher, S., Rea, M., Maccari, S., and Laviola, G. (2003). Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. Eur J Neurosci *18*, 3367–3374. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2003.03070.x.

Morres, I.D., Hatzigeorgiadis, A., Stathi, A., Comoutos, N., Arpin-Cribbie, C., Krommidas, C., and Theodorakis, Y. (2019). Aerobic exercise for adult patients with major depressive disorder in mental health services: A systematic review and meta-analysis. Depress Anxiety *36*, 39–53. https://doi.org/10.1002/da.22842.

Mueller, M., Ganesh, R., and Bonnes, S. (2020). Gut Health = Mental Health? The Impact of Diet and Dietary Supplements on Mood Disorders. Curr Nutr Rep *9*, 361–368. https://doi.org/10.1007/s13668-020-00340-2.

Mukhopadhyay, S., Chatterjee, A., Tiwari, P., Ghai, U., and Vaidya, V.A. (2021). Postnatal Fluoxetine Treatment Alters Perineuronal Net Formation and Maintenance in the Hippocampus. ENeuro *8*, ENEURO.0424-20.2021. https://doi.org/10.1523/ENEURO.0424-20.2021.

Mul, J.D., Soto, M., Cahill, M.E., Ryan, R.E., Takahashi, H., So, K., Zheng, J., Croote, D.E., Hirshman, M.F., la Fleur, S.E., et al. (2018). Voluntary wheel running promotes resilience to chronic social defeat stress in mice: a role for nucleus accumbens ΔFosB. Neuropsychopharmacology *43*, 1934–1942. https://doi.org/10.1038/s41386-018-0103-z.

Muller, A.P., Gnoatto, J., Moreira, J.D., Zimmer, E.R., Haas, C.B., Lulhier, F., Perry, M.L.S., Souza, D.O., Torres-Aleman, I., and Portela, L.V. (2011). Exercise increases insulin signaling in the hippocampus: physiological effects and pharmacological impact of intracerebroventricular insulin administration in mice. Hippocampus *21*, 1082–1092. https://doi.org/10.1002/hipo.20822.

Murphy, J.M., Horton, N.J., Laird, N.M., Monson, R.R., Sobol, A.M., and Leighton, A.H. (2004). Anxiety and depression: a 40-year perspective on relationships regarding prevalence, distribution, and comorbidity. Acta Psychiatr Scand *109*, 355–375. https://doi.org/10.1111/j.1600-0447.2003.00286.x.

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. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.01.014.

Naka, F., Shiga, T., Yaguchi, M., and Okado, N. (2002). An enriched environment increases noradrenaline concentration in the mouse brain. Brain Res *924*, 124–126. https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)03257-7.

Nakajima, S., Ohsawa, I., Ohta, S., Ohno, M., and Mikami, T. (2010). Regular voluntary exercise cures stress-induced impairment of cognitive function and cell proliferation accompanied by increases in cerebral IGF-1 and GST activity in mice. Behav Brain Res *211*, 178–184. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.028.

Nanni, V., Uher, R., and Danese, A. (2012). Childhood maltreatment predicts unfavorable course of illness and treatment outcome in depression: a meta-analysis. Am J Psychiatry *169*, 141–151. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.11020335.

Nautiyal, K.M., Tritschler, L., Ahmari, S.E., David, D.J., Gardier, A.M., and Hen, R. (2016). A Lack of Serotonin 1B Autoreceptors Results in Decreased Anxiety and Depression-Related Behaviors. Neuropsychopharmacology *41*, 2941–2950. https://doi.org/10.1038/npp.2016.109.

Nemeroff, C.B., Mayberg, H.S., Krahl, S.E., McNamara, J., Frazer, A., Henry, T.R., George, M.S., Charney, D.S., and Brannan, S.K. (2006). VNS therapy in treatment-resistant depression: clinical evidence and putative neurobiological mechanisms. Neuropsychopharmacology *31*, 1345–1355. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301082.

Nestler, E.J. (2015). Role of the Brain's Reward Circuitry in Depression: Transcriptional Mechanisms. Int Rev Neurobiol *124*, 151–170. https://doi.org/10.1016/bs.irn.2015.07.003.

Nestler, E.J., Gould, E., Manji, H., Buncan, M., Duman, R.S., Greshenfeld, H.K., Hen, R., Koester, S., Lederhendler, I., Meaney, M., et al. (2002). Preclinical models: status of basic research in depression. Biol Psychiatry *52*, 503–528. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01405-1.

Newman, M.E., Shalom, G., Ran, A., Gur, E., and Van de Kar, L.D. (2004). Chronic fluoxetine-induced desensitization of 5-HT1A and 5-HT1B autoreceptors: regional differences and effects of WAY-100635. Eur J Pharmacol *486*, 25–30. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2003.12.008.

Nguyen, H.T., Guiard, B.P., Bacq, A., David, D.J., David, I., Quesseveur, G., Gautron, S., Sanchez, C., and Gardier, A.M. (2013). Blockade of the high-affinity noradrenaline transporter (NET) by the selective 5-HT reuptake inhibitor escitalopram: an in vivo microdialysis study in mice. Br J Pharmacol *168*, 103–116. https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01850.x.

Nicolas, S., Veyssière, J., Gandin, C., Zsürger, N., Pietri, M., Heurteaux, C., Glaichenhaus, N., Petit-Paitel, A., and Chabry, J. (2015). Neurogenesis-independent antidepressant-like effects of enriched environment is dependent on adiponectin. Psychoneuroendocrinology *57*, 72–83. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.03.017.

Niedz, R., Moshonas, M., Peterson, B., Shapiro, J., and Shaw, P. (1997). Analysis of sweet orange (Citrus sinensis (L.) Osbeck) callus cultures for volatile compounds by gas chromatography with mass selective detector. J. Plant Cell Tiss. Org. *51*, 181–185. https://doi.org/10.1023/A:1005977501472.

Nishijima, T., Llorens-Martín, M., Tejeda, G.S., Inoue, K., Yamamura, Y., Soya, H., Trejo, J.L., and Torres-Alemán, I. (2013). Cessation of voluntary wheel running increases anxiety-like behavior and impairs adult hippocampal neurogenesis in mice. Behav Brain Res *245*, 34–41. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.02.009.

Nishijima, T., Kawakami, M., and Kita, I. (2015). A bout of treadmill exercise increases matrix metalloproteinase-9 activity in the rat hippocampus. Neurosci Lett *594*, 144–149. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.03.063.

Nithianantharajah, J., and Hannan, A.J. (2006). Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. Nat Rev Neurosci *7*, 697–709. https://doi.org/10.1038/nrn1970.

Novaes, L.S., Dos Santos, N.B., Perfetto, J.G., Goosens, K.A., and Munhoz, C.D. (2018). Environmental enrichment prevents acute restraint stress-induced anxiety-related behavior but not changes in basolateral amygdala spine density. Psychoneuroendocrinology *98*, 6–10. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.07.031.

Nowakowska, E., Chodera, A., Kus, K., Nowak, P., and Szkilnik, R. (2001). Reversal of stress-induced memory changes by moclobemide: the role of neurotransmitters. Pol J Pharmacol *53*, 227–233. .

Ogawa, S., Fujii, T., Koga, N., Hori, H., Teraishi, T., Hattori, K., Noda, T., Higuchi, T., Motohashi, N., and Kunugi, H. (2014). Plasma L-tryptophan concentration in major depressive disorder: new data and meta-analysis. J Clin Psychiatry *75*, e906-915. https://doi.org/10.4088/JCP.13r08908.

Ogiwara, I., Miyamoto, H., Morita, N., Atapour, N., Mazaki, E., Inoue, I., Takeuchi, T., Itohara, S., Yanagawa, Y., Obata, K., et al. (2007). Nav1.1 localizes to axons of parvalbumin-positive inhibitory interneurons: a circuit basis for epileptic seizures in mice carrying an Scn1a gene mutation. J Neurosci *27*, 5903–5914.

https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5270-06.2007.

Ohira, K., Takeuchi, R., Iwanaga, T., and Miyakawa, T. (2013). Chronic fluoxetine treatment reduces parvalbumin expression and perineuronal nets in gamma-aminobutyric acidergic interneurons of the frontal cortex in adult mice. Mol Brain *6*, 43. https://doi.org/10.1186/1756-6606-6-43.

Ohira, K., Hagihara, H., Miwa, M., Nakamura, K., and Miyakawa, T. (2019). Fluoxetine-induced dematuration of hippocampal neurons and adult cortical neurogenesis in the common marmoset. Mol Brain *12*, 69. https://doi.org/10.1186/s13041-019-0489-5.

Ohmura, Y., Tanaka, K.F., Tsunematsu, T., Yamanaka, A., and Yoshioka, M. (2014). Optogenetic activation of serotonergic neurons enhances anxiety-like behaviour in mice. Int J Neuropsychopharmacol *17*, 1777–1783. https://doi.org/10.1017/S1461145714000637.

Ohta, K.-I., Miki, T., Warita, K., Suzuki, S., Kusaka, T., Yakura, T., Liu, J.-Q., Tamai, M., and Takeuchi, Y. (2014). Prolonged maternal separation disturbs the serotonergic system during early brain development. Int J Dev Neurosci *33*, 15–21. https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2013.10.007.

O'Leary, J.D., Hoban, A.E., Cryan, J.F., O'Leary, O.F., and Nolan, Y.M. (2019). Differential effects of adolescent and adult-initiated voluntary exercise on context and cued fear conditioning. Neuropharmacology *145*, 49–58. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.05.007.

O'Leary, O.F., Wu, X., and Castren, E. (2009). Chronic fluoxetine treatment increases expression of synaptic proteins in the hippocampus of the ovariectomized rat: role of BDNF signalling. Psychoneuroendocrinology *34*, 367–381. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2008.09.015.

Opendak, M., and Gould, E. (2015). Adult neurogenesis: a substrate for experience-dependent change. Trends Cogn Sci *19*, 151–161. https://doi.org/10.1016/j.tics.2015.01.001.

Ordway, G.A., and Klimek, V. (2001). Noradrenergic pathology in psychiatric disorders: postmortem studies. CNS Spectr *6*, 697–703. https://doi.org/10.1017/s1092852900001395.

Ortega, J.E., Gonzalez-Lira, V., Horrillo, I., Herrera-Marschitz, M., Callado, L.F., and Meana, J.J. (2013). Additive effect of rimonabant and citalopram on extracellular serotonin levels monitored with in vivo microdialysis in rat brain. Eur J Pharmacol *709*, 13–19. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.03.043.

Ortiz-Pérez, A., Espinosa-Raya, J., and Picazo, O. (2016). An enriched environment and 17-beta estradiol produce similar pro-cognitive effects on ovariectomized rats. Cogn Process *17*, 15–25. https://doi.org/10.1007/s10339-015-0746-1.

Osuch, E.A., Ketter, T.A., Kimbrell, T.A., George, M.S., Benson, B.E., Willis, M.W., Herscovitch, P., and Post, R.M. (2000). Regional cerebral metabolism associated with anxiety symptoms in affective disorder patients. Biol Psychiatry *48*, 1020–1023. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)00920-3.

Owens, M.J., Morgan, W.N., Plott, S.J., and Nemeroff, C.B. (1997). Neurotransmitter receptor and transporter binding profile of antidepressants and their metabolites. J Pharmacol Exp Ther *283*, 1305–1322. .

Pacak, K., Tjurmina, O., Palkovits, M., Goldstein, D.S., Koch, C.A., Hoff, T., and Chrousos, G.P. (2002). Chronic hypercortisolemia inhibits dopamine synthesis and turnover in the nucleus accumbens: an in vivo microdialysis study. Neuroendocrinology *76*, 148–157. https://doi.org/10.1159/000064522.

Page, M.E. (2003). The promises and pitfalls of reboxetine. CNS Drug Rev *9*, 327–342. https://doi.org/10.1111/j.1527-3458.2003.tb00258.x.

Page, C.E., and Coutellier, L. (2019). Prefrontal excitatory/inhibitory balance in stress and emotional disorders: Evidence for over-inhibition. Neuroscience & Biobehavioral Reviews *105*, 39–51. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.07.024.

Page, M.E., and Lucki, I. (2002). Effects of acute and chronic reboxetine treatment on stress-induced monoamine efflux in the rat frontal cortex. Neuropsychopharmacology *27*, 237–247. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(02)00301-9.

Page, M.E., Detke, M.J., Dalvi, A., Kirby, L.G., and Lucki, I. (1999). Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. Psychopharmacology (Berl) *147*, 162–167. https://doi.org/10.1007/s002130051156.

Pagliusi, M., Bonet, I.J.M., Brandão, A.F., Magalhães, S.F., Tambeli, C.H., Parada, C.A., and Sartori, C.R. (2020). Therapeutic and Preventive Effect of Voluntary Running Wheel Exercise on Social Defeat Stress (SDS)-induced Depressive-like Behavior and Chronic Pain in Mice. Neuroscience *428*, 165–177. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.12.037.

Pan, Y., Cheng, Q., Shan, M.-S., and Yan, J. (2015). Association between polymorphism of the norepinephrine transporter gene rs2242446 and rs5669 loci and depression disorders. Int J Clin Exp Med *8*, 18837–18842. .

Pantazopoulos, H., and Berretta, S. (2016). In Sickness and in Health: Perineuronal Nets and Synaptic Plasticity in Psychiatric Disorders. Neural Plast *2016*, 9847696. https://doi.org/10.1155/2016/9847696.

Papakostas, G.I. (2008). Tolerability of modern antidepressants. J Clin Psychiatry *69 Suppl E1*, 8–13. .

Pariante, C.M. (2009). Risk factors for development of depression and psychosis. Glucocorticoid receptors and pituitary implications for treatment with antidepressant and glucocorticoids. Ann N Y Acad Sci *1179*, 144–152. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04978.x.

Parini, S., Renoldi, G., Battaglia, A., and Invernizzi, R.W. (2005). Chronic reboxetine desensitizes terminal but not somatodendritic alpha2-adrenoceptors controlling noradrenaline release in the rat dorsal hippocampus. Neuropsychopharmacology *30*, 1048–1055. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300661.

Pascual-Brazo, J., Castro, E., Díaz, A., Valdizán, E.M., Pilar-Cuéllar, F., Vidal, R., Treceño, B., and Pazos, A. (2012). Modulation of neuroplasticity pathways and antidepressant-like behavioural responses following the short-term (3 and 7 days) administration of the 5-HT_4 receptor agonist RS67333. Int J Neuropsychopharmacol *15*, 631–643. https://doi.org/10.1017/S1461145711000782.

Pazini, F.L., Cunha, M.P., Azevedo, D., Rosa, J.M., Colla, A., de Oliveira, J., Ramos-Hryb, A.B., Brocardo, P.S., Gil-Mohapel, J., and Rodrigues, A.L.S. (2017). Creatine Prevents Corticosterone-Induced Reduction in Hippocampal Proliferation and Differentiation: Possible Implication for Its Antidepressant Effect. Mol Neurobiol *54*, 6245–6260. https://doi.org/10.1007/s12035-016-0148-0.

Peciña, M., Sikora, M., Avery, E.T., Heffernan, J., Peciña, S., Mickey, B.J., and Zubieta, J.-K. (2017). Striatal dopamine D2/3 receptor-mediated neurotransmission in major depression: Implications for anhedonia, anxiety and treatment response. Eur Neuropsychopharmacol *27*, 977–986. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.08.427.

Perera, T.D., Dwork, A.J., Keegan, K.A., Thirumangalakudi, L., Lipira, C.M., Joyce, N., Lange, C., Higley, J.D., Rosoklija, G., Hen, R., et al. (2011). Necessity of hippocampal neurogenesis for the therapeutic action of antidepressants in adult nonhuman primates. PLoS One *6*, e17600. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017600.

Pham, T.H., and Gardier, A.M. (2019). Fast-acting antidepressant activity of ketamine: highlights on brain serotonin, glutamate, and GABA neurotransmission in preclinical studies. Pharmacol Ther *199*, 58–90. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.02.017.

Pham, K., Nacher, J., Hof, P.R., and McEwen, B.S. (2003). Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. Eur J Neurosci *17*, 879–886. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02513.x.

Pham, T.M., Söderström, S., Winblad, B., and Mohammed, A.H. (1999). Effects of environmental enrichment on cognitive function and hippocampal NGF in the non-handled rats. Behav Brain Res *103*, 63–70. https://doi.org/10.1016/s0166-4328(99)00019-4.

Pieribone, V.A., Xu, Z.Q., Zhang, X., Grillner, S., Bartfai, T., and Hökfelt, T. (1995). Galanin induces a hyperpolarization of norepinephrine-containing locus coeruleus neurons in the brainstem slice. Neuroscience *64*, 861–874. https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)00450-j.

Pizzagalli, D.A., Holmes, A.J., Dillon, D.G., Goetz, E.L., Birk, J.L., Bogdan, R., Dougherty, D.D., Iosifescu, D.V., Rauch, S.L., and Fava, M. (2009). Reduced caudate and nucleus accumbens response to rewards in unmedicated individuals with major depressive disorder. Am J Psychiatry *166*, 702–710. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2008.08081201.

Planchez, B., Surget, A., and Belzung, C. (2019). Animal models of major depression: drawbacks and challenges. J Neural Transm *126*, 1383–1408. https://doi.org/10.1007/s00702-019-02084-y.

Poggini, S., Matte Bon, G., Golia, M.T., Ciano Albanese, N., Viglione, A., Poleggi, A., Limatola, C., Maggi, L., and Branchi, I. (2021). Selecting antidepressants according to a drug-by-environment interaction: A comparison of fluoxetine and minocycline effects in mice living either in enriched or stressful conditions. Behav Brain Res *408*, 113256. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113256.

Popa, D., Cerdan, J., Repérant, C., Guiard, B.P., Guilloux, J.-P., David, D.J., and Gardier, A.M. (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*, 83–90. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2009.11.037.

Porsolt, R.D., Le Pichon, M., and Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. Nature *266*, 730–732. https://doi.org/10.1038/266730a0.

van Praag, H., Shubert, T., Zhao, C., and Gage, F.H. (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. J Neurosci *25*, 8680–8685. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1731-05.2005.

Prouty, E.W., Chandler, D.J., Gao, W.-J., and Waterhouse, B.D. (2019). Selective vulnerability of dorsal raphe-medial prefrontal cortex projection neurons to corticosterone-induced hypofunction. Eur J Neurosci *50*, 1712–1726. https://doi.org/10.1111/ejn.14355.

Pruessner, M., Hellhammer, D.H., Pruessner, J.C., and Lupien, S.J. (2003). Self-reported depressive symptoms and stress levels in healthy young men: associations with the cortisol response to awakening. Psychosom Med *65*, 92–99. https://doi.org/10.1097/01.psy.0000040950.22044.10.

Quesseveur, G., Gardier, A.M., and Guiard, B.P. (2013). The monoaminergic tripartite synapse: a putative target for currently available antidepressant drugs. Curr Drug Targets *14*, 1277–1294. https://doi.org/10.2174/13894501113149990209.

Radley, J.J., and Jacobs, B.L. (2002). 5-HT1A receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. Brain Res *955*, 264–267. https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)03477-7.

Rahman, Z., Ring, R.H., Young, K., Platt, B., Lin, Q., Schechter, L.E., Rosenzweig-Lipson, S., and Beyer, C.E. (2008). Inhibition of uptake 2 (or extraneuronal monoamine transporter) by normetanephrine potentiates the neurochemical effects of venlafaxine. Brain Research *1203*, 68–78. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.01.062.

Rainer, Q., Nguyen, H.T., Quesseveur, G., Gardier, A.M., David, D.J., and Guiard, B.P. (2012). Functional status of somatodendritic serotonin 1A autoreceptor after long-term treatment with fluoxetine in a mouse model of anxiety/depression based on repeated corticosterone administration. Mol Pharmacol *81*, 106–112. https://doi.org/10.1124/mol.111.075796.

Rajkowska, G. (2000). Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. Biol Psychiatry *48*, 766–777. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(00)00950-1.

Rajmohan, V., and Mohandas, E. (2007). The limbic system. Indian J Psychiatry *49*, 132–139. https://doi.org/10.4103/0019-5545.33264.

Ramirez, K., and Sheridan, J.F. (2016). Antidepressant imipramine diminishes stress-induced inflammation in the periphery and central nervous system and related anxiety- and depressive- like behaviors. Brain Behav Immun *57*, 293–303. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2016.05.008.

Rampon, C., Tang, Y.P., Goodhouse, J., Shimizu, E., Kyin, M., and Tsien, J.Z. (2000). Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. Nat Neurosci *3*, 238–244. https://doi.org/10.1038/72945.

Rani, N., Bharti, S., Krishnamurthy, B., Bhatia, J., Sharma, C., Kamal, M.A., Ojha, S., and Arya, D.S. (2016). Pharmacological Properties and Therapeutic Potential of Naringenin: A Citrus Flavonoid of Pharmaceutical Promise. Curr Pharm Des *22*, 4341–4359. https://doi.org/10.2174/1381612822666160530150936.

Reeves, R.R., and Ladner, M.E. (2010). Antidepressant-Induced Suicidality: An Update. CNS Neurosci Ther *16*, 227–234. https://doi.org/10.1111/j.1755-5949.2010.00160.x.

Reif, A., Fritzen, S., Finger, M., Strobel, A., Lauer, M., Schmitt, A., and Lesch, K.-P. (2006). Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. Mol Psychiatry *11*, 514–522. https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001791.

Reul, J.M., and de Kloet, E.R. (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. Endocrinology *117*, 2505–2511. https://doi.org/10.1210/endo-117-6-2505.

Rey, C.C., Robert, V., Bouisset, G., Loisy, M., Lopez, S., Cattaud, V., Lejards, C., Piskorowski, R.A., Rampon, C., Chevaleyre, V., et al. (2022). Altered inhibitory function in hippocampal CA2 contributes in social memory deficits in Alzheimer's mouse model. IScience 103895. https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.103895.

Reynolds, B.A., and Weiss, S. (1996). Clonal and population analyses demonstrate that an EGF-responsive mammalian embryonic CNS precursor is a stem cell. Dev Biol *175*, 1–13. https://doi.org/10.1006/dbio.1996.0090.

Richardson-Jones, J.W., Craige, C.P., Guiard, B.P., Stephen, A., Metzger, K.L., Kung, H.F., Gardier, A.M., Dranovsky, A., David, D.J., Beck, S.G., et al. (2010). 5-HT1A autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. Neuron *65*, 40–52. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.12.003.

Riga, D., Kramvis, I., Koskinen, M.K., van Bokhoven, P., van der Harst, J.E., Heistek, T.S., Jaap Timmerman, A., van Nierop, P., van der Schors, R.C., Pieneman, A.W., et al. (2017). Hippocampal extracellular matrix alterations contribute to cognitive impairment associated with a chronic depressive-like state in rats. Sci. Transl. Med. *9*, eaai8753. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aai8753.

Ringland, C., Schweig, J.E., Eisenbaum, M., Paris, D., Ait-Ghezala, G., Mullan, M., Crawford, F., Abdullah, L., and Bachmeier, C. (2021). MMP9 modulation improves specific neurobehavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. BMC Neurosci *22*, 39. https://doi.org/10.1186/s12868-021-00643-2.

Rizk, P., Salazar, J., Raisman-Vozari, R., Marien, M., Ruberg, M., Colpaert, F., and Debeir, T. (2006). The alpha2-adrenoceptor antagonist dexefaroxan enhances hippocampal neurogenesis by increasing the survival and differentiation of new granule cells. Neuropsychopharmacology *31*, 1146–1157.

https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300954.

Roddy, D., Kelly, J.R., Farrell, C., Doolin, K., Roman, E., Nasa, A., Frodl, T., Harkin, A., O'Mara, S., O'Hanlon, E., et al. (2021). Amygdala substructure volumes in Major Depressive Disorder. Neuroimage Clin *31*, 102781. https://doi.org/10.1016/j.nicl.2021.102781.

Rojas, J.J., Deniz, B.F., Miguel, P.M., Diaz, R., Hermel, E. do E.-S., Achaval, M., Netto, C.A., and Pereira, L.O. (2013). Effects of daily environmental enrichment on behavior and dendritic spine density in hippocampus following neonatal hypoxia-ischemia in the rat. Exp Neurol *241*, 25–33. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.11.026.

Romberg, C., Yang, S., Melani, R., Andrews, M.R., Horner, A.E., Spillantini, M.G., Bussey, T.J., Fawcett, J.W., Pizzorusso, T., and Saksida, L.M. (2013). Depletion of perineuronal nets enhances recognition memory and long-term depression in the perirhinal cortex. J Neurosci *33*, 7057–7065. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6267-11.2013.

Romero, L., Celada, P., Martín-Ruiz, R., Díaz-Mataix, L., Mourelle, M., Delgadillo, J., Hervás, I., and Artigas, F. (2003). Modulation of serotonergic function in rat brain by VN2222, a serotonin reuptake inhibitor and 5-HT1A receptor agonist. Neuropsychopharmacology *28*, 445–456. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300062.

Rosenzweig, M.R. (2003). Effects of differential experience on the brain and behavior. Dev Neuropsychol *24*, 523–540. https://doi.org/10.1080/87565641.2003.9651909.

Rosenzweig, M.R., and Bennett, E.L. (1969). Effects of differential environments on brain weights and enzyme activities in gerbils, rats, and mice. Dev Psychobiol *2*, 87–95. https://doi.org/10.1002/dev.420020208.

Rossi, C., Angelucci, A., Costantin, L., Braschi, C., Mazzantini, M., Babbini, F., Fabbri, M.E., Tessarollo, L., Maffei, L., Berardi, N., et al. (2006). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. Eur J Neurosci *24*, 1850–1856. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05059.x.

Rossi, D.V., Burke, T.F., McCasland, M., and Hensler, J.G. (2008). Serotonin-1A receptor function in the dorsal raphe nucleus following chronic administration of the selective serotonin reuptake inhibitor sertraline. J Neurochem *105*, 1091–1099. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05201.x.

Roy, V., Belzung, C., Delarue, C., and Chapillon, P. (2001). Environmental enrichment in BALB/c mice: effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. Physiol Behav *74*, 313–320. https://doi.org/10.1016/s0031-9384(01)00561-3.

Rubenstein, J.L.R., and Merzenich, M.M. (2003). Model of autism: increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. Genes Brain Behav *2*, 255–267. https://doi.org/10.1034/j.1601-183x.2003.00037.x.

Rush, A.J., Trivedi, M.H., Ibrahim, H.M., Carmody, T.J., Arnow, B., Klein, D.N., Markowitz, J.C., Ninan, P.T., Kornstein, S., Manber, R., et al. (2003). The 16-Item Quick Inventory of Depressive Symptomatology (QIDS), clinician rating (QIDS-C), and self-report (QIDS-SR): a psychometric evaluation in patients with chronic major depression. Biol Psychiatry *54*, 573–583. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(02)01866-8.

Russo, S.J., and Nestler, E.J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. Nat Rev Neurosci *14*, 609–625. https://doi.org/10.1038/nrn3381.

Rybakowski, J.K., Skibinska, M., Suwalska, A., Leszczynska-Rodziewicz, A., Kaczmarek, L., and Hauser, J. (2011). Functional polymorphism of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene and response to lithium prophylaxis in bipolar patients. Hum Psychopharmacol *26*, 168–171. https://doi.org/10.1002/hup.1182.

Saarelainen, T., Hendolin, P., Lucas, G., Koponen, E., Sairanen, M., MacDonald, E., Agerman, K., Haapasalo, A., Nawa, H., Aloyz, R., et al. (2003). Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. J Neurosci *23*, 349–357. .

Sacchetti, G., Bernini, M., Bianchetti, A., Parini, S., Invernizzi, R.W., and Samanin, R. (1999). Studies on the acute and chronic effects of reboxetine on extracellular noradrenaline and other monoamines in the rat brain. Br J Pharmacol *128*, 1332–1338. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702926.

Sairanen, M., Lucas, G., Ernfors, P., Castrén, M., and Castrén, E. (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*, 1089–1094. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3741-04.2005.

Salman, A., El Beltagy, M., Shatarat, A., Alzghoul, L., Oweis, L., Al Antary, N., Al Fegie, S., Mohsen, M., and Salman, S. (2020). Atomoxetine improves hippocampal cell proliferation but not memory in Doxorubicin-treated adult male rats. Vet Med Sci *6*, 1017–1024. https://doi.org/10.1002/vms3.276.

Sampedro-Piquero, P., Castilla-Ortega, E., Zancada-Menendez, C., Santín, L.J., and Begega, A. (2016). Environmental enrichment as a therapeutic avenue for anxiety in aged Wistar rats: Effect on cat odor

exposition and GABAergic interneurons. Neuroscience *330*, 17–25. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.05.032.

Sánchez, C., and Hyttel, J. (1999). Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and on receptor binding. Cell Mol Neurobiol *19*, 467–489. https://doi.org/10.1023/a:1006986824213.

Sánchez-Villegas, A., Delgado-Rodríguez, M., Alonso, A., Schlatter, J., Lahortiga, F., Serra Majem, L., and Martínez-González, M.A. (2009). Association of the Mediterranean dietary pattern with the incidence of depression: the Seguimiento Universidad de Navarra/University of Navarra follow-up (SUN) cohort. Arch Gen Psychiatry *66*, 1090–1098. https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2009.129.

Sant'Ana, A.B., Vilela-Costa, H.H., Vicente, M.A., Hernandes, P.M., de Andrade, T.G.C.S., and Zangrossi, H. (2019). Role of 5-HT2C receptors of the dorsal hippocampus in the modulation of anxiety- and panic-related defensive responses in rats. Neuropharmacology *148*, 311–319. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.01.026.

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. https://doi.org/10.1126/science.1083328.

Sarris, J., O'Neil, A., Coulson, C.E., Schweitzer, I., and Berk, M. (2014). Lifestyle medicine for depression. BMC Psychiatry *14*, 107. https://doi.org/10.1186/1471-244X-14-107.

Saur, L., Baptista, P.P.A., de Senna, P.N., Paim, M.F., do Nascimento, P., Ilha, J., Bagatini, P.B., Achaval, M., and Xavier, L.L. (2014). Physical exercise increases GFAP expression and induces morphological changes in hippocampal astrocytes. Brain Struct Funct *219*, 293–302. https://doi.org/10.1007/s00429-012-0500-8.

Sbrini, G., Brivio, P., Bosch, K., Homberg, J.R., and Calabrese, F. (2020). Enrichment Environment Positively Influences Depression- and Anxiety-Like Behavior in Serotonin Transporter Knockout Rats through the Modulation of Neuroplasticity, Spine, and GABAergic Markers. Genes (Basel) *11*, E1248. https://doi.org/10.3390/genes11111248.

Scharfman, H., Goodman, J., Macleod, A., Phani, S., Antonelli, C., and Croll, S. (2005). Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. Exp Neurol *192*, 348–356. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.11.016.

Schloesser, R.J., Lehmann, M., Martinowich, K., Manji, H.K., and Herkenham, M. (2010). Environmental enrichment requires adult neurogenesis to facilitate the recovery from psychosocial stress. Mol Psychiatry *15*, 1152–1163. https://doi.org/10.1038/mp.2010.34.

Schloesser, R.J., Orvoen, S., Jimenez, D.V., Hardy, N.F., Maynard, K.R., Sukumar, M., Manji, H.K., Gardier, A.M., David, D.J., and Martinowich, K. (2015). Antidepressant-like Effects of Electroconvulsive Seizures Require Adult Neurogenesis in a Neuroendocrine Model of Depression. Brain Stimul *8*, 862–867. https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.05.011.

Schultz, C., and Engelhardt, M. (2014). Anatomy of the hippocampal formation. Front Neurol Neurosci *34*, 6–17. https://doi.org/10.1159/000360925.

Schwarz, L.A., and Luo, L. (2015). Organization of the locus coeruleus-norepinephrine system. Curr Biol *25*, R1051–R1056. https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.09.039.

Sciolino, N.R., Dishman, R.K., and Holmes, P.V. (2012). Voluntary exercise offers anxiolytic potential and amplifies galanin gene expression in the locus coeruleus of the rat. Behav Brain Res *233*, 191–200. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.05.001.

Segovia, G., Yagüe, A.G., García-Verdugo, J.M., and Mora, F. (2006). Environmental enrichment promotes neurogenesis and changes the extracellular concentrations of glutamate and GABA in the hippocampus of aged rats. Brain Res Bull *70*, 8–14. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.11.005.

Segovia, G., Del Arco, A., De Blas, M., Garrido, P., and Mora, F. (2010). Environmental enrichment increases the in vivo extracellular concentration of dopamine in the nucleus accumbens: a microdialysis study. J Neural Transm (Vienna) *117*, 1123–1130. https://doi.org/10.1007/s00702-010-0447-y.

Seib, L.M., and Wellman, C.L. (2003). Daily injections alter spine density in rat medial prefrontal cortex. Neurosci Lett *337*, 29–32. https://doi.org/10.1016/s0304-3940(02)01287-9.

Seo, H., Park, C.-H., Choi, S., Kim, W., Jeon, B.-D., and Ryu, S. (2016). Effects of voluntary exercise on apoptosis and cortisol after chronic restraint stress in mice. J Exerc Nutrition Biochem *20*, 16–23. https://doi.org/10.20463/jenb.2016.09.20.3.3.

Seong, H.-H., Park, J.-M., and Kim, Y.-J. (2018). Antidepressive Effects of Environmental Enrichment in Chronic Stress-Induced Depression in Rats. Biol Res Nurs *20*, 40–48. https://doi.org/10.1177/1099800417730400.

Sheline, Y.I., Wang, P.W., Gado, M.H., Csernansky, J.G., and Vannier, M.W. (1996). Hippocampal

atrophy in recurrent major depression. Proc Natl Acad Sci U S A *93*, 3908–3913. https://doi.org/10.1073/pnas.93.9.3908.

Sheline, Y.I., Barch, D.M., Donnelly, J.M., Ollinger, J.M., Snyder, A.Z., and Mintun, M.A. (2001). Increased amygdala response to masked emotional faces in depressed subjects resolves with antidepressant treatment: an fMRI study. Biol Psychiatry *50*, 651–658. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(01)01263-x.

Shen, R.Y., and Andrade, R. (1998). 5-Hydroxytryptamine2 receptor facilitates GABAergic neurotransmission in rat hippocampus. J Pharmacol Exp Ther *285*, 805–812. .

Shen, J., Li, Y., Qu, C., Xu, L., Sun, H., and Zhang, J. (2019). The enriched environment ameliorates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors and cognitive impairment by activating the SIRT1/miR-134 signaling pathway in hippocampus. J Affect Disord *248*, 81–90. https://doi.org/10.1016/j.jad.2019.01.031.

Shepard, R., and Coutellier, L. (2018). Changes in the Prefrontal Glutamatergic and Parvalbumin Systems of Mice Exposed to Unpredictable Chronic Stress. Mol Neurobiol *55*, 2591–2602. https://doi.org/10.1007/s12035-017-0528-0.

Shepard, R., Page, C.E., and Coutellier, L. (2016). Sensitivity of the prefrontal GABAergic system to chronic stress in male and female mice: Relevance for sex differences in stress-related disorders. Neuroscience *332*, 1–12. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.06.038.

Shilpa, B.M., Bhagya, V., Harish, G., Srinivas Bharath, M.M., and Shankaranarayana Rao, B.S. (2017). Environmental enrichment ameliorates chronic immobilisation stress-induced spatial learning deficits and restores the expression of BDNF, VEGF, GFAP and glucocorticoid receptors. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *76*, 88–100. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.02.025.

Shirayama, Y., Chen, A.C.-H., Nakagawa, S., Russell, D.S., and Duman, R.S. (2002). Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression. J Neurosci *22*, 3251–3261. https://doi.org/20026292.

Shulman, K.I., Herrmann, N., and Walker, S.E. (2013). Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression. CNS Drugs *27*, 789–797. https://doi.org/10.1007/s40263-013-0097-3.

Sinanović, O., Muftić, M., and Sinanović, S. (2020). COVID-19 Pandemia: Neuropsychiatric Comorbidity and Consequences. Psychiatr Danub *32*, 236–244. https://doi.org/10.24869/psyd.2020.236.

Siopi, E., Denizet, M., Gabellec, M.-M., de Chaumont, F., Olivo-Marin, J.-C., Guilloux, J.-P., Lledo, P.-M., and Lazarini, F. (2016). Anxiety- and Depression-Like States Lead to Pronounced Olfactory Deficits and Impaired Adult Neurogenesis in Mice. J Neurosci *36*, 518–531. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2817-15.2016.

Sirko, S., von Holst, A., Wizenmann, A., Götz, M., and Faissner, A. (2007). Chondroitin sulfate glycosaminoglycans control proliferation, radial glia cell differentiation and neurogenesis in neural stem/progenitor cells. Development *134*, 2727–2738. https://doi.org/10.1242/dev.02871.

Siuciak, J.A., Lewis, D.R., Wiegand, S.J., and Lindsay, R.M. (1997). Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Pharmacol Biochem Behav *56*, 131–137. https://doi.org/10.1016/S0091-3057(96)00169-4.

Slaker, M., Churchill, L., Todd, R.P., Blacktop, J.M., Zuloaga, D.G., Raber, J., Darling, R.A., Brown, T.E., and Sorg, B.A. (2015). Removal of perineuronal nets in the medial prefrontal cortex impairs the acquisition and reconsolidation of a cocaine-induced conditioned place preference memory. J Neurosci *35*, 4190–4202. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3592-14.2015.

Smith, S.M., and Vale, W.W. (2006). The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. Dialogues Clin Neurosci *8*, 383–395. .

Smith, B.L., Lyons, C.E., Correa, F.G., Benoit, S.C., Myers, B., Solomon, M.B., and Herman, J.P. (2017). Behavioral and physiological consequences of enrichment loss in rats. Psychoneuroendocrinology *77*, 37–46. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.11.040.

Smith, C.C., Mauricio, R., Nobre, L., Marsh, B., Wüst, R.C.I., Rossiter, H.B., and Ichiyama, R.M. (2015). Differential regulation of perineuronal nets in the brain and spinal cord with exercise training. Brain Res Bull *111*, 20–26. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2014.12.005.

Snyder, J.S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., and Cameron, H.A. (2011). Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. Nature *476*, 458–461. https://doi.org/10.1038/nature10287.

Soffié, M., Hahn, K., Terao, E., and Eclancher, F. (1999). Behavioural and glial changes in old rats following environmental enrichment. Behav Brain Res *101*, 37–49. https://doi.org/10.1016/s0166-4328(98)00139-9.

Solberg, L.C., Horton, T.H., and Turek, F.W. (1999). Circadian rhythms and depression: effects of exercise in an animal model. Am J Physiol *276*, R152-161. https://doi.org/10.1152/ajpregu.1999.276.1.R152.

Song, J., Zhong, C., Bonaguidi, M.A., Sun, G.J., Hsu, D., Gu, Y., Meletis, K., Huang, Z.J., Ge, S., Enikolopov, G., et al. (2012). Neuronal circuitry mechanism regulating adult quiescent neural stem-cell fate decision. Nature *489*, 150–154. https://doi.org/10.1038/nature11306.

Sousa, N., Lukoyanov, N.V., Madeira, M.D., Almeida, O.F., and Paula-Barbosa, M.M. (2000). Reorganization of the morphology of hippocampal neurites and synapses after stress-induced damage correlates with behavioral improvement. Neuroscience *97*, 253–266. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(00)00050-6.

de Sousa Fernandes, M.S., Ordônio, T.F., Santos, G.C.J., Santos, L.E.R., Calazans, C.T., Gomes, D.A., and Santos, T.M. (2020). Effects of Physical Exercise on Neuroplasticity and Brain Function: A Systematic Review in Human and Animal Studies. Neural Plast *2020*, 8856621. https://doi.org/10.1155/2020/8856621.

Southwick, S.M., Vythilingam, M., and Charney, D.S. (2005). The psychobiology of depression and resilience to stress: implications for prevention and treatment. Annu Rev Clin Psychol *1*, 255–291. https://doi.org/10.1146/annurev.clinpsy.1.102803.143948.

Sowa, J., Kusek, M., Bobula, B., Hess, G., and Tokarski, K. (2019). Ketamine Administration Reverses Corticosterone-Induced Alterations in Excitatory and Inhibitory Transmission in the Rat Dorsal Raphe Nucleus. Neural Plast *2019*, 3219490. https://doi.org/10.1155/2019/3219490.

Spencer, R.L., and Deak, T. (2017). A users guide to HPA axis research. Physiol Behav *178*, 43–65. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.11.014.

Spitzer, R.L., Kroenke, K., and Williams, J.B. (1999). Validation and utility of a self-report version of PRIME-MD: the PHQ primary care study. Primary Care Evaluation of Mental Disorders. Patient Health Questionnaire. JAMA *282*, 1737–1744. https://doi.org/10.1001/jama.282.18.1737.

Sprouse, J., Braselton, J., and Reynolds, L. (2000). 5-HT(1A) agonist potential of pindolol: electrophysiologic studies in the dorsal raphe nucleus and hippocampus. Biol Psychiatry *47*, 1050–1055. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(99)00322-4.

Spruston, N. (2008). Pyramidal neurons: dendritic structure and synaptic integration. Nat Rev Neurosci *9*, 206–221. https://doi.org/10.1038/nrn2286.

Stamenkovic, V., Stamenkovic, S., Jaworski, T., Gawlak, M., Jovanovic, M., Jakovcevski, I., Wilczynski, G.M., Kaczmarek, L., Schachner, M., Radenovic, L., et al. (2017). The extracellular matrix glycoprotein tenascin-C and matrix metalloproteinases modify cerebellar structural plasticity by exposure to an enriched environment. Brain Struct Funct *222*, 393–415. https://doi.org/10.1007/s00429-016-1224-y.

Starke, K. (2001). Presynaptic autoreceptors in the third decade: focus on alpha2-adrenoceptors. J Neurochem *78*, 685–693. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00484.x.

Steiner, B., Kronenberg, G., Jessberger, S., Brandt, M.D., Reuter, K., and Kempermann, G. (2004). Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. Glia *46*, 41–52. https://doi.org/10.1002/glia.10337.

Steru, L., Chermat, R., Thierry, B., and Simon, P. (1985). The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology (Berl) *85*, 367–370. https://doi.org/10.1007/BF00428203.

Stetler, C., and Miller, G.E. (2011). Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. Psychosom Med *73*, 114–126. https://doi.org/10.1097/PSY.0b013e31820ad12b.

Stockmeier, C.A., Shapiro, L.A., Dilley, G.E., Kolli, T.N., 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*, 7394–7401. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.18-18-07394.1998.

Stockmeier, C.A., Mahajan, G.J., Konick, L.C., Overholser, J.C., Jurjus, G.J., Meltzer, H.Y., Uylings, H.B.M., Friedman, L., and Rajkowska, G. (2004). Cellular changes in the postmortem hippocampus in major depression. Biol Psychiatry *56*, 640–650. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2004.08.022.

Stranahan, A.M., Lee, K., Martin, B., Maudsley, S., Golden, E., Cutler, R.G., and Mattson, M.P. (2009). Voluntary exercise and caloric restriction enhance hippocampal dendritic spine density and BDNF levels in diabetic mice. Hippocampus *19*, 951–961. https://doi.org/10.1002/hipo.20577.

Sun, X.R., Zhang, H., Zhao, H.T., Ji, M.H., Li, H.H., Wu, J., Li, K.Y., and Yang, J.J. (2016). Amelioration of oxidative stress-induced phenotype loss of parvalbumin interneurons might contribute to the beneficial effects of environmental enrichment in a rat model of post-traumatic stress disorder. Behav Brain Res *312*, 84–92. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.016.

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. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.02.022.

Szabo, S.T., and Blier, P. (2001). Effects of the selective norepinephrine reuptake inhibitor reboxetine on norepinephrine and serotonin transmission in the rat hippocampus. Neuropsychopharmacology *25*, 845–857. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00284-6.

Tafet, G.E., and Nemeroff, C.B. (2016). The Links Between Stress and Depression: Psychoneuroendocrinological, Genetic, and Environmental Interactions. J Neuropsychiatry Clin Neurosci *28*, 77–88. https://doi.org/10.1176/appi.neuropsych.15030053.

Tamburella, A., Micale, V., Navarria, A., and Drago, F. (2009). Antidepressant properties of the 5-HT4 receptor partial agonist, SL65.0155: behavioral and neurochemical studies in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *33*, 1205–1210. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2009.07.001.

Tanti, A., and Belzung, C. (2013). Neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus: are depression and the action of antidepressants region-specific? Neuroscience *252*, 234–252. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2013.08.017.

Tanti, A., Rainer, Q., Minier, F., Surget, A., and Belzung, C. (2012). Differential environmental regulation of neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus. Neuropharmacology *63*, 374–384. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.04.022.

Tanti, A., Westphal, W.-P., Girault, V., Brizard, B., Devers, S., Leguisquet, A.-M., Surget, A., and Belzung, C. (2013). Region-dependent and stage-specific effects of stress, environmental enrichment, and antidepressant treatment on hippocampal neurogenesis. Hippocampus *23*, 797–811. https://doi.org/10.1002/hipo.22134.

Tanti, A., Belliveau, C., Nagy, C., Maitra, M., Denux, F., Perlman, K., Chen, F., Mpai, R., Canonne, C., Théberge, S., et al. (2021). Child abuse associates with increased recruitment of perineuronal nets in the ventromedial prefrontal cortex: a possible implication of oligodendrocyte progenitor cells. Mol Psychiatry https://doi.org/10.1038/s41380-021-01372-y.

Tatarczyńska, E., Kłodzińska, A., Stachowicz, K., and Chojnacka-Wójcik, E. (2004). Effect of combined administration of 5-HT1A or 5-HT1B/1D receptor antagonists and antidepressants in the forced swimming test. Eur J Pharmacol *487*, 133–142. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2004.01.008.

Teissier, A., Chemiakine, A., Inbar, B., Bagchi, S., Ray, R.S., Palmiter, R.D., Dymecki, S.M., Moore, H., and Ansorge, M.S. (2015). Activity of Raphé Serotonergic Neurons Controls Emotional Behaviors. Cell Rep *13*, 1965–1976. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.10.061.

Teste, J.F., Martin, I., and Rinjard, P. (1990). Electrotherapy in mice: dopaminergic and noradrenergic effects in the Tail Suspension Test. Fundam Clin Pharmacol *4*, 39–47. https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.1990.tb01015.x.

Thamizhoviya, G., and Vanisree, A.J. (2019). Enriched environment modulates behavior, myelination and augments molecules governing the plasticity in the forebrain region of rats exposed to chronic immobilization stress. Metab Brain Dis *34*, 875–887. https://doi.org/10.1007/s11011-018-0370-8.

Thapar, A., Collishaw, S., Pine, D.S., and Thapar, A.K. (2012). Depression in adolescence. Lancet *379*, 1056–1067. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60871-4.

Thomas, D.R., Nelson, D.R., and Johnson, A.M. (1987). Biochemical effects of the antidepressant paroxetine, a specific 5-hydroxytryptamine uptake inhibitor. Psychopharmacology (Berl) *93*, 193–200. https://doi.org/10.1007/BF00179933.

Thompson, A.E., and Kaplan, C.A. (1996). Childhood emotional abuse. Br J Psychiatry *168*, 143–148. https://doi.org/10.1192/bjp.168.2.143.

Thompson, S.M., Kallarackal, A.J., Kvarta, M.D., Van Dyke, A.M., LeGates, T.A., and Cai, X. (2015). An excitatory synapse hypothesis of depression. Trends in Neurosciences *38*, 279–294. https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.03.003.

Togsverd, M., Werge, T.M., Tankó, L.B., Bagger, Y.Z., Hansen, T., Qin, G., Christiansen, C., and Rasmussen, H.B. (2008). Association of a dopamine beta-hydroxylase gene variant with depression in elderly women possibly reflecting noradrenergic dysfunction. J Affect Disord *106*, 169–172. https://doi.org/10.1016/j.jad.2007.06.010.

Traynelis, S.F., Wollmuth, L.P., McBain, C.J., Menniti, F.S., Vance, K.M., Ogden, K.K., Hansen, K.B., Yuan, H., Myers, S.J., and Dingledine, R. (2010). Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function. Pharmacol Rev *62*, 405–496. https://doi.org/10.1124/pr.109.002451.

Tritschler, L., Gaillard, R., Gardier, A.M., David, D.J., and Guilloux, J.-P. (2018). [Consequences of the monoaminergic systems cross-talk in the antidepressant activity]. Encephale *44*, 264–273. https://doi.org/10.1016/j.encep.2018.05.001.

Uneyama, H., Munakata, M., and Akaike, N. (1992). 5-HT response of rat hippocampal pyramidal cell

bodies. Neuroreport *3*, 633–636. https://doi.org/10.1097/00001756-199207000-00023.

Urakawa, S., Takamoto, K., Hori, E., Sakai, N., Ono, T., and Nishijo, H. (2013). Rearing in enriched environment increases parvalbumin-positive small neurons in the amygdala and decreases anxiety-like behavior of male rats. BMC Neurosci *14*, 13. https://doi.org/10.1186/1471-2202-14-13.

Uranova, N.A., Vostrikov, V.M., Orlovskaya, D.D., and Rachmanova, V.I. (2004). Oligodendroglial density in the prefrontal cortex in schizophrenia and mood disorders: a study from the Stanley Neuropathology Consortium. Schizophr Res *67*, 269–275. https://doi.org/10.1016/S0920-9964(03)00181-6.

Urban, D.J., Zhu, H., Marcinkiewcz, C.A., Michaelides, M., Oshibuchi, H., Rhea, D., Aryal, D.K., Farrell, M.S., Lowery-Gionta, E., Olsen, R.H.J., et al. (2016). Elucidation of The Behavioral Program and Neuronal Network Encoded by Dorsal Raphe Serotonergic Neurons. Neuropsychopharmacology *41*, 1404–1415. https://doi.org/10.1038/npp.2015.293.

Vafadari, B., Mitra, S., Stefaniuk, M., and Kaczmarek, L. (2019). Psychosocial Stress Induces Schizophrenia-Like Behavior in Mice With Reduced MMP-9 Activity. Front Behav Neurosci *13*, 195. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00195.

Vahid-Ansari, F., Daigle, M., Manzini, M.C., Tanaka, K.F., Hen, R., Geddes, S.D., Béïque, J.-C., James, J., Merali, Z., and Albert, P.R. (2017). Abrogated Freud-1/Cc2d1a Repression of 5-HT1A Autoreceptors Induces Fluoxetine-Resistant Anxiety/Depression-Like Behavior. J Neurosci *37*, 11967–11978. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1668-17.2017.

Vaishnavi, S.N., Nemeroff, C.B., Plott, S.J., Rao, S.G., Kranzler, J., and Owens, M.J. (2004). Milnacipran: a comparative analysis of human monoamine uptake and transporter binding affinity. Biol Psychiatry *55*, 320–322. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2003.07.006.

Van Bokhoven, P., Oomen, C.A., Hoogendijk, W.J.G., Smit, A.B., Lucassen, P.J., and Spijker, S. (2011). Reduction in hippocampal neurogenesis after social defeat is long-lasting and responsive to late antidepressant treatment. Eur J Neurosci *33*, 1833–1840. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07668.x.

Van de Weerd, H.A., Aarsen, E.L., Mulder, A., Kruitwagen, C.L.J.J., Hendriksen, C.F.M., and Baumans, V. (2002). Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. J Appl Anim Welf Sci *5*, 87–109. https://doi.org/10.1207/S15327604JAWS0502_01.

Vazquez-Sanroman, D.B., Arlington Wilson, G., and Bardo, M.T. (2021). Effects of Social Isolation on Perineuronal Nets in the Amygdala Following a Reward Omission Task in Female Rats. Mol Neurobiol *58*, 348–361. https://doi.org/10.1007/s12035-020-02125-8.

Veena, J., Srikumar, B.N., Mahati, K., Bhagya, V., Raju, T.R., and Shankaranarayana Rao, B.S. (2009a). Enriched environment restores hippocampal cell proliferation and ameliorates cognitive deficits in chronically stressed rats. J Neurosci Res *87*, 831–843. https://doi.org/10.1002/jnr.21907.

Veena, J., Srikumar, B.N., Raju, T.R., and Shankaranarayana Rao, B.S. (2009b). Exposure to enriched environment restores the survival and differentiation of new born cells in the hippocampus and ameliorates depressive symptoms in chronically stressed rats. Neurosci Lett *455*, 178–182. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.03.059.

Vega-Rivera, N.M., Ortiz-López, L., Gómez-Sánchez, A., Oikawa-Sala, J., Estrada-Camarena, E.M., and Ramírez-Rodríguez, G.B. (2016). The neurogenic effects of an enriched environment and its protection against the behavioral consequences of chronic mild stress persistent after enrichment cessation in six-month-old female Balb/C mice. Behav Brain Res *301*, 72–83. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.12.028.

Végh, M.J., Heldring, C.M., Kamphuis, W., Hijazi, S., Timmerman, A.J., Li, K.W., van Nierop, P., Mansvelder, H.D., Hol, E.M., Smit, A.B., et al. (2014). Reducing hippocampal extracellular matrix reverses early memory deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. Acta Neuropathol Commun *2*, 76. https://doi.org/10.1186/s40478-014-0076-z.

Venzala, E., García-García, A.L., Elizalde, N., Delagrange, P., and Tordera, R.M. (2012). Chronic social defeat stress model: behavioral features, antidepressant action, and interaction with biological risk factors. Psychopharmacology (Berl) *224*, 313–325. https://doi.org/10.1007/s00213-012-2754-5.

Verret, L., Trouche, S., Zerwas, M., and Rampon, C. (2007). Hippocampal neurogenesis during normal and pathological aging. Psychoneuroendocrinology *32 Suppl 1*, S26-30. https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2007.04.014.

Verret, L., Krezymon, A., Halley, H., Trouche, S., Zerwas, M., Lazouret, M., Lassalle, J.-M., and Rampon, C. (2013). Transient enriched housing before amyloidosis onset sustains cognitive improvement in Tg2576 mice. Neurobiol Aging *34*, 211–225. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2012.05.013.

Vonck, K., Raedt, R., Naulaerts, J., De Vogelaere, F., Thiery, E., Van Roost, D., Aldenkamp, B., Miatton, M., and Boon, P. (2014). Vagus nerve stimulation…25 years later! What do we know about the effects on cognition? Neurosci Biobehav Rev *45*, 63–71. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.05.005.

Wang, J., Chen, X., Zhang, N., and Ma, Q. (2013). Effects of exercise on stress-induced changes of norepinephrine and serotonin in rat hippocampus. Chin J Physiol *56*, 245–252. https://doi.org/10.4077/CJP.2013.BAB097.

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. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3632-07.2008.

Weisstaub, N.V., Zhou, M., Lira, A., Lambe, E., González-Maeso, J., Hornung, J.-P., Sibille, E., Underwood, M., Itohara, S., Dauer, W.T., et al. (2006). Cortical 5-HT2A receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice. Science *313*, 536–540. https://doi.org/10.1126/science.1123432.

Wellman, C.L. (2001). Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. J Neurobiol *49*, 245–253. https://doi.org/10.1002/neu.1079.

Whittle, S., Lichter, R., Dennison, M., Vijayakumar, N., Schwartz, O., Byrne, M.L., Simmons, J.G., Yücel, M., Pantelis, C., McGorry, P., et al. (2014). Structural brain development and depression onset during adolescence: a prospective longitudinal study. Am J Psychiatry *171*, 564–571. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2013.13070920.

Whooley, M.A., de Jonge, P., Vittinghoff, E., Otte, C., Moos, R., Carney, R.M., Ali, S., Dowray, S., Na, B., Feldman, M.D., et al. (2008). Depressive symptoms, health behaviors, and risk of cardiovascular events in patients with coronary heart disease. JAMA *300*, 2379–2388. https://doi.org/10.1001/jama.2008.711.

Wiles, N., Thomas, L., Abel, A., Ridgway, N., Turner, N., Campbell, J., Garland, A., Hollinghurst, S., Jerrom, B., Kessler, D., et al. (2013). Cognitive behavioural therapy as an adjunct to pharmacotherapy for primary care based patients with treatment resistant depression: results of the CoBalT randomised controlled trial. Lancet *381*, 375–384. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61552-9.

Williams, N., Simpson, A.N., Simpson, K., and Nahas, Z. (2009). Relapse rates with long-term antidepressant drug therapy: a meta-analysis. Hum Psychopharmacol *24*, 401–408. https://doi.org/10.1002/hup.1033.

Wlodarczyk, J., Mukhina, I., Kaczmarek, L., and Dityatev, A. (2011). Extracellular matrix molecules, their receptors, and secreted proteases in synaptic plasticity. Dev Neurobiol *71*, 1040–1053. https://doi.org/10.1002/dneu.20958.

Wolffenbüttel, A.N., Zamboni, A., Becker, G., Dos Santos, M.K., Borille, B.T., de Cássia Mariotti, K., Fagundes, A.C., de Oliveira Salomón, J.L., Coelho, V.R., Ruiz, L.V., et al. (2018). Citrus essential oils inhalation by mice: Behavioral testing, GCMS plasma analysis, corticosterone, and melatonin levels evaluation. Phytother Res *32*, 160–169. https://doi.org/10.1002/ptr.5964.

Wong, E.Y.H., and Herbert, J. (2006). Raised circulating corticosterone inhibits neuronal differentiation of progenitor cells in the adult hippocampus. Neuroscience *137*, 83–92. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.08.073.

Wong, D.T., Bymaster, F.P., and Engleman, E.A. (1995). Prozac (fluoxetine, Lilly 110140), the first selective serotonin uptake inhibitor and an antidepressant drug: twenty years since its first publication. Life Sci *57*, 411–441. https://doi.org/10.1016/0024-3205(95)00209-o.

Wong, E.H., Sonders, M.S., Amara, S.G., Tinholt, P.M., Piercey, M.F., Hoffmann, W.P., Hyslop, D.K., Franklin, S., Porsolt, R.D., Bonsignori, A., et al. (2000a). Reboxetine: a pharmacologically potent, selective, and specific norepinephrine reuptake inhibitor. Biol Psychiatry *47*, 818–829. https://doi.org/10.1016/s0006-3223(99)00291-7.

Wong, Y.N., Cassano, W.J., and D'mello, A.P. (2000b). Acute-stress-induced facilitation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. Neuroendocrinology *71*, 354–365. https://doi.org/10.1159/000054556.

Wright, R.L., and Conrad, C.D. (2008). Enriched environment prevents chronic stress-induced spatial learning and memory deficits. Behav Brain Res *187*, 41–47. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.08.025.

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*, 140–143. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.04.021.

Yaman, B., and Bal, R. (2022). Pindolol potentiates the antidepressant effect of venlafaxine by inhibiting 5-HT1A receptor in DRN neurons of mice. Int J Neurosci *132*, 23–30. https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1797723.

Yang, J., Hou, C., Ma, N., Liu, J., Zhang, Y., Zhou, J., Xu, L., and Li, L. (2007). Enriched environment treatment restores impaired hippocampal synaptic plasticity and cognitive deficits induced by prenatal chronic stress. Neurobiol Learn Mem *87*, 257–263. https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.09.001.

Yang, S., Cacquevel, M., Saksida, L.M., Bussey, T.J., Schneider, B.L., Aebischer, P., Melani, R., Pizzorusso, T., Fawcett, J.W., and Spillantini, M.G. (2015). Perineuronal net digestion with chondroitinase

restores memory in mice with tau pathology. Exp Neurol *265*, 48–58. https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2014.11.013.

Yanpallewar, S.U., Fernandes, K., Marathe, S.V., Vadodaria, K.C., Jhaveri, D., Rommelfanger, K., Ladiwala, U., Jha, S., Muthig, V., Hein, L., et al. (2010). Alpha2-adrenoceptor blockade accelerates the neurogenic, neurotrophic, and behavioral effects of chronic antidepressant treatment. J Neurosci *30*, 1096–1109. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2309-09.2010.

Yau, S.-Y., Lau, B.W.-M., Zhang, E.-D., Lee, J.C.-D., Li, A., Lee, T.M.C., Ching, Y.-P., Xu, A.-M., and So, K.-F. (2012). Effects of voluntary running on plasma levels of neurotrophins, hippocampal cell proliferation and learning and memory in stressed rats. Neuroscience *222*, 289–301. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.07.019.

Yi, L.-T., Li, C.-F., Zhan, X., Cui, C.-C., Xiao, F., Zhou, L.-P., and Xie, Y. (2010). Involvement of monoaminergic system in the antidepressant-like effect of the flavonoid naringenin in mice. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *34*, 1223–1228. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.06.024.

Yi, L.-T., Li, J., Li, H.-C., Su, D.-X., Quan, X.-B., He, X.-C., and Wang, X.-H. (2012). Antidepressant-like behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects of naringenin in the mouse repeated tail suspension test. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *39*, 175–181. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2012.06.009.

Yi, L.-T., Liu, B.-B., Li, J., Luo, L., Liu, Q., Geng, D., Tang, Y., Xia, Y., and Wu, D. (2014). BDNF signaling is necessary for the antidepressant-like effect of naringenin. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry *48*, 135–141. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2013.10.002.

Yildirim, E., Erol, K., and Ulupinar, E. (2012). Effects of sertraline on behavioral alterations caused by environmental enrichment and social isolation. Pharmacol Biochem Behav *101*, 278–287. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2011.12.017.

Yohn, C.N., Dieterich, A., Maita, I., Bazer, A.S., Diethorn, E., Ma, D., Gergues, M.M., Hu, P., and Samuels, B.A. (2020). Behavioral response to fluoxetine in both female and male mice is modulated by dentate gyrus granule cell activity. Neurobiol Stress *13*, 100257. https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100257.

Yoon, S.H., Chung, G., Song, W.S., Oh, S.P., Kim, S.J., and Kim, M.-H. (2020). Shifting hippocampal excitation/inhibition balance modifies despair-like behavior in mice. BioRxiv 2020.02.18.953786. https://doi.org/10.1101/2020.02.18.953786.

Young, D., Lawlor, P.A., Leone, P., Dragunow, M., and During, M.J. (1999). Environmental enrichment inhibits spontaneous apoptosis, prevents seizures and is neuroprotective. Nat Med *5*, 448–453. https://doi.org/10.1038/7449.

Yüksel, D., Engelen, J., Schuster, V., Dietsche, B., Konrad, C., Jansen, A., Dannlowski, U., Kircher, T., and Krug, A. (2018). Longitudinal brain volume changes in major depressive disorder. J Neural Transm (Vienna) *125*, 1433–1447. https://doi.org/10.1007/s00702-018-1919-8.

Zanca, R.M., Braren, S.H., Maloney, B., Schrott, L.M., Luine, V.N., and Serrano, P.A. (2015). Environmental Enrichment Increases Glucocorticoid Receptors and Decreases GluA2 and Protein Kinase M Zeta (PKMζ) Trafficking During Chronic Stress: A Protective Mechanism? Front Behav Neurosci *9*, 303. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2015.00303.

Zanos, P., and Gould, T.D. (2018). Mechanisms of ketamine action as an antidepressant. Mol Psychiatry *23*, 801–811. https://doi.org/10.1038/mp.2017.255.

Zanos, P., Moaddel, R., Morris, P.J., Georgiou, P., Fischell, J., Elmer, G.I., Alkondon, M., Yuan, P., Pribut, H.J., Singh, N.S., et al. (2016). NMDAR inhibition-independent antidepressant actions of ketamine metabolites. Nature *533*, 481–486. https://doi.org/10.1038/nature17998.

Zemla, R., and Basu, J. (2017). Hippocampal function in rodents. Curr Opin Neurobiol *43*, 187–197. https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.04.005.

Zhang, J., Fan, Y., Li, Y., Zhu, H., Wang, L., and Zhu, M.-Y. (2012). Chronic social defeat up-regulates expression of the serotonin transporter in rat dorsal raphe nucleus and projection regions in a glucocorticoid-dependent manner. J Neurochem *123*, 1054–1068. https://doi.org/10.1111/jnc.12055.

Zhang, J., He, Z.-X., Wang, L.-M., Yuan, W., Li, L.-F., Hou, W.-J., Yang, Y., Guo, Q.-Q., Zhang, X.-N., Cai, W.-Q., et al. (2019a). Voluntary Wheel Running Reverses Deficits in Social Behavior Induced by Chronic Social Defeat Stress in Mice: Involvement of the Dopamine System. Front Neurosci *13*, 256. https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00256.

Zhang, L.-L., Yang, Z.-Y., Fan, G., Ren, J.-N., Yin, K.-J., and Pan, S.-Y. (2019b). Antidepressant-like Effect of Citrus sinensis (L.) Osbeck Essential Oil and Its Main Component Limonene on Mice. J Agric Food Chem *67*, 13817–13828. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00650.

Zhang, T.R., Guilherme, E., Kesici, A., Ash, A.M., Vila-Rodriguez, F., and Snyder, J.S. (2021). Electroconvulsive Shock, but Not Transcranial Magnetic Stimulation, Transiently Elevates Cell Proliferation in

the Adult Mouse Hippocampus. Cells *10*, 2090. https://doi.org/10.3390/cells10082090.

Zhang, X., Li, X., Li, M., Ren, J., Yun, K., An, Y., Lin, L., and Zhang, H. (2015a). Venlafaxine increases cell proliferation and regulates DISC1, PDE4B and NMDA receptor 2B expression in the hippocampus in chronic mild stress mice. Eur J Pharmacol *755*, 58–65. https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.02.044.

Zhang, Y., Chang, Z., Chen, J., Ling, Y., Liu, X., Feng, Z., Chen, C., Xia, M., Zhao, X., Ying, W., et al. (2015b). Methylation of the tryptophan hydroxylase-2 gene is associated with mRNA expression in patients with major depression with suicide attempts. Mol Med Rep *12*, 3184–3190. https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3748.

Zheng, H., Liu, Y., Li, W., Yang, B., Chen, D., Wang, X., Jiang, Z., Wang, H., Wang, Z., Cornelisson, G., et al. (2006). Beneficial effects of exercise and its molecular mechanisms on depression in rats. Behav Brain Res *168*, 47–55. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.10.007.

Zheng, J.-J., Zou, R., Huang, S., Song, T.-J., and Yu, X. (2020). Enriched Environment Rearing from Birth Reduced Anxiety, Improved Learning and Memory, and Promoted Social Interactions in Adult Male Mice. Neuroscience *442*, 138–150. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.07.004.

Zhou, W., Yoshioka, M., and Yokogoshi, H. (2009). Sub-chronic effects of s-limonene on brain neurotransmitter levels and behavior of rats. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo) *55*, 367–373. https://doi.org/10.3177/jnsv.55.367.

Zhou, Z., Zhang, G., Li, X., Liu, X., Wang, N., Qiu, L., Liu, W., Zuo, Z., and Yang, J. (2015). Loss of phenotype of parvalbumin interneurons in rat prefrontal cortex is involved in antidepressant- and propsychotic-like behaviors following acute and repeated ketamine administration. Mol Neurobiol *51*, 808–819. https://doi.org/10.1007/s12035-014-8798-2.

Zhuang, P.-C., Tan, Z.-N., Jia, Z.-Y., Wang, B., Grady, J.J., and Ma, X.-M. (2019). Treadmill Exercise Reverses Depression Model-Induced Alteration of Dendritic Spines in the Brain Areas of Mood Circuit. Front Behav Neurosci *13*, 93. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00093.

Zięba, A., Stępnicki, P., Matosiuk, D., and Kaczor, A.A. (2021). Overcoming Depression with 5-HT2A Receptor Ligands. Int J Mol Sci *23*, 10. https://doi.org/10.3390/ijms23010010.

Zolfaghari, F.S., Pirri, F., Gauvin, E., Peeri, M., and Amiri, S. (2021). Exercise and fluoxetine treatment during adolescence protect against early life stress-induced behavioral abnormalities in adult rats. Pharmacol Biochem Behav *205*, 173190. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173190.