



UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS DE TOURS

ÉCOLE DOCTORALE «Santé, Sciences Biologiques et Chimie du Vivant»

UNITÉ Inserm 930 - Imagerie et Cerveau

EQUIPE 4 : Troubles Affectifs

THÈSE présentée par :

Arnaud TANTI

soutenue le : 14 décembre 2012

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François – Rabelais de Tours**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie et de la Santé - Neurosciences

**Régulation différentielle de la neurogenèse le long de
l'axe septo-temporal de l'hippocampe : implications
pour la contribution fonctionnelle des nouveaux
neurones dans la pathophysiologie de la dépression**

THÈSE dirigée par :

Mme BELZUNG Catherine

Professeur des Universités, université François – Rabelais de Tours

RAPPORTEURS :

Mme RAMPON Claire

Chargée de Recherche (HDR), CNRS (Toulouse)

Mr GIROS Bruno

Directeur de Recherche, INSERM (Paris)

JURY :

Mme BELZUNG Catherine

Professeur des Universités, université François – Rabelais de Tours

Mme RAMPON Claire

Chargée de Recherche (HDR), CNRS (Toulouse)

Mr GIROS Bruno

Directeur de Recherche, INSERM (Paris)

Mr MAROTEAUX Luc

Directeur de Recherche, INSERM (Paris)

Mr DAVID Denis

Maître de Conférences, Université Paris Sud XI (Paris)

Remerciements

Me voilà bien embêté, pris par le temps et piégé dans l'étau infernal des remerciements. Je ne voudrais cependant pas passer pour un ingrat.

Je tiens donc avant tout à remercier le professeur Catherine Belzung, sans qui je serais peut-être en train de siroter des cocktails à Tahiti, les pieds dans l'eau et bercé par le doux murmure du ressac. Merci de m'avoir offert la chance de continuer dans cette voie, de m'avoir soutenu sans aucune réserve, toujours à l'écoute, toujours disponible, sur le plan scientifique comme personnel. Depuis toutes ces années ton énergie et ton dévouement professionnel n'ont jamais failli et je me considère comme chanceux d'avoir pu travailler et apprendre sous ta direction. Malgré mes diverses tentatives pour t'exaspérer tu ne m'as jamais giflé, et pour cela je te suis grandement redevable. Trouve ici le témoignage de ma profonde reconnaissance et de ma sincère amitié.

Merci au Docteur Claire Rampon et au Docteur Bruno Giros d'avoir accepté d'être rapporteurs de cette thèse ainsi qu'au Docteur Denis David et au Docteur Luc Maroteaux de les avoir rejoints dans l'évaluation de ce travail. Merci de m'avoir fait l'honneur d'accorder du temps à la lecture de ce manuscrit et d'enrichir la discussion de mon travail par votre expertise scientifique.

Pour leur contribution essentielle aux travaux réalisés pendant ma thèse :

Merci au Docteur Alexandre Surget pour ses conseils et les discussions partagées. La qualité de ton questionnement scientifique restera une source d'inspiration.

Je tiens à remercier le Docteur René Hen et le Docteur Melody Wu pour leur contribution significative à ce projet.

Merci à tous les membres du laboratoire qui ont contribué à l'élaboration de ce travail et à ma formation: Anne-Marie Le Guisquet, le Docteur Elsa Isingrini, Bruno Brizard, Maryse Pingaud, Séverine Devers, le Docteur Anthony Laugeray, le Docteur Samuel Leman, le Docteur Frederic Minier, le Docteur Mathieu Nollet, Virginie Girault, Willy Paul-Westphal, Marc Legrand, Teddy Delavallée, Christophe Liet, Dominique Le Glaunec, Frédérique Godard.

Merci au Docteur Quentin Rainer, gardien du PMID, maître des mots-clés, les pdfs ne seront pas oubliés.

Pour leur contribution essentielle à mon équilibre mental :

Tous les membres du laboratoire avec qui j'ai pu tisser des liens pendant toutes ces années : Paquito, Bruno, Frédéric, Samuel, Khalid, Mathieu, Anthony, Pascal, Christophe, Charline.

Merci à mes amis ainsi qu'aux membres de ma famille pour leur soutien.

Et finalement merci à Elsa, pour exister tout simplement.

Résumé

La dépression majeure est une des principales causes d'invalidité et l'un des plus sérieux problèmes de santé dans le monde. Pour autant les mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent cette maladie psychiatrique restent encore méconnus et les traitements antidépresseurs actuels insuffisants. Elle est caractérisée par un ensemble de perturbations moléculaires, cellulaires et systémiques conduisant à une atteinte des processus de neuroplasticité dans divers régions du cerveau, en particulier une diminution de la production et de l'intégration fonctionnelle de nouveaux neurones dans l'hippocampe. L'observation que la neurogenèse hippocampique est stimulée par les antidépresseurs et semble même contribuer à leurs effets thérapeutiques nous a conduit à étudier plus précisément la nature de cette contribution. Bien que la fonction de la neurogenèse hippocampique ne soit pas clairement élucidée, les nouveaux neurones établissent des connexions fonctionnelles et disposent de propriétés électrophysiologiques uniques permettant d'influencer l'activité de l'hippocampe et participent sans doute à diverses fonctions hippocampiques. Les antidépresseurs en stimulant la neurogenèse pourraient donc renforcer certaines fonctions de l'hippocampe altérées dans la dépression et ainsi faciliter la rémission. Une des altérations les plus récurrentes dans la dépression est l'hyperactivité de l'axe neuroendocrinien du stress (HPA). La normalisation de l'activité de l'axe HPA, en particulier le rétablissement d'un rétrocontrôle inhibiteur fonctionnel semble notamment important pour une rémission durable. L'hippocampe est une des structures qui participe à cette régulation et exerce une influence inhibitrice sur l'activité de l'axe corticotrope. Cette fonction hippocampique est de plus altérée dans les modèles animaux de dépression. Il est donc possible que les nouveaux neurones contribuent à l'action inhibitrice de l'hippocampe sur le système HPA, et qu'en stimulant la neurogenèse, les antidépresseurs permettent ainsi la normalisation de cette fonction.

Nous avons donc testé cette hypothèse sur des souris chez lesquelles la neurogenèse a été abolie par irradiation et qui ont été soumises à un modèle murin de dépression, le Stress Chronique Imprédictible (SCIM), en concomitance avec un traitement antidépresseur chronique. L'efficacité du rétrocontrôle inhibiteur de l'hippocampe sur l'axe HPA a été étudiée à travers 1) la suppression des niveaux de corticostérone induite par l'injection systémique ou intra-hippocampique de dexaméthasone (DEX) et 2) les changements d'expression du marqueur d'activation neuronale FOS dans différentes structures servant de relais pour l'influence inhibitrice de l'hippocampe sur l'axe HPA. Nos résultats indiquent que la suppression de la neurogenèse en soi ne perturbe pas l'activité de l'axe HPA ni le rétrocontrôle inhibiteur exercé par l'hippocampe, mais qu'elle empêche cependant la capacité de la fluoxétine, un inhibiteur sélectif de la recapture de sérotonine, à contrecarrer les

effets du stress sur ces fonctions. Parallèlement, bien que cela ne se traduise pas par un effet direct sur l'activité de l'axe HPA, les nouveaux neurones semblent contribuer à la modulation de l'activité neuronale induite par l'initiation du rétrocontrôle hippocampique dans l'amBST, une structure cérébrale servant de relais pour l'influence inhibitrice de l'hippocampe sur la réponse au stress. Ces résultats mettent en avant que les nouveaux neurones peuvent contribuer à l'action thérapeutique des antidépresseurs en participant au renforcement du rétrocontrôle hippocampique sur l'axe HPA, potentiellement via leur rôle dans la modulation par l'hippocampe des circuits impliqués dans la régulation du stress.

Parallèlement, si les antidépresseurs agissent en partie à travers leurs effets pro-neurogéniques pour stimuler ou normaliser certaines fonctions de l'hippocampe, notamment la régulation de la réponse au stress, il est possible que les antidépresseurs ne stimulent pas uniformément la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. En effet alors que les divisions septales de l'hippocampe semblent plutôt contribuer à ses fonctions cognitives, telles que l'apprentissage et la mémoire, les divisions temporales de l'hippocampe semblent plutôt impliquées dans la régulation des états émotionnels et la réponse au stress. Les nouveaux neurones dans ces deux régions ne contribuent donc peut-être pas de la même façon aux effets des antidépresseurs. Pour approcher cette question de façon indirecte nous avons cherché à étudier la régulation de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe par le modèle du SCIM, et deux facteurs connus pour avoir des effets antidépresseurs, l'environnement enrichi et la fluoxétine. Nos résultats indiquent que ces deux facteurs régulent la neurogenèse différemment le long de l'axe septo-temporal. Cela suggère des mécanismes de régulation différents entre les régions septales et temporales et met en évidence que la contribution des nouveaux neurones dans les effets des antidépresseurs pourrait être multiple et sous tendue par des composantes fonctionnelles différentes.

Mots clés : dépression, neurogenèse hippocampique, stress chronique, hippocampe dorsal, hippocampe ventral, axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, c-fos, noyau du lit de la strie terminale, dexaméthasone

TABLE DES MATIERES

Remerciements	3
Résumé.....	5
Liste des abréviations	9
Liste des tableaux	10
Liste des figures	11
Liste des publications	12
INTRODUCTION	13
1. La dépression majeure	14
1.1. Symptomatologie	14
1.2. Epidémiologie	15
1.3. Etiologie	15
1.4. Traitements de la dépression	20
1.5. Modélisation de la dépression chez l'animal	24
2. Bases neurobiologiques de la dépression	36
2.1. Altérations morphologiques et fonctionnelles.....	36
2.2. Altérations de la neurotransmission	39
2.3. Dysfonctionnements de la réponse au stress	46
2.4. Altérations de la plasticité neuronale	53
3. Neurogenèse hippocampique et dépression majeure	57
3.1. Organisation anatomique de l'hippocampe.....	59
3.2. Neurogenèse hippocampique	63
3.3. Implication fonctionnelle de la neurogenèse hippocampique dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression	78
4. Hétérogénéité fonctionnelle le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe	89
4.1. Fonctions de l'hippocampe	89
4.2. Connectivité le long de l'axe septo-temporal	91
4.3. Dissociation fonctionnelle le long de l'axe septo-temporal.....	96
4.4. Neurogenèse et axe septo-temporal hippocampique	104
5. Objectifs.....	122
RESULTATS.....	125
1. Contribution fonctionnelle des nouveaux neurones la régulation de l'axe HPA	126
Article 1 - Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation	127

Article 2 - Loss of neurogenesis impairs the ability of the hippocampus to modulate downstream brain areas involved in the termination of the stress response	157
2. Régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal l'hippocampe .	185
Article 3 - Differential environmental regulation of neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus	186
Article 4 - Region and stage-specific effects of stress, enrichment and antidepressant treatment on neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus.....	201
DISCUSSION	239
1. Contribution des nouveaux neurones dans la régulation de l'axe HPA	241
2. Régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal : implications pour la fonction des nouveaux neurones ?	246
3. Conclusion et perspectives.....	251
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	253
ANNEXES.....	301
Annexe 1 - Open questions in current models of antidepressant actions	302
Annexe 2 - Neurogenic Basis of Antidepressant Action: Recent Advances	319

Liste des abréviations

5-HT = sérotonine
ACTH = Adrenocorticotropin hormone
amBST = Bed nucleus of stria terminalis, anteromedial division
APA = Association américaine de psychiatrie
BDNF = Brain-derived neurotrophic factor
BNST = Bed nucleus of stria terminalis
BrdU = 5-Bromodeoxyuridine
CA = Champ ammonique de la corne d'Ammon
CRF/CRH = Corticotropin-released factor
DEX = dexaméthasone
DSM-IV = Diagnosis and Statistical Manual of Mental Disorders IV
FST = Forced swimming test
GABA = Gamma-aminobutyric acid
GR = Glucocorticoid receptor
HPA = Hypothalamo-pituitary-adrenal
HPA = hypothalamo-hypophyso-surrénalien
HPCd = hippocampe dorsal
HPCv = hippocampe ventral
IEG = Immediate early gene
IMAO = Inhibiteur de la monoamine oxydase
ISRN = inhibiteur sélectif de la recapture de noradrénaline
ISRS = inhibiteur sélectif de la sérotonine
KO = Knockout
LTD = Long term depression
LTP = Long term potentiation
MAM= Méthylazoxyméthanol
MR = Mineralocorticoid receptor
NA = Noradrénaline
NSF = Novelty-suppression feeding
OMS = Organisation mondiale de la santé
PVN = Paraventricular nucleus
SCIM = Stress Chronique Imprédictible
SGZ = Subgranular zone
TST = Tail suspension test

Liste des tableaux

Tableau 1. Symptômes de la dépression et exemples de modélisations chez l'animal.	25
Tableau 2. Exemples d'approches utilisées pour modéliser les troubles psychiatriques.....	26
Tableau 3. Afférences vers le gyrus denté.....	62
Tableau 4. Effets de la suppression de la neurogenèse sur le phénotype dépressif/anxieux.....	81
Tableau 5. Effets de la suppression de la neurogenèse sur l'efficacité thérapeutique des antidépresseurs.....	85
Tableau 6. Régulation différentielle des différentes étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe par les modèles animaux de dépression et les facteurs environnementaux.....	110
Tableau 7. Régulation différentielle des différentes étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe par les antidépresseurs..	117

Liste des figures

Figure 1. Conception étiologique de la dépression.....	16
Figure 2. Exemple théorique représentant différents endophénotypes et leurs implications dans l'expression phénotypique de la dépression.....	20
Figure3. Exemples de cibles des antidépresseurs sur les neurones noradrénergiques et sérotoninergiques.	22
Figure 4. Comportement d'immobilité dans le TST.	28
Figure 5. Schéma représentatif des modifications d'activité de différentes régions cérébrales observées dans la dépression..	39
Figure 6. Altérations des systèmes sérotoninergique et noradrénergique dans la dépression..	43
Figure 7. Schéma représentatif de différentes régions impliquées dans la dépression et de leurs connexions monoaminergiques.	44
Figure 8. Systèmes effecteurs de la réponse au stress : axe HPA et système nerveux sympathique ..	47
Figure 9. Schéma représentatif des altérations du système HPA associées à la dépression.....	50
Figure 10. Neurogenèse dans le cerveau adulte.....	58
Figure 11. Organisation anatomique de l'hippocampe.	59
Figure 12. Circuit intra-hippocampique	61
Figure 13. Niche neurogénique de la zone subgranulaire du gyrus denté	63
Figure 14. Schéma représentatif des différentes étapes conduisant à la production de nouveaux neurones.....	65
Figure 15. Maturation et intégration fonctionnelle des nouveaux neurones hippocampiques.....	67
Figure 16. Connectivité de l'hippocampe dorsal et du complexe subiculaire dorsal	93
Figure 17. Connectivité de l'hippocampe ventral et du complexe subiculaire ventral..	94
Figure 18. Influence inhibitrice indirecte du subiculum ventral sur le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus.....	95
Figure 19. Hétérogénéité moléculaire le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe	96
Figure 20. Lésions partielles de l'hippocampe et comportement anxieux dans la croix surélevée.	99
Figure 21. Implication différentielle des récepteurs aux glucocorticoïdes GR et MR dans les effets négatifs du stress sur la mémoire le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe en fonction du temps et des niveaux de corticostérone.	101
Figure 22. Séparation des composantes dorsale et ventrale de l'hippocampe sur des sections coronales.....	105
Figure 23. Exemple de coordonnées stéréotaxiques utilisées pour définir la division ventrale de l'hippocampe.....	105

Liste des publications

(Inclues dans ce manuscrit)

Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E.D., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., Palme, R., Griebel, G., Ibarguen-Vargas, Y., Hen, R., et al. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Mol. Psychiatry* 16, 1177–1188.

Tanti, A., and Belzung, C. (2010a). Neurogenic Basis of Antidepressant Action: Recent Advances. In *Modern Trends in Pharmacopsychiatry*, J.F. Cryan, and B.E. Leonard, eds. (Basel: KARGER), pp. 224–242.

Tanti, A., and Belzung, C. (2010b). Open questions in current models of antidepressant action. *Br. J. Pharmacol.* 159, 1187–1200.

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.

Tanti A, Westphal WP, Girault V, Brizard B, Leguisquet AM, Surget A, Belzung C. Region-dependent and stage-specific effects of stress, environmental enrichment and antidepressant treatment on hippocampal neurogenesis. *Soumis (Hippocampus)*.

Tanti A, Laugeray A, Wu M, Nollet M, Brizard B, Devers S, Leguisquet AM, Hen R, Belzung C. Loss of neurogenesis impairs the ability of the hippocampus to modulate downstream brain areas involved in the termination of the stress response. *en préparation*

(Autres)

Farooq, R.K., Isingrini, E., Tanti, A., Le Guisquet, A.-M., Arlicot, N., Minier, F., Leman, S., Chalon, S., Belzung, C., and Camus, V. (2012). Is unpredictable chronic mild stress (UCMS) a reliable model to study depression-induced neuroinflammation? *Behav. Brain Res.* 231, 130–137.

Nollet, M., Gaillard, P., Tanti, A., Girault, V., Belzung, C., and Leman, S. (2012). Neurogenesis-independent antidepressant-like effects on behavior and stress axis response of a dual orexin receptor antagonist in a rodent model of depression. *Neuropsychopharmacology* 37, 2210–2221.

INTRODUCTION

1. La dépression majeure

1.1. Symptomatologie

La dépression est un trouble de l'humeur qui se manifeste à la fois par des changements émotionnels, motivationnels, cognitifs et somatiques. A ce jour, deux classifications sont couramment utilisées pour son diagnostic: la Classification Internationale des Maladies (CIM) établie par l'Organisation Mondiale de la Santé et le *Diagnosis and Statistical Manual of Mental Disorders IV* (DSM-IV), établi par l'Association Américaine de Psychiatrie (APA). L'encadré 1 présente les critères actuellement en vigueur dans le diagnostic de l'épisode dépressif majeur. Il est basé sur une observation symptomatologique sans aucune référence à l'étiologie ou à des marqueurs biologiques de la pathologie.

- A.** Au moins cinq des symptômes suivants doivent avoir été présents pendant une même période d'une durée de deux semaines et avoir représenté un changement par rapport au fonctionnement antérieur ; au moins un des symptômes est soit (1) une humeur dépressive, soit (2) une perte d'intérêt ou de plaisir.
 - (1)** Humeur dépressive présente pratiquement toute la journée
 - (2)** Diminution marquée de l'intérêt ou du plaisir pour toutes ou presque toutes les activités
 - (3)** Perte ou gain de poids significatif en l'absence de régime, ou diminution de l'appétit
 - (4)** Insomnie ou hypersomnie
 - (5)** Agitation ou ralentissement psychomoteur
 - (6)** Fatigue ou perte d'énergie
 - (7)** Sentiment de dévalorisation ou de culpabilité excessive ou inapproprié (qui peut être délirante)
 - (8)** Diminution de l'aptitude à penser ou à se concentrer ou indécision
 - (9)** Pensées de mort récurrentes, idées suicidaires récurrentes
- B.** Les symptômes ne répondent pas aux critères d'épisode mixte
- C.** Les symptômes induisent une souffrance cliniquement significative ou une altération du fonctionnement social, professionnel ou dans d'autres domaines importants
- D.** Les symptômes ne sont pas imputables aux effets physiologiques directs d'une substance ou d'une affection médicale générale
- E.** Les symptômes ne sont pas au mieux expliqués par un deuil

Encadré 1. Critères diagnostiques de l'épisode dépressif majeur issus du DSM-IV-TR (APA, 2003)

1.2. Epidémiologie

La dépression est actuellement considérée comme la deuxième cause d'invalidité dans le monde pour les 15-44 ans (Global Burden of Disease Study, OMS 2008). Selon l'OMS, la dépression majeure touche près de 121 millions de personnes dans le monde dont seulement 25% auraient accès à un traitement efficace. A ces chiffres viennent s'ajouter les cas non détectés qui peuvent atteindre 50% selon les études (Simon et VonKorff, 1995; Tiemens et al., 1996). En France, l'enquête Anadep (Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé, 2009) rapporte que la prévalence de l'épisode dépressif majeur sur la vie est de 12% pour les hommes et de 23.5% pour les femmes.

La dépression majeure est souvent récurrente avec un risque de rechute de 50% dans les 6 mois qui suivent un premier épisode en cas d'arrêt du traitement (Frank et al., 1990). Outre la souffrance morale du patient et l'invalidité sociale et économique engendrée, la probabilité de suicide peut s'élever à 15 % chez les patients non traités et 60 à 80% des suicides seraient commis par des individus souffrant de dépression majeure (Mann, 2003). Finalement, plusieurs études montrent que la dépression peut prédisposer à la mortalité et la morbidité d'autres pathologies. En particulier la dépression peut multiplier par 4 le risque d'infarctus du myocarde (Pratt et al., 1996) et augmente les risques de mortalité suite à l'infarctus (Frasure-Smith et al., 1993; Glassman et Shapiro, 1998).

Il apparaît donc que la dépression majeure est un problème de santé publique important dont les conséquences socio-économiques sont massives. Pour autant, les causes de la maladie sont toujours mal connues et demeurent un sujet d'étude en pleine effervescence, reflétant sans doute les lacunes de nos connaissances concernant les bases neurobiologiques de nos comportements, émotions et états de conscience.

1.3. Etiologie

Le diagnostic de la dépression majeure étant basé à la fois sur des critères quantitatifs (intensité des symptômes) et qualitatifs (profils symptomatologiques différents), l'expression clinique du syndrome dépressif est très hétérogène et a donné lieu à la description de différents sous-types de dépression majeure, comme la dépression mélancolique et la dépression atypique, présentant même des profils symptomatologiques relativement opposés. Ces sous-types peuvent cependant s'avérer difficilement dissociables en pratique. La grande hétérogénéité des profils observés chez les patients dépressifs, et la présence de symptômes communs avec d'autres pathologies co-morbides, telle que l'anxiété (Angst et Dobler-Mikola, 1985; Merikangas et al., 2003; Zimmerman et al., 2010), font que la validité théorique de la dépression majeure en tant qu'entité nosographique propre est toujours aujourd'hui débattue (Angst et Merikangas, 2001; Trull et Durrett, 2005). D'autant plus que tous les

traitements antidépresseurs actuellement disponibles ne sont pas « spécifiques » de la dépression mais agissent aussi dans beaucoup d'autres troubles psychiatriques.

Cette hétérogénéité reflète vraisemblablement des causes multiples, impliquant des mécanismes pathophysiologiques différents mais pouvant aboutir à des conséquences comportementales communes. Une difficulté supplémentaire dans l'étude des causes de la dépression vient du continuum existant entre l'état normal et l'état pathologique. La plupart de ces symptômes peuvent en effet être observés chez un individu sain en déprime passagère mais aussi dans des cas pathologiques lourds (Angst et Merikangas, 2001). Ce basculement d'un état normal vers un état pathologique est fondamental et soulève la question de la vulnérabilité ou prédisposition des individus face à la dépression majeure.

Cette vulnérabilité face aux troubles psychiatriques, notamment la dépression, est très variable suivant les individus et plutôt qu'une cause unique, il est admis que la dépression est la résultante d'une interaction complexe entre des traits de vulnérabilité génétiques, biologiques et psychologiques (diathèses) et des facteurs précipitants pouvant être socio-environnementaux ou bien physiologiques (**Figure 1**).

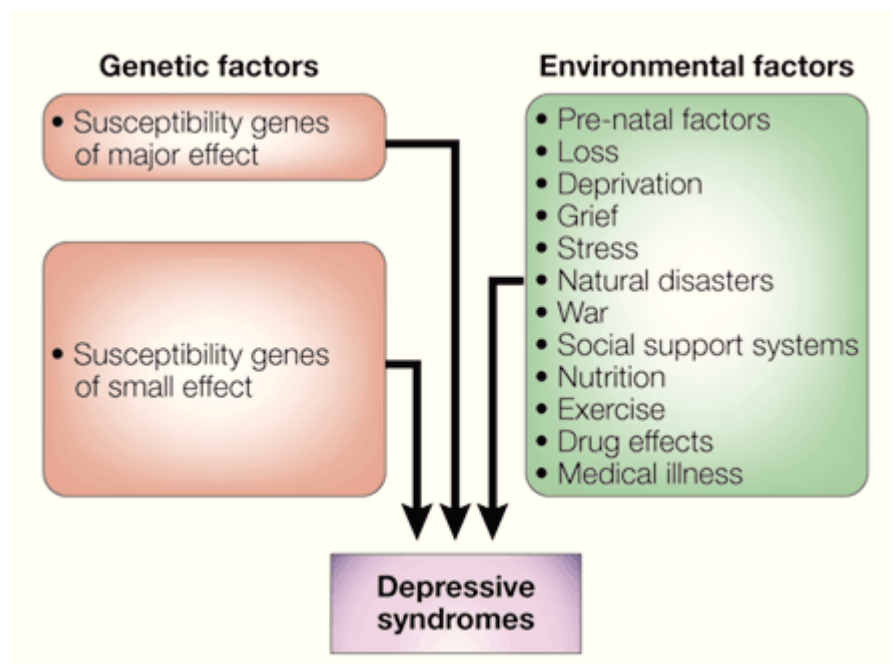


Figure 1. Conception étiologique de la dépression. Les connaissances actuelles sur la pathologie suggèrent que les substrats neurobiologiques de la dépression sont la résultante de l'interaction entre des facteurs génétiques de vulnérabilité et des facteurs environnementaux précipitants. Extrait de Wong et Licinio (2001).

1.3.1. Facteurs précipitants

Les facteurs précipitants ou déclencheurs d'un épisode dépressif peuvent être internes, comme par exemple un « challenge » hormonal ou immunitaire. Dans la plupart des cas cependant, la dépression est précipitée par des événements de vie fortement négatifs, tel la perte d'un proche (Farmer et McGuffin, 2003; Slavich et al., 2011), ou par l'exposition chronique à des stress en soi de faible intensité mais dont l'accumulation a des conséquences importantes comme la perte d'un emploi, la pauvreté, une rupture sentimentale, les conflits familiaux, ou la surcharge associée à un mode de vie contraignant (Brown et Harris, 1978; Harkness et Monroe, 2006). Ces deux types d'exposition au stress, ponctuelle mais de forte intensité, ou chronique mais de faible intensité, sont d'ailleurs la base de deux modèles animaux de dépression, respectivement la résignation apprise (Seligman et Beagley, 1975) et le stress chronique modéré (Willner et al., 1997).

La vulnérabilité des individus face à ces expériences de vie négatives à l'âge adulte est cependant extrêmement variable et semble modulée par l'interaction entre des traits génétiques et psychologiques et les expériences de vie précoces.

1.3.2. Vulnérabilité et notion d'endophénotype

Le risque de faire un épisode dépressif à l'âge adulte est notamment fortement augmenté par des relations parentales distantes ou inappropriées pendant l'enfance, dans les cas de maltraitance (Roy, 1981; Kendler et al., 2006), ou par la perte précoce d'un proche (Agid et al., 1999; Slavich et al., 2011). Ces expériences pendant l'enfance, en modifiant le développement psychoaffectif et les schémas cognitifs d'un individu sont susceptibles de le rendre plus vulnérable face à des événements précipitants conduisant à la dépression (Alloy et al., 1999; Mathews et MacLeod, 2005; Roiser et al., 2012). Par exemple la perte d'un parent proche ou le manque de relations parentales affectives facilitent les sentiments de dévalorisation et l'instabilité émotionnelle (Akiskal, 1984; Avagianou et Zafiropoulou, 2008). D'après les théories cognitives de la dépression (Beck, 1969) ces expériences de vie tel que le rejet ou la dévalorisation peuvent être à l'origine d'un mode de pensée ou « schéma cognitif » négatif qui est caractéristique des patients dépressifs et qui peut plus tard contribuer au développement de troubles affectifs.

Les traits de personnalité, eux-mêmes influencés par les expériences de vie précoces mais aussi par le profil génétique (Wurtman, 2005; Kendler et Gardner, 2011), sont aussi susceptibles de vulnérabiliser l'individu au développement d'un trouble dépressif (Compas et al., 2004). En particulier le neuroticisme, c'est-à-dire la tendance persistante à l'expérience des émotions négatives

chez un individu, est l'un des plus importants facteurs de risque pour la dépression (Enns et Cox, 1997; Christensen et Kessing, 2006).

Une importante composante génétique semble contribuer à la diathèse de la dépression avec une héritabilité rapportée pouvant atteindre 42% (Sullivan et al., 2000). Si aucun gène n'a été directement liée à la dépression chez l'homme, un certain nombre de polymorphismes génétiques ont été décrits comme pouvant contribuer à vulnérabiliser l'individu face à des facteurs précipitants, ou même associés à différents symptômes ou traits pathophysiologiques de la dépression. De façon intéressante presque tous ces polymorphismes sont liés à une propension accrue au neuroticisme (Greenberg et al., 2000; Sen et al., 2003; Juhasz et al., 2009).

Un polymorphisme fonctionnel situé dans le promoteur du gène codant pour le transporteur de la sérotonine (5- HTTLPR) a ainsi pu être associé à un risque plus important de développer un trouble dépressif suite à des événements stressants (Caspi et al., 2003; Karg et al., 2011). Des résultats similaires ont été décrits avec le gène du récepteur aux cannabinoïdes CB1 (CNR1)(Juhasz et al., 2009), du récepteur de type 1 de la corticolibérine (CRH) (CRHR1) (Bradley et al., 2008) ou bien du facteur neurotrophique BDNF (Gatt et al., 2009).

Si des variations génétiques peuvent moduler l'effet de l'environnement sur le comportement, il semble aussi que cette relation puisse être bidirectionnelle puisque les expériences de la vie peuvent prévenir ou accentuer les effets du stress en affectant le génome de manière « épigénétique » (Weaver et al., 2004; Tsankova et al., 2006). De tels résultats ont aussi été observés chez l'homme mais avec des résultats contradictoires (pour revue: Dudley et al., 2011).

L'ensemble de ces études montrent donc que le développement de la dépression est la résultante d'une interaction forte entre le patrimoine génétique, l'environnement et l'expérience de l'individu mais que pris individuellement ces facteurs n'expliquent pas l'apparition de la maladie. Ces anomalies génétiques, en induisant des modifications moléculaires, cellulaires et systémiques (neurotransmission, hormones, neuroplasticité, etc) pourraient conduire à différents patterns d'altérations neuroanatomiques aboutissant à des déficiences cognitives et émotionnelles contribuant à vulnérabiliser l'individu à la dépression. Par exemple des données d'imagerie cérébrale montrent que le polymorphisme du gène 5- HTTLPR (transporteur de sérotonine) est aussi associé à des altérations fonctionnelles dans des aires cérébrales impliquées dans le traitement émotionnel de l'information et dans la dépression, comme le cortex cingulaire et l'amygdale (Pezawas et al., 2005). De la même façon un polymorphisme du gène du BDNF est associé à des déficits de mémoire épisodique et altère l'activité de l'hippocampe (Egan et al., 2003).

Ces différentes altérations en soi ne sont cependant pas suffisantes pour expliquer la grande diversité des processus biologiques et cognitifs altérés dans la dépression et sa grande hétérogénéité symptomatologique. De cette observation a émergé la notion d'endophénotype (**Figure 2**), c'est-à-dire de trait héritable pouvant être physiologique, biochimique, anatomique, cognitif ou psychologique et qui à défaut de pouvoir l'expliquer dans son intégralité, représente un aspect phénotypique isolé de la pathologie et peut servir de base à l'étude de marqueurs biologiques. De nombreux endophénotypes ont ainsi été décrits dans la dépression (Hasler et al., 2004; Hasler et Northoff, 2011). L'approche consistant à étudier des endophénotypes est particulièrement utilisée en recherche préclinique compte tenu de la difficulté d'établir des modèles animaux reproduisant la globalité des symptômes de la dépression et des lacunes existantes concernant son étiologie. Pour des raisons pratiques la plupart des études ne se focalisent en effet que sur certains aspects comportementaux ou physiologiques. Si les connaissances des mécanismes pathophysiologiques impliqués dans la dépression ont grandement évolués, cette approche peut cependant s'avérer réductrice pour la mise au point de nouveaux traitements antidépresseurs.

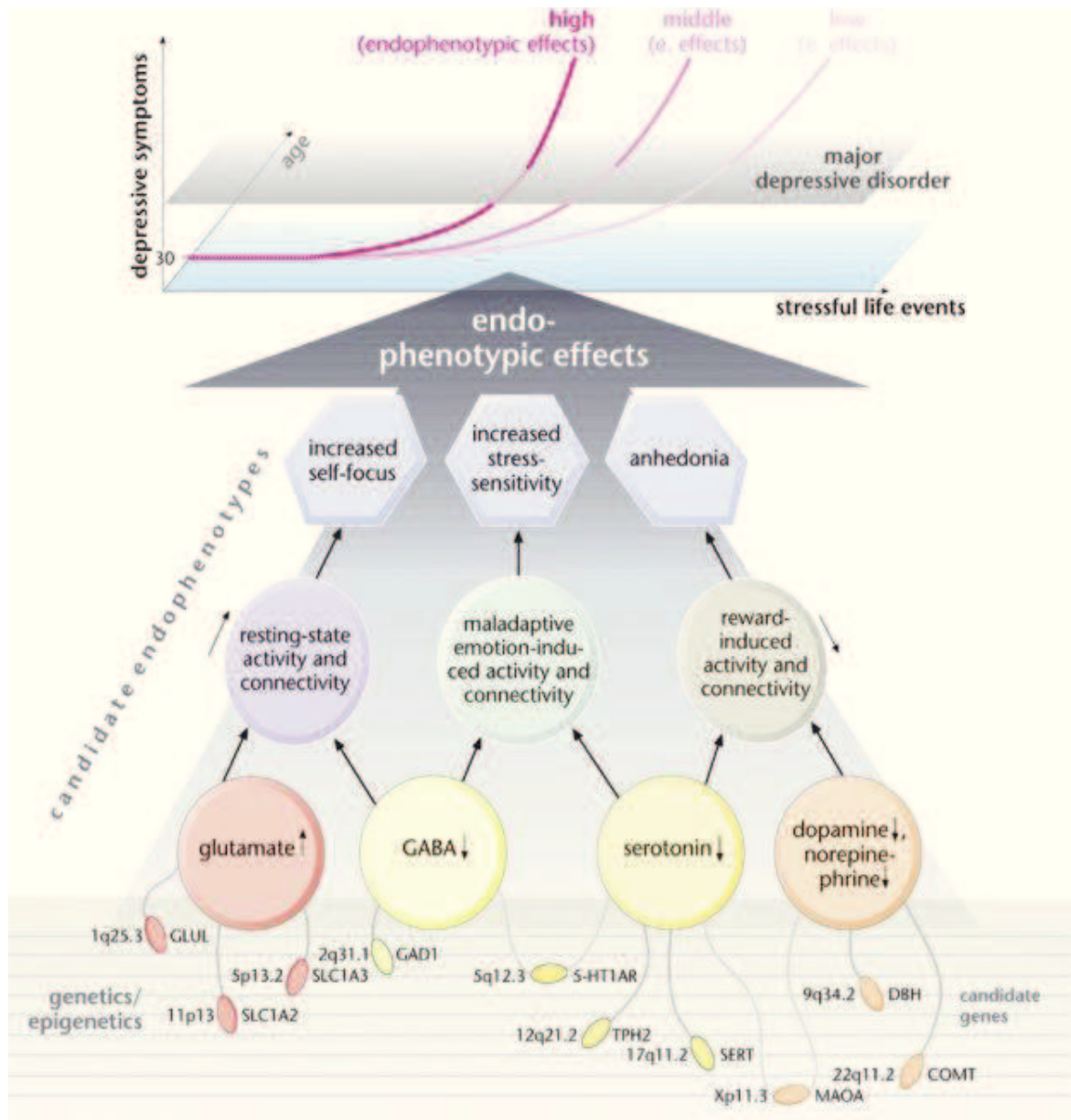


Figure 2. Exemple théorique représentant différents endophénotypes et leurs implications dans l'expression phénotypique de la dépression. Des polymorphismes génétiques, en induisant des modifications moléculaires, cellulaires et systémiques (représentés ici au niveau des principaux systèmes de neurotransmission) influent sur différentes fonctions cérébrales et induisent des profils de déficiences cognitives et émotionnelles qui prédisposent au développement de symptômes dépressifs et à la dépression majeure en réponse à des facteurs de stress environnementaux et en fonction de l'âge. Extrait de Hasler et Northoff (2011).

1.4. Traitements de la dépression

Les traitements actuels de la dépression sont en général pharmacologiques et/ou psychologiques. D'autres types d'interventions plus ou moins invasives peuvent être utilisés, particulièrement les thérapies électro-convulsives, la stimulation du nerf vague, les stimulations magnétiques transcrâniennes, ou la stimulation cérébrale profonde en cas de forme sévère résistante aux autres traitements. Même si les traitements pharmacologiques actuellement utilisés

ont démontré une efficacité certaine, un taux important de patients, 30 à 40% suivant les études, n'atteignent pas les critères de rémission. De plus, le délai d'action thérapeutique est souvent relativement long (pouvant aller jusqu'à 8 semaines), et le taux de rechute important (Trivedi et al., 2006; Holtzheimer et Mayberg, 2011).

En fonction de la sévérité du trouble et du profil symptomatologique du patient, différentes stratégies thérapeutiques peuvent être adoptées. Par exemple le changement d'antidépresseur utilisé, la potentialisation des effets du traitement par d'autres classes pharmacologiques comme les neuroleptiques ou d'autres molécules comme le lithium, et la mise en place de thérapies comportementales en parallèle au traitement pharmacologique.

1.4.1. Traitements pharmacologiques

Les premiers véritables traitements pharmacologiques des troubles affectifs datent du début des années 50, avec l'introduction de l'imipramine, premier antidépresseur de la classe des tricycliques et de l'iproniazide, inhibiteur non spécifique de la monoamine oxydase (IMAO), dont les propriétés antidépressives n'ont été découvertes que de façon fortuite. Avant cela, à la fin du XIXème et début du XXème siècle, les agents utilisés étaient aussi divers que l'hydrate de chloral, les barbituriques, le bromure, les amphétamines, et également les dérivés opiacés. De nombreux antidépresseurs ont depuis été développés, ayant pour la plupart la caractéristique commune de moduler la neurotransmission monoaminergique (sérotonine, noradrénaline, dopamine), soit en inhibant la recapture des neurotransmetteurs, soit en inhibant leur dégradation, soit en agissant sur leur récepteurs (**Figure 3**). Différentes classes d'antidépresseurs peuvent être décrits en fonction de leur mode d'action et du système monoaminergique touché.

- Inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO) : Ce sont les premiers antidépresseurs ayant été développés. Ils agissent en inhibant la monoamine oxydase, enzyme responsable de la dégradation des monoamines, induisant donc une augmentation de leur disponibilité synaptique. La découverte des deux isoformes A et B de cette enzyme a permis la mise au point d'IMAOs plus sélectifs, la forme A étant préférentiellement impliquée dans la dégradation de la NA et la 5-HT alors que la forme B dégrade préférentiellement la DA. Ces IMAOs plus sélectifs et réversibles (comme le moclobemide) ont un profil pharmacologique qui a de nombreux avantages comparé aux premiers IMAOs, notamment en terme d'interactions et d'effets indésirables.

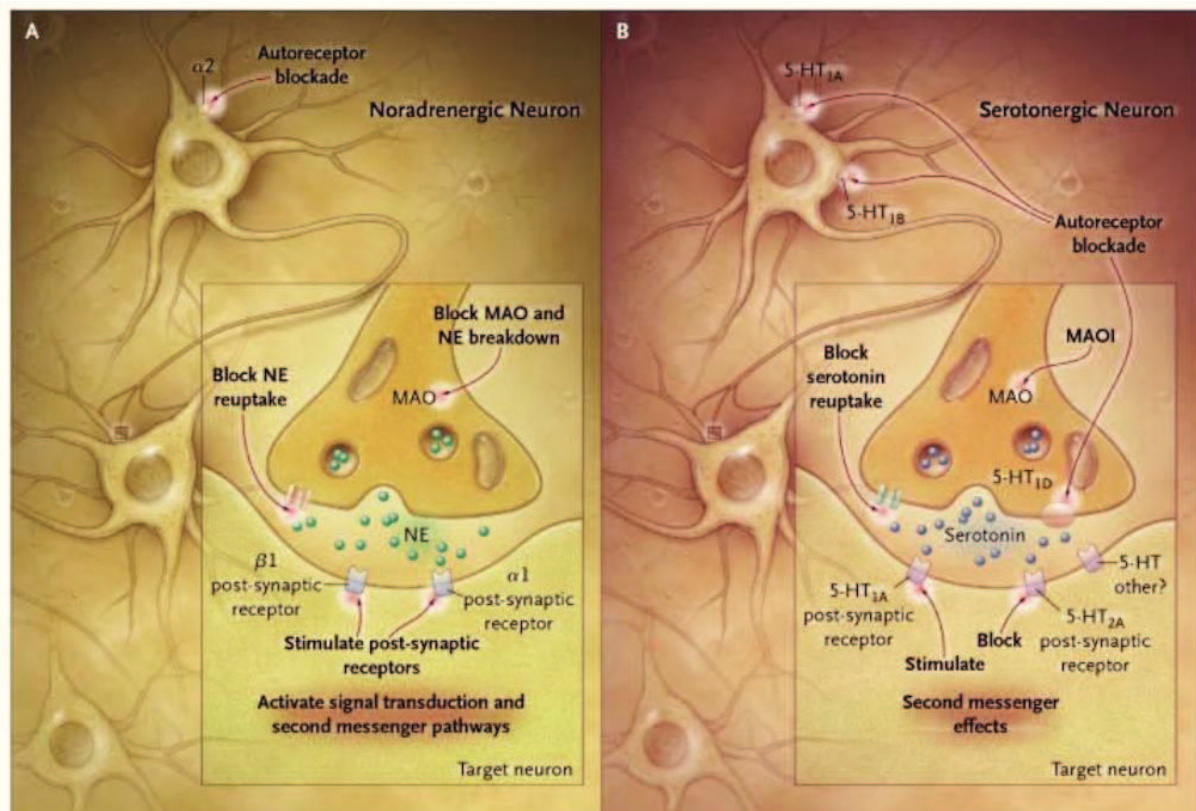


Figure 3. Exemples de cibles des antidépresseurs sur les neurones noradrénergiques et sérotoninergiques. La neurotransmission noradrénergique (A) et sérotoninergique (B) peut être stimulée en bloquant ou en stimulant différents récepteurs, en bloquant la recapture du neurotransmetteur au niveau de la fente synaptique ou la dégradation des neurotransmetteurs par la MAO. Extrait de Mann, (2005).

- Inhibiteurs mixtes de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline (IRSN) : En bloquant leurs transporteurs respectifs, SERT et NAT, ces antidépresseurs bloquent la recapture de la noradrénaline et de la sérotonine, augmentant ainsi leur disponibilité prolongeant la neurotransmission. A la différence des tricycliques (comme l'imipramine) qui eux aussi bloquent la recapture de NA et 5-HT, les IRSNs sont dépourvus d'effet sur les récepteurs α_1 , sur les récepteurs cholinergiques ou sur les récepteurs histaminiques, si bien que leur effet sur la 5-HT et la NA est sélectif, diminuant ainsi les risques d'effets indésirables.

- Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS) : On trouve notamment dans cette catégorie la fluoxétine, apparue sur le marché en 1988 et devenue l'un des médicaments les plus vendus dans le monde, et la sertraline, la paroxétine et le citalopram. Bien qu'ils appartiennent à des familles chimiques distinctes, toutes ces substances ont une caractéristique commune : leur aptitude à inhiber la recapture de la 5-HT (Carrasco et Sandner, 2005). Bien que pouvant aussi agir sur la neurotransmission noradrénergique, cholinergique ou histaminique, leurs effets thérapeutiques sont principalement dus à l'action sur la recapture de la 5-HT. Ils ont peu à peu remplacé les antidépresseurs tricycliques.

- Inhibiteurs sélectifs de la recapture de la noradrénaline (ISRN) : En inhibant sélectivement la recapture du NAT, ces composés stimulent la neurotransmission noradrénergique. Le premier ISRN mis sur le marché fut la réboxétine en 1997 (Hajós et al., 2004). Ils sont aussi utilisés couramment dans le traitement des troubles de l'attention avec hyperactivité et de la narcolepsie pour leurs effets psychostimulants.

- Autres types d'antidépresseurs : De nombreuses autres molécules ont été développées ayant des mécanismes et des profils différents, dits atypiques. C'est le cas des antidépresseurs noradrénergiques et sérotoninergiques spécifiques (NaSSAs) tel que le mirtazapine dont l'action sur les transporteurs monoaminergiques est faible mais qui agissent en bloquant simultanément les autorécepteurs et hétérorécepteurs α_2 adrénergiques et 5-HT₂, ce qui conduit à une augmentation de la transmission NA et 5-HT.

A partir de l'observation que des agonistes dopaminergiques potentialisaient les effets de certains antidépresseurs, des composés bloquant la recapture des trois transporteurs monoaminergiques ont aussi été développés (inhibiteurs triples de la recapture) (Guiard et al., 2009; Prins et al., 2011).

D'autres agissent, comme le bupropion, sur la transmission dopaminergique et noradrénergique en bloquant la recapture du NAT et du DAT.

A l'inverse des ISRS, la tianeptine, elle, agit en augmentant la recapture de la 5-HT et module la transmission glutamatergique (Fuchs et al., 2002; McEwen et Olié, 2005).

Finalement un antidépresseur arrivé sur le marché récemment, l'agomélatine, agit comme agoniste des récepteurs à la mélatonine MT1 et MT2 et antagoniste des récepteurs 5-HT_{2C} (Racagni et al., 2011).

De plus, beaucoup de molécules actuellement en développement pour le traitement de la dépression impliquent des cibles très variées et généralement différentes des systèmes monoaminergiques (Holmes et al., 2003). En effet, ces dernières années, de nombreuses recherches se sont focalisées sur des systèmes neuropeptidergiques comme la CRH et la vasopressine (Madaan et Wilson, 2009), la substance P et le récepteur-1 de la neurokinine (Gobbi et Blier, 2005; Muñoz et Coveñas, 2011), le neuropeptide Y (Madaan et Wilson, 2009) ou encore l'hormone de mélanocortine (melanin concentrating hormone, MCH) (Shimazaki et al., 2006; David et al., 2007).

1.4.2. Traitements non pharmacologiques

Thérapies comportementales : Basées sur des entretiens réguliers ou des thérapies de groupe, leur but est de modifier la manière que le patient a d'appréhender son environnement et de modifier ses schémas cognitifs, en influant particulièrement sur les pensées négatives et biais négatifs. Même si elles peuvent suffire pour les troubles légers, elles sont surtout utilisées en combinaison avec un traitement pharmacologique. Elles permettent ainsi une prise en charge immédiate pendant la mise en place des effets pharmacologiques, et peuvent aider à prévenir les récurrences des épisodes modérés et sévères (DeRubeis et al., 1999; Reynolds et al., 1999).

Neuromodulation : Les thérapies électro-convulsives sont relativement peu utilisées et considérées que quand les autres formes thérapeutiques sont insuffisantes ou contre-indiquées. Elles peuvent notamment induire des troubles de mémoire et d'orientation suite au traitement. Elle reste malgré tout le traitement le plus efficace pour traiter la dépression, avec un taux de rémission pouvant aller jusqu'à 80% (Sienaaert, 2011), mais un risque de rechute élevé (Rabheru, 2012). Les mécanismes impliqués dans ces effets antidépresseurs sont cependant mal connus (Bolwig, 2011).

D'autres techniques de neuromodulation sont utilisées avec un certain succès chez les patients résistants au traitement pharmacologique. La stimulation électrique ciblée de différentes structures cérébrales, comme le cortex préfrontal médian ou le noyau accumbens par DBS semble notamment induire une amélioration durable de l'humeur chez 50% des patients résistants, avec un risque d'effets indésirables contrôlé (Hamani et Nóbrega, 2010). Ces techniques restent cependant coûteuses et invasives, mais peuvent ouvrir la voie vers une meilleure compréhension des altérations cérébrales associées aux troubles dépressifs et la mise au point de traitements plus efficaces.

En résumé les traitements actuels, bien qu'ayant une efficacité certaine, restent insuffisants de par leur délai d'action thérapeutique, la forte proportion de patients ne répondant pas au traitement, et le caractère non durable de leurs effets thérapeutiques. Les recherches précliniques chez l'animal sont donc indispensables afin de mieux comprendre la pathophysiologie du trouble dépressif et de mettre au point des traitements plus efficaces.

1.5. Modélisation de la dépression chez l'animal

Le manque de connaissance sur les processus sous-jacents conduisant à la dépression fait qu'il est aujourd'hui impossible de reproduire le trouble dépressif avec un modèle expérimental. Qui plus est, certains symptômes centraux du trouble dépressif incluent des sentiments subjectifs impossibles à quantifier chez l'animal, tels que les sentiments de culpabilité ou les idées suicidaires. Le choix de l'espèce utilisée dans les modèles de dépression constitue en ce sens une question

d'importance. Une des principales différences dans l'organisation anatomique du cerveau humain et celui du rongeur (l'espèce la plus largement utilisée dans les modèles de troubles affectifs) est notamment l'élaboration du cortex cérébral (surtout au niveau préfrontal), permettant la manipulation de concepts psychologiques complexes et conduisant à l'expression de symptômes chez l'homme qui sont non exprimés ou difficilement observables chez l'animal. Cependant l'organisation fonctionnelle et les structures sous-corticales du cerveau sont particulièrement conservées chez tous les mammifères. C'est le cas par exemple des structures limbiques impliquées dans la régulation des états émotionnels telle l'amygdale et l'hippocampe ou du circuit cérébral associé à la récompense et au plaisir. Les réponses comportementales et physiologiques sous-tendues par ces systèmes ont une forte valeur adaptative et sont relativement semblables chez l'homme et l'animal. Ces composantes étant des aspects majeurs des troubles dépressifs, il est donc possible par inférence en étudiant ces systèmes et leur altération de mieux comprendre la pathologie humaine.

1.5.1. Mesures comportementales et modèles animaux

Les modèles actuels tentent donc, par différents moyens, d'induire des corrélats de symptômes observés en clinique que l'on peut quantifier via des paramètres éthologiques supposément analogues (**Tableau 1**).

<i>Depression symptom in humans</i>	<i>How it is modeled in rodents?</i>
Depressed mood most of the day Markedly diminished interest or pleasure in all or most activities most of the day	Not applicable Intracranial self-stimulation (ICSS) and progressive ratio responding in response to rewards such as sucrose can assess anhedonia
Large changes in appetite or weight gain	Easily measured
Insomnia or excessive sleeping	Sleep architecture can be measured using EEG
Psychomotor agitation or slowness of movement	Can be assessed in terms of ease of handling Activity can be measured in novel environment and motor coordination assessed using rotarod
Fatigue or loss of energy	Social withdrawal Energy expenditure Treadmill/running wheel Swimming Nesting behavior
Indecisiveness or diminished ability to think or concentrate	Active waking in EEG Animal models of cognition Working memory Spatial memory Attention
Recurrent thoughts of death or of suicide Feelings of worthlessness or excessive or inappropriate guilt	Not applicable Not applicable

Tableau 1. Symptômes de la dépression et exemples de modélisations chez l'animal. Extrait de Cryan et Mombereau (2004).

Les mesures de la réponse motrice d'un animal dans une situation stressante peuvent par exemple refléter la résignation ou le désespoir. Les comportements de recherche de récompense sont utilisés

en tant que mesure d'hédonie, l'anhédonie étant un trait central dans la symptomatologie de la dépression. Les interactions sociales peuvent être mesurées pour mettre en évidence le retrait social, composante aussi importante de la dépression. Compte tenu de la forte composante anxieuse dans la dépression, un certain nombre de tests initialement développés pour étudier l'anxiété sont aussi utilisés couramment pour étudier les effets des antidépresseurs ou d'un modèle expérimental. Ces tests sont généralement basés sur des conflits écologiquement pertinents pour l'animal, comme par exemple la peur des environnements nouveaux, qui même en laboratoire sont des traits comportementaux maintenus tant ces conflits ont une valeur adaptative forte.

Ces mesures ne correspondent cependant pas à un modèle mais plutôt à des mesures ponctuelles ou tests qu'il convient de dissocier des modèles basés sur des manipulations expérimentales (pouvant être pharmacologiques, génétiques, et environnementales, etc.) et visant à induire des modifications comportementales et biologiques. La capacité de ces modèles à induire un phénotype « dépressif » et les effets bénéfiques d'un traitement antidépresseur sont ensuite évalués par la mesure de performances dans ces tests. Une description non-exhaustive des différentes approches possibles dans l'élaboration de modèles animaux et leurs avantages/inconvénients est donnée dans le **tableau 2**.

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

Tableau 2. Exemples d'approches utilisées pour modéliser les troubles psychiatriques. Extrait de Nestler et Hyman (2010).

1.5.2. Critères de validité

En plus de devoir être reproductibles, la pertinence de ces modèles peut être évaluée par différents critères théoriques décrits entre autre par Willner et al. (1992) tels que leur capacité à induire des modifications comportementales et biologiques semblables à celles observées chez l'homme (validité de face), ces modifications devant être induites dans le modèle par des causes similaires à celles qui induisent la pathologie humaine (validité de construction ou étiologique) et contrecarrées par les mêmes modalités de traitement efficaces chez l'homme (validité prédictive). Ces critères ne représentent cependant qu'un cadre théorique : en pratique aucun modèle ne peut prétendre remplir ces différents critères de validité et les modèles de dépression sont surtout utilisés sur la base de leur validité prédictive. La validité de face est généralement faible du fait que la plupart des études n'évaluent les effets de leur modèle qu'à travers un spectre étroit de paramètres biologiques ou comportementaux, ou endophénotypes. Les changements neurobiologiques conduisant à un état dépressif n'étant pas entièrement connus, la validité de construction des modèles animaux est aussi généralement faible, les modèles les plus pertinents en ce sens correspondent vraisemblablement à ceux qui utilisent des facteurs psycho-sociaux comme le stress, à l'âge adulte ou périnatal, comme inducteurs d'un syndrome dépressif. Cependant, toutes les approches sont complémentaires; les origines des troubles dépressifs n'étant pas déterminées, chaque modèle peut fournir des informations sur le fonctionnement de systèmes dont les perturbations sont corrélées avec les troubles dépressifs. Ceci est essentiel dans le cadre d'une meilleure compréhension de la pathologie, et dans la perspective de développement de nouveaux traitements.

1.5.3. Stress et modèles animaux

De par l'influence certaine du stress dans le développement de la dépression, beaucoup de modèles utilisent l'exposition au stress pour induire un état dépressif chez l'animal, mais avec des modalités très variées. Le stress peut varier en nature (physique ou systémique versus psychosocial/cognitif), en sévérité, en chronicité et être administré pendant différentes périodes développementales. Ces différents types de modalités peuvent avoir des conséquences différentes sur le comportement. Par exemple, les circuits limbiques traitant l'information stressante ne sont pas les mêmes selon que le stress est systémique/physique ou psychologique (Herman et Cullinan, 1997; Anisman et Matheson, 2005). Les conséquences d'une exposition au stress sont aussi différentes si l'individu/animal peut exercer un contrôle sur l'agent stressant (Anisman et Matheson, 2005). De même, chez l'homme comme chez l'animal la possibilité ou non de prédire la survenue du stress peut avoir des conséquences différentes (Anisman et Matheson, 2005) voire opposées, une étude

récente ayant notamment montré des effets bénéfiques du stress chronique prédictible chez le rat dans des paradigmes d'anxiété et de dépression (Parihar et al., 2011). Finalement, les agents stressants délivrés pendant une période précoce de développement peuvent induire des conséquences comportementales à long terme différentes d'un stress éprouvé à l'âge adulte et ainsi modéliser des facteurs de risque pour la pathologie.

Ces différentes modalités donnent lieu à un certain nombre de modèles de dépression dont une partie sera présentée plus loin.

1.5.4. Tests du phénotype « dépressif-like »

Nous décrivons ici quelques tests les plus couramment utilisés afin de mettre en évidence un profil comportemental « dépressif-like » chez l'animal ainsi que l'action antidépressive éventuelle de composés pharmacologiques ou de manipulation environnementales.

Nage forcée (Forced swim test, FST) et suspension par la queue (Tail suspension test, TST) :

Le FST consiste à placer un rongeur (rat ou souris, bien que mis au point initialement chez le rat) dans un cylindre rempli d'eau de telle sorte que l'animal ne puisse pas s'appuyer sur le fond du cylindre avec ses pattes (Porsolt et al., 1977). Le comportement typique de l'animal qui tente de s'extraire de cette situation est un pic immédiat d'activité suivie d'une posture d'immobilité, qualifiée de comportement de résignation ou de désespoir. Le développement de cette posture d'immobilité est souvent facilité par exposition préalable au dispositif.

De la même façon dans le TST le comportement d'immobilité (**Figure 4**) est mesuré comme indicateur de résignation de l'animal qui dans ce cas est suspendu par la queue (Steru et al., 1985).



Figure 4. Comportement d'immobilité dans le TST.

Ce sont sans doute les tests les plus utilisés pour étudier les effets de manipulations environnementales ou génétiques et particulièrement dans le screening de molécules à propriétés antidépressives. En effet, la grande majorité des antidépresseurs classiquement efficaces en clinique mais aussi atypiques sont capables d'induire une diminution de l'immobilité de l'animal dans ces test

(Cryan et al., 2002). La spécificité de cette mesure peut cependant être remise en question étant donné que d'autres composés tels que les psychostimulants augmentent l'activité de l'animal dans ces deux dispositifs. De plus les antidépresseurs, qui ne sont efficaces en clinique qu'après traitement chronique de plusieurs semaines, induisent un effet comportemental dans le test après administration aiguë. Finalement la notion de résignation ou de désespoir peut aussi être débattue. D'un point de vue adaptatif les stratégies de flottement ou d'immobilité pourraient en effet s'avérer plus bénéfiques pour l'animal.

Hypophagie induite par la nouveauté (Novelty Induced Hypophagia, NIH, ou Novelty-Induced Suppression of Feeding, NSF) :

Ce test initialement développé chez le rat puis la souris (Poschel, 1971; Soubrié et al., 1975) est basé sur le conflit généré par la faim et la peur de s'aventurer dans un environnement nouveau (et donc anxiogène) pour manger. Bien que développé comme test d'anxiété et ayant une forte validité prédictive pour les anxiolytiques, le test est sensible aux effets chroniques de certains antidépresseurs (qui ont aussi des propriétés anxiolytiques) mais pas aux effets d'un traitement aigu, lui conférant une validité prédictive plus importante que les tests de résignation (pour revue : Dulawa et Hen, 2005). Le test consiste à placer l'animal préalablement privé de nourriture (pendant un délai variable suivant les études et l'espèce, généralement 12 heures chez la souris) dans un nouvel environnement (pouvant aussi varier de nature en fonction des études) au centre duquel de la nourriture est disponible et mesurer la latence de l'animal à manger. Si d'autres paramètres éthologiques peuvent être mesurés, le plus couramment pris en compte est la latence, le postulat étant que plus l'animal est anxieux plus il mettra de temps à manger. La consommation dans la cage d'hébergement familière de l'animal est ensuite mesurée après le test pour contrôler des effets potentiels de l'agent pharmacologique ou du modèle expérimental testé sur la prise alimentaire. Une autre variante du test (Merali et al., 2003) consiste à ne pas priver l'animal de nourriture, mais mesurer sa consommation successivement dans sa cage d'hébergement puis dans une cage nouvelle en utilisant de la nourriture plus appétitive pour l'animal, comme une solution sucrée.

Tests de sensibilité hédonique :

La perte d'intérêt ou de plaisir ressenti, l'anhédonie, étant un symptôme central dans la dépression différents tests ont été mis au point afin de rendre compte de la sensibilité hédonique des animaux. Là aussi la notion d'hédonie chez l'animal peut être débattue, n'étant inférée dans ces tests que sur la base de préférences alimentaires ou aux drogues et non par un ressenti émotionnel direct.

Le test le plus utilisé est le test de préférence au sucrose dans lequel on présente à l'animal préalablement habitué à consommer une solution appétante (sucrose ou saccharine) le choix de consommer soit la solution appétante soit de l'eau. La mesure de la consommation peut aussi être chronique en fonction du paradigme utilisé. La préférence pour la solution sucrée étant forte chez les rongeurs, une diminution de la consommation de cette solution peut être interprétée comme un signe d'anhédonie. Plusieurs études ont ainsi montré que l'exposition chronique au stress induisait une diminution de la préférence au sucrose dans ce test qui était bloquée par un traitement chronique, et non aigu, aux antidépresseurs (Willner et al., 1992; Papp et al., 1996). De plus le traitement antidépresseur chez les animaux contrôles n'induit pas de changement hédonique, ce qui est cohérent avec l'absence d'effet rapportée chez l'homme sur cette mesure en situation non pathologique (Willner et al., 1987).

Bien que moins utilisées et nécessitant plus de validation, d'autres approches ont été décrites pour évaluer l'effet de du stress chronique et d'un traitement antidépresseur sur la recherche de récompense et la sensibilité hédonique (Moreau et al., 1992; Nielsen et al., 2000). C'est le cas de l'autostimulation intracérébrale basée sur le conditionnement opérant où un comportement appris entraîne une récompense sous la forme d'une stimulation électrique directement dans l'aire tegmentale, structure cérébrale impliquée dans le circuit de la récompense.

De nombreux autres tests sont utilisés pour évaluer différentes composantes du comportement afin de mettre en évidence un profil « anxieux-dépressif » chez l'animal, les exemples présentés ci-dessus ne représentant que ceux les plus couramment utilisés et donc les plus validés empiriquement. Si certains de ces tests sont utilisés en concomitance avec un modèle expérimental de dépression, beaucoup d'études évaluant les effets des antidépresseurs utilisent cependant ces tests comme outils de screening dans une situation non « pathologique » pour l'animal. Beaucoup de données tendent à montrer que l'effet d'un agent pharmacologique sur différentes variables biologiques et comportementales n'est pas le même suivant que le système est altéré ou en condition dite normale (Surget et al., 2009). Il semble donc important, pour avoir une meilleure compréhension des mécanismes impliquées dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression d'utiliser des modèles animaux induisant un profil dit pathologique. Quelques-uns de ces modèles, les plus couramment utilisés, sont décrits ci-dessous.

1.5.5. Modèles expérimentaux de dépression

Résignation apprise (learned helplessness):

Ce paradigme se base sur la présomption qu'un animal « normal » placé dans une situation aversive cherchera à s'échapper. Il fut originalement développé chez le chien par Seligman et Maier (1967). Suivant l'administration de stimuli aversifs que le sujet ne pourra pas éviter, ce dernier finira par se résigner à ce stress, et ne manifestera plus de comportement d'évitement actif. Selon ce principe, le modèle est actuellement utilisé chez le rat ou la souris, où pendant une ou plusieurs sessions l'animal est exposé ou non (pour les groupes contrôles) à des chocs inévitables, puis dans une session de test l'opportunité d'éviter activement le choc lui est offerte, généralement en changeant de compartiment au sein du dispositif. Une partie des animaux ayant préalablement subi les chocs expriment moins d'évitement actif lors de la phase de test et cette diminution semble contrecarrée par les effets de diverses classes d'antidépresseurs (Sherman et al., 1982; Martin et al., 1990). Il est à noter que les anxiolytiques peuvent agir de façon similaire (Drugan et al., 1984; Maier, 1984), indiquant une composante d'anxiété dans ce modèle et/ou un manque de spécificité.

Néanmoins cette mesure pourrait refléter le fait que la dépression est souvent perçue comme une incapacité à adopter une stratégie adéquate en réponse au stress (stress coping). De façon intéressante les animaux exprimant un profil de « résignation » dans ce paradigme ont aussi des altérations biologiques souvent présentes, quoique de façon hétérogène, chez les patients dépressifs telles qu'une diminution de l'activité locomotrice, une perte de poids, des troubles du sommeil, et une augmentation des hormones du stress (Maier, 1984).

Modèles de stress périnataux :

De par l'importance des expériences précoces sur la survenue des troubles dépressifs, beaucoup de modèles utilisent des paradigmes de stress pendant des périodes critiques de développement pour l'animal. Ces modèles induisent en général des altérations biologiques et comportementales stables observables à long terme, permettant d'étudier les mécanismes éventuels impliqués dans la susceptibilité à la dépression. Les plus reproductibles des altérations induites sont sans doute celles du système neuroendocrinien de la réponse au stress et des comportements d'anxiété.

Chez l'homme comme chez les mammifères, le comportement maternel étant un facteur particulièrement important dans le développement de la réactivité émotionnelle d'un individu (Holmes et al., 2005; Zhang et al., 2006), la séparation maternelle en tant que modèle de dépression a été développé (Jesberger et Richardson, 1985). La séparation maternelle durant quelques heures par jour pendant les deux semaines post-natales peuvent notamment induire à l'âge adulte une

augmentation des comportements anxieux, une diminution de l'activité locomotrice, un retrait social, une perte de sensibilité hédonique, des troubles de l'appétit et du sommeil et une réponse accrue des systèmes de réponse au stress (Plotsky et Meaney, 1993; Ladd et al., 2000; Mintz et al., 2005; Rüedi-Bettschen et al., 2005).

Un autre modèle, le stress maternel pendant la gestation, par exemple un stress de contention, induit chez la progéniture des modifications durables présentes à l'âge adulte et relativement similaires à celles induites par la séparation maternelle (Alonso et al., 1991; Maccari et al., 2003; Morley-Fletcher et al., 2003).

Si certains de ces effets sont contrecarrés par un traitement chronique aux antidépresseurs (Morley-Fletcher et al., 2004; Poltyrev et Weinstock, 2004), ces modèles sont surtout utilisés non pas pour leur validité prédictive mais plutôt pour essayer de reproduire et étudier les facteurs de prédisposition aux troubles anxieux et dépressifs.

Modèles de défaite sociale :

Chez la plupart des mammifères, en particulier chez l'homme, les interactions sociales et la place de l'individu au sein d'une structure sociale hiérarchisée peuvent être générateurs de stress et influent fortement le développement psychologique de l'individu. La composante sociale du stress est en effet importante dans le développement de la dépression et d'autres troubles psychiatriques (Björkqvist, 2001; Huhman, 2006). Certains paradigmes utilisent donc des situations sociales conflictuelles comme inducteur de stress pour susciter un état de type « dépressif ».

Le modèle de défaite sociale est par exemple généralement basé sur la cohabitation forcée entre un animal subordonné et un dominant. L'exposition chronique au dominant peut induire chez le subordonné un ensemble de changements comportementaux et biologiques qui présentent un important isomorphisme avec la symptomatologie de la dépression, et qui peuvent être contrecarrés par un traitement chronique (et non aigu) avec différentes classes d'antidépresseurs. Ces altérations incluent un évitement social, une anhédonie, une diminution des comportements sexuels, une anxiété accrue, une diminution de l'activité locomotrice, des troubles du rythme circadien, de la prise alimentaire et du sommeil (pour revue : Miczek et al., 2008).

Modèle d'administration chronique de corticostérone :

On observe chez une proportion de patients dépressifs et dans certains modèles animaux de dépression, des perturbations fonctionnelles du système neuroendocrinien du stress, marquées notamment par des taux anormalement élevés d'hormones du stress, les glucocorticoïdes (cortisol

chez l'homme, corticostérone chez le rongeur). Ces altérations sont une composante importante de la pathologie (qui sera détaillée plus loin dans ce manuscrit) et ont donné naissance à l'hypothèse que la dépression puisse être précipitée ou induite par un dysfonctionnement de ces systèmes du stress. Un excès de glucocorticoïdes peut en effet avoir à long terme des effets délétères sur l'intégrité structurelle et fonctionnelle des neurones et induire des perturbations des systèmes de neurotransmission. A partir de cette hypothèse, certains modèles sont basés sur l'administration chronique de corticostérone afin d'étudier directement l'influence d'un excès de glucocorticoïdes sur l'apparition de troubles anxieux et dépressifs et les altérations neurobiologiques sous-jacentes. Bien que disposant d'une validité de construction limitée, ces modèles sont capables d'induire, tout comme les modèles susmentionnés, un large spectre d'altérations comportementales et biologiques pertinentes dans la symptomatologie des troubles anxieux et dépressifs (pour revue, Sterner et Kalynchuk, 2010) qui sont en partie contrecarrés par un traitement chronique avec diverses classes d'antidépresseurs (Ago et al., 2008; David et al., 2009; Rainer et al., 2011).

Stress chronique imprédictible modéré (Unpredictable chronic mild stress, SCIM):

Le caractère récurrent ou chronique du stress est un aspect important dans l'étiologie de la dépression (Harkness et Monroe, 2006). Les paradigmes de stress chronique imprédictible ont été développés initialement chez le rat par Katz et al. puis par Willner (Katz et al., 1981; Willner et al., 1987) afin de modéliser l'aspect chronique de l'état dépressif qui se développe graduellement au cours du temps en réponse à un stress récurrent. Divers paradigmes ont depuis été élaborés, avec comme caractéristiques communes la variété des agents stressants utilisés, l'utilisation de stress de faibles intensités (contrairement au modèle initial qui utilisait des chocs électriques et des immersions dans l'eau froide), et la nature imprédictible de l'exposition au stress. Ces différents aspects étant importants dans la survenue du trouble dépressif, ces modèles s'avèrent pertinents pour l'étude des altérations neurobiologiques associés à la pathologie. De plus l'éventail des altérations induites par le modèle, incluant des altérations comportementales, neuroplastiques, neuroendocriniennes, neurochimiques et moléculaires qui ont une certaine similitude avec celles observées chez les sujets dépressifs, peuvent être contrecarrées par la plupart par les antidépresseurs classiquement utilisés en clinique lui conférant ainsi une bonne validité de face et prédictive (pour revue, Willner, 2005). A l'inverse, les anxiolytiques, neuroleptiques ou certains analgésiques n'ont aucun effet dans le modèle (Muscat et al., 1992; Papp et al., 1996; Moreau, 1997). Le caractère durable des altérations observées, qui ne s'estompent pour certaines que progressivement (Mangiacavalli et al., 2001; Maslova et Bulygina, 2002) confère aussi un intérêt certain au modèle.

Le paradigme utilisé dans les expériences présentées dans cette thèse est une variante du modèle mis au point par Willner et adopté chez la souris (Ducottet et al., 2003, 2004; Mineur et al., 2003, 2006; Santarelli et al., 2003; Ducottet et Belzung, 2004; Pothion et al., 2004; Yalcin et al., 2005). Les animaux soumis au modèle sont isolés dans des cages individuelles et subissent quotidiennement pendant une période de 6 à 8 semaines des stress d'intensité légère, plusieurs fois par jour pendant les phases diurnes ou nocturnes, et appliqués de façon semi-aléatoire afin d'augmenter la diversité des stress et l'imprédictibilité du modèle, certains stress pouvant être utilisés en combinaison avec d'autres. Le modèle diffère des autres protocoles utilisés par le fait que certains stress pouvant interférer avec d'autres mesures, comme les privations de nourriture et d'eau, ont été supprimées de la procédure. Le choix de la souris comme espèce offre aussi différents avantages, en particulier la grande diversité des lignées disponibles et la grande variation dans leurs profils phénotypiques. De même que pour la plupart des tests comportementaux et modèles mentionnés, toutes les souches de souris ne sont pas sensibles de la même manière au SCIM et aux antidépresseurs (Ibarguen-Vargas et al., 2008).

La souche BALB/c par exemple montre une grande sensibilité émotionnelle/anxiété, en partie en lien avec l'inefficacité des soins maternels apportés au jeune (Calatayud et Belzung, 2001; Calatayud et al., 2004). Le choix de la souche BALB/c peut donc renforcer la validité de construction du paradigme. En sélectionnant des souches particulières selon les différents aspects de la dépression que l'on souhaite investiguer, le SCIM est donc adapté à l'étude de gènes associés à une vulnérabilité au stress, à des symptômes spécifiques de la dépression et à la résistance au traitement thérapeutique.

En plus d'induire un pattern d'altérations comportementales et physiologiques pouvant mimer certains symptômes observés dans la dépression, une des altérations les plus reproductibles du modèle est une dégradation progressive de l'état du pelage des animaux. Si l'interprétation de ce paramètre peut s'avérer délicate, le toilettage est un comportement important dans le répertoire du rongeur (Berridge et Whishaw, 1992; Kalueff et Tuohimaa, 2005) et qui est sensible au stress (Kametani, 1988; Sachs, 1988; Spruijt et al., 1992). La diminution du toilettage induite par le SCIM pourrait refléter la perte d'intérêt pour des tâches autocentrées quotidiennes que l'on retrouve dans la pathologie. L'état du pelage étant évalué sur toute la durée du protocole, cette mesure est particulièrement utile pour étudier le pattern temporel d'action du traitement antidépresseur.

Au regard de ses différents avantages conceptuels, le SCIM s'avère être un modèle pertinent pour l'étude des mécanismes pathophysiologiques impliqués dans la dépression.

1.5.6. Modèles environnementaux de traitement antidépresseur et de résistance au stress

L'influence de l'environnement, de la personnalité et des schémas cognitifs sur la probabilité de développer un trouble affectif est sans doute bidirectionnelle, si ces composantes peuvent vulnérabiliser l'individu aux effets du stress et la dépression, elles peuvent vraisemblablement lui conférer une protection. Les thérapies cognitivo-comportementales ont montré une certaine efficacité dans le traitement de la dépression et dans la prévention de rechute (Frank et al., 2005).

De la même façon que les modèles animaux de résistance aux antidépresseurs ou de vulnérabilité au stress sont importants pour mieux comprendre la pathologie, les modèles animaux permettant de simuler une protection comportementale à la dépression, ou les modèles animaux d'intervention non pharmacologique peuvent être pertinents pour étudier la biologie de la dépression et mettre au point des traitements innovants. Par exemple il a été montré que l'inhibition conditionnée de la peur (learned safety), un paradigme comportemental capable de prévenir les effets du stress chronique, induisait ses effets comportementaux en partie via des mécanismes distincts de ceux des antidépresseurs conventionnels (Pollak et al., 2008).

L'enrichissement du milieu d'hébergement des rongeurs, par le biais d'une cage plus grande et d'objets divers permettant une stimulation visuo-spatiale, sociale et cognitive plus élaborée, est connu depuis longtemps pour induire des changements neurobiologiques et comportementaux (Hebb, 1947; Diamond et al., 1966). En particulier l'EE chez les rongeurs diminue la réactivité émotionnelle, l'anxiété et la réponse au stress (Manosevitz, 1970; Chapillon et al., 1999; Benaroya-Milshtein et al., 2004; Fox et al., 2006), et a des propriétés antidépresseurs dans différents paradigmes (Laviola et al., 2008; Brenes et al., 2009). Caractériser les changements neurobiologiques induits par l'enrichissement et responsables de ses effets bénéfiques sur les comportements émotionnels pourraient donc être pertinent pour l'étude de la dépression.

2. Bases neurobiologiques de la dépression

Les bases neurobiologiques de la dépression sont variées et impliquent un nombre important d'altérations moléculaires, cellulaires et systémiques. Si les modèles animaux ont permis de mieux appréhender les différents facteurs impliqués dans l'éthiopathogenèse de la dépression, devant la multitude de mécanismes potentiellement impliqués il est difficile d'en tirer une hypothèse biologique intégratrice permettant d'expliquer l'apparition du trouble dépressif. De même, un nombre important de cibles thérapeutiques potentielles ont été mises en évidence ainsi que des mécanismes clés par lesquels les antidépresseurs semblent agir. Cependant là encore ces mécanismes sont multiples et il paraît difficile d'unifier ces données en une théorie intégratrice permettant de préciser un mécanisme commun par lequel les antidépresseurs induiraient la rémission. Il est possible que la dépression constitue un trouble hétérogène pouvant être précipité par des altérations différentes de façon indépendante, et que similairement la rémission soit possible par la modulation de systèmes ou fonctions qui peuvent être indépendantes, et non pas par un mécanisme commun. Ce point est discuté dans **l'annexe 1** (Tanti et Belzung, 2010).

2.1. Altérations morphologiques et fonctionnelles

Les études de neuroimagerie ont mis en évidence chez les sujets dépressifs un certain nombre d'anomalies neuroanatomiques et fonctionnelles dans les réseaux de structures cérébrales qui sous-tendent les fonctions cognitives et émotionnelles. Ces dysfonctionnements sont susceptibles d'être associés à différents aspects symptomatologiques de la pathologie.

Plusieurs circuits corticolimbiques ont été décrits, formés par les connections entre le cortex préfrontal (dorsolatéral, ventrolatéral, dorsomédian et ventromédian), le cortex cingulaire (surtout antérieur, parfois inclus dans le cortex préfrontal notamment chez les rongeurs), le cortex orbito-frontal, l'hippocampe, le striatum ventral, des noyaux thalamiques antérieur et médiodorsal et l'amygdale (Ongür et al., 2003; Drevets et al., 2008). Ces circuits sont aussi connectés à l'hypothalamus et la substance grise périaqueducale qui sont essentiels à l'expression somatique des émotions (Nauta et Domesick, 1984).

Les aires cérébrales les plus communément décrites comme altérées dans la dépression sont le cortex préfrontal (PFC) et le cortex cingulaire antérieur (ACC), en particulier le cortex cingulaire subgénual (cg25), impliqués dans le traitement et l'expérience subjective de l'émotion, ainsi que l'hippocampe et l'amygdale, impliqués dans la formation et le rappel de la mémoire émotionnelle (Drevets, 2000; Ressler et Mayberg, 2007). Une réduction du volume du cg25 a par exemple été mise en évidence chez les patients dépressifs (Botteron et al., 2002; Coryell et al., 2005), cette réduction

est observée dans la pathologie mais de façon intéressante aussi chez les jeunes adultes qui ont un risque familial élevé de développer un trouble dépressif (Hirayasu et al., 1999; Botteron et al., 2002), indiquant un potentiel trait de vulnérabilité. Cette aire cérébrale est entre autre activée pendant l'expérience d'une émotion « triste » et suractivée chez les patients dépressifs (après correction par le volume) (Drevets, 2000). Ces modifications dans le cg25 pourraient être plus particulièrement associées à l'humeur dépressive (Drevets et al., 2008). Différentes classes d'antidépresseurs, mais aussi les thérapies comportementales et la privation de sommeil contrecarrent cette suractivité et de façon intéressante, les niveaux d'activité du cg25 avant le traitement sont un bon prédicteur de l'efficacité thérapeutique de ces différents traitements (Pizzagalli et al., 2001; Saxena et al., 2002; Davidson et al., 2003; Mulert et al., 2007; Salvatore et al., 2009).

Des changements morphologiques (Frodl et al., 2003) et une hyperactivité de l'amygdale, impliquée dans les réponses comportementales et végétatives associées à la peur et l'anxiété, a aussi été décrite de façon consistante chez les patients dépressifs. Cette hyperactivité semble de plus normalisée après un traitement antidépresseur efficace (Sheline et al., 2001; Fu et al., 2004) et serait en lien avec une diminution du contrôle inhibiteur exercé par le cortex préfrontal ou le cortex cingulaire sur son activité (Pezawas et al., 2005; Chen et al., 2008; Almeida et al., 2009).

Des changements d'activité dans le cortex préfrontal ont aussi été rapportés. L'hyperactivation du cortex préfrontal ventro-médian rapporté chez les sujets dépressifs pourrait être associée avec une sensibilité accrue à la douleur, à l'anxiété et à la rumination, alors que l'hypoactivité du cortex préfrontal dorsal chez ces patients pourrait être associée au ralentissement psychomoteur, l'apathie, et des troubles de la mémoire de travail et de l'attention (Rogers et al., 2004).

L'anhédonie étant une composante majeure de la dépression, il n'est pas étonnant que des altérations du circuit cérébral associé à la récompense, au plaisir et à la motivation aient été décrites (Nestler et Carlezon, 2006). Ce circuit ou système mésolimbique inclut le striatum ventral, dont la majeure partie correspond au noyau accumbens (NAcc), ainsi que ses afférences dopaminergiques provenant de l'aire tegmentale ventrale (VTA). Ces structures partagent elles-mêmes des connexions avec l'hippocampe, l'amygdale, le cortex préfrontal et l'hypothalamus, entre autres.

Une diminution de l'activation du NAcc suite à l'exposition à un stimulus positif a ainsi été rapportée chez les patients dépressifs (Epstein et al., 2006). Des dysfonctions dans ce système pourraient être en lien avec la perte de plaisir ressentie par les sujets dépressifs.

L'hippocampe est peut-être la structure qui a été la plus étudiée dans l'étude des bases neuroanatomiques de la dépression. La grande majorité des études et méta-analyses indiquent une diminution du volume hippocampique chez les patients dépressifs, qui peut être corrélée à la

sévérité de l'épisode et la résistance au traitement ainsi qu'à certains polymorphismes génétiques (Campbell et al., 2004; MacQueen et al., 2008; McKinnon et al., 2009). Par contre si ces changements semblent consistants, les résultats des études fonctionnelles ne sont pas unanimes et montrent soit aucune différence d'activité hippocampique chez les sujets dépressifs (Saxena et al., 2002) soit une augmentation (Videbech et al., 2001).

En résumé ces études montrent de nombreuses altérations morphologiques et fonctionnelles chez les sujets dépressifs dans différentes structures impliquées dans le traitement émotionnel et cognitif. L'expression phénotypique de la dépression est vraisemblablement la résultante de modifications au sein de plusieurs circuits cérébraux interconnectés entre eux. Toutes ces structures interagissent en effet entre elles pour sous tendre différents aspects de la pathologie, et plusieurs études ont montré, chez les patients dépressifs ; des modifications de connectivité fonctionnelle au sein de ces circuits (Anand et al., 2005; Pezawas et al., 2005; Chen et al., 2008; Almeida et al., 2009; Cao et al., 2012). L'origine de ces modifications fonctionnelles est vraisemblablement très complexe et semble difficilement modélisable tant les différents facteurs impliqués peuvent être nombreux et interagir entre eux. Plusieurs facteurs ont été décrits comme jouant un rôle majeur dans la pathophysiologie de la dépression et sont susceptibles d'induire ces modifications fonctionnelles, comme des déficiences de neurotransmission (monoaminergique, glutamatergique, GABAergique, peptidergique), un dysfonctionnement de la réponse au stress et de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA), un déséquilibre du système immunitaire, ou des modifications de la plasticité cérébrale (**Figure 5**).

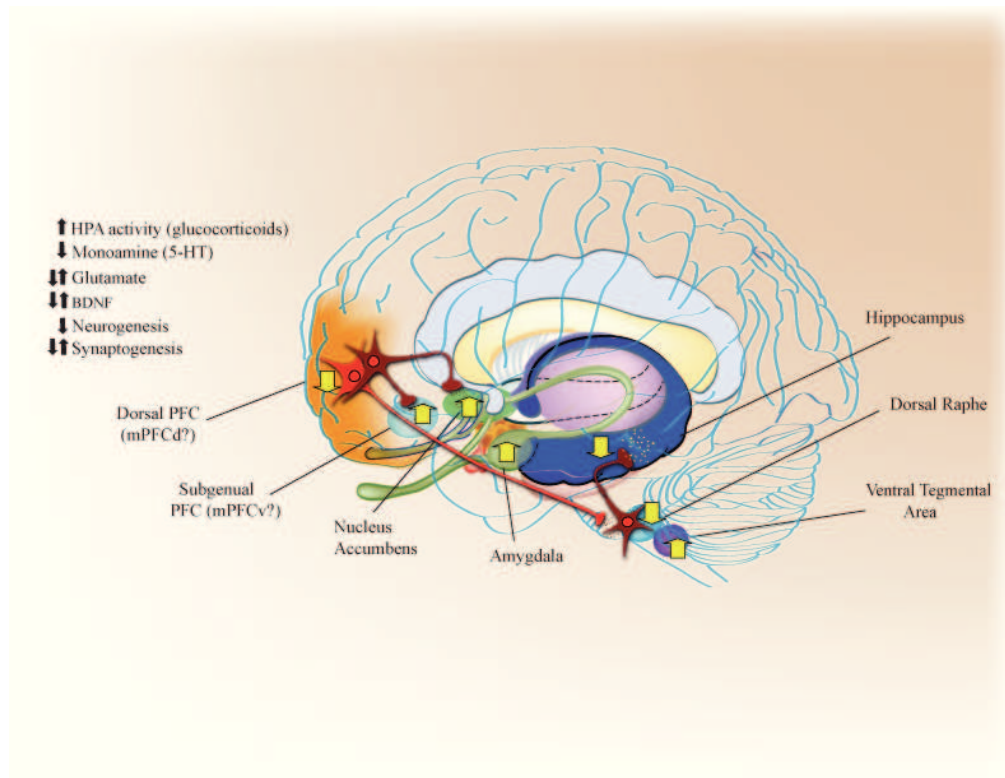


Figure 5. Schéma représentatif des modifications d'activité de différentes régions cérébrales observées dans la dépression. Extrait de Bambico et Belzung (*sous presse*).

2.2. Altérations de la neurotransmission

Les premiers indices de l'implication des monoamines dans la pathophysiologie de la dépression viennent de l'observation que la déplétion en monoamines induite par la réserpine, utilisée à l'époque notamment comme hypotenseur et capable de bloquer le transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT), pouvait parfois induire des symptômes dépressifs chez une faible proportion de patients (Freis, 1954; Schildkraut, 1965). Parallèlement, la découverte que les premiers antidépresseurs augmentaient la disponibilité en monoamines (Carlsson et al., 1969) a contribué à formuler l'hypothèse qu'une déficience en monoamines, particulièrement en 5-HT et NA, pourrait être à l'origine de la dépression (Bunney et Davis, 1965; Schildkraut, 1965; Coppen, 1967; Beskow et al., 1976). Les efférences des neurones sérotoninergiques et noradrénergiques originaires respectivement des noyaux du raphe et du locus coeruleus innervent en effet l'ensemble du cerveau et de la moelle épinière, suggérant que ces systèmes peuvent moduler un grand nombre de fonctions cérébrales et sous tendre au moins en partie les manifestations comportementales et viscérales de la dépression (Nutt, 2002; Goddard et al., 2010).

De nombreuses études ont ainsi mesuré les niveaux de 5-HT et NA ainsi que de leurs métabolites dans le liquide céphalo rachidien, le sang ou l'urine de patients dépressifs, avec cependant une

importante hétérogénéité dans les résultats, en particulier pour les changements associés au système NAergique. Une diminution de la disponibilité en tryptophane (précurseur de la sérotonine) a ainsi été rapportée chez les patients dépressifs (Cowen et al., 1989; Deakin et al., 1990; Maes et al., 1990) ainsi qu'une diminution de son métabolite, l'acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA). Cette diminution de 5-HIAA observée dans certaines études ne semblent pas corrélée à l'intensité des symptômes, mais associée aux comportements suicidaires chez les dépressifs (Gibbons et Davis, 1986; Mann et al., 1996). La majorité des études indiquent cependant qu'il n'y a pas de changement dans la concentration en 5-HT dans les plaquettes sanguines chez les patients dépressifs (Mück-Seler et al., 1996; Jakovljević et al., 1997). Par contre, une diminution de la densité du SERT et de son efficacité ont été rapportés (Meltzer et al., 1981; Kaplan et Mann, 1982). Ces altérations du SERT pourraient être en lien avec certains polymorphismes génétiques, comme celui du 5-HTTLPR connu pour induire une vulnérabilité pour la dépression et associé à différentes altérations fonctionnelles chez les sujets dépressifs.

Des modifications d'activité enzymatique contrôlant la synthèse et la dégradation des monoamines ont aussi été mis en évidence. Une diminution de l'activité de la tryptophane hydroxylase de type 2 a été observée chez des patients dépressifs et semble corrélée à une diminution de la synthèse et donc de la concentration intracellulaire cérébrale de 5-HT (Zhang et al., 2004, 2005). Une autre étude a aussi montré une augmentation de l'activité de la MAO-A chez des sujets dépressifs, pouvant être liée à une dégradation plus importante des monoamines (Meyer et al., 2006).

Les altérations associées au système noradrénergique dans la dépression sont beaucoup moins claires et les résultats très variables. Les études sur les différences de concentrations en métabolites de la NA, comme le 3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) chez les patients dépressifs (Maas et al., 1972; Linnoila et al., 1983; Roy et al., 1986a, 1986b) ou sur les concentrations en NA (Wyatt et al., 1971; Roy et al., 1988; Sevy et al., 1989; Lambert et al., 2000) ont donné lieu à des résultats contradictoires.

Les résultats de ces études n'indiquent pas si des déficiences en monoamines peuvent induire la pathologie et constituent un facteur étiologique de la dépression ou ne sont qu'une conséquence de l'état pathologique. Différentes études ont ainsi testé l'effet d'une déplétion en monoamines sur l'apparition du trouble dépressif, soit par un régime alimentaire exempt de L-tryptophane (acide aminé qui n'est pas synthétisé *de novo* par l'organisme) et conduisant à une déficience en 5-HT, soit en bloquant la synthèse du précurseur de la NA et de la DA (dihydroxyphénylalanine, L-DOPA) en inhibant l'activité de la tyrosine hydroxylase (TH). Il a été montré que ces manipulations n'induisent aucun effet comportemental chez des sujets sains ou des sujets ayant un risque élevé de développer un trouble de l'humeur, et n'aggravent pas la condition des patients dépressifs qui ne sont pas sous

traitement pharmacologique (Delgado, 2000; Ruhé et al., 2007). En revanche ces déplétions induisent une importante rechute chez les patients en rémission après traitement. En particulier la déplétion en tryptophane induit une importante rechute chez les patients traités avec un ISRS, mais n'a pas d'effet chez ceux traités avec un antidépresseur agissant principalement sur la NA comme les ISRN (Delgado et al., 1990, 1999). Inversement la déplétion en NA et DA n'a pas d'effet chez les patients traités avec un ISRS mais induit une rechute chez ceux traités avec un ISRN (Delgado et al., 1993; Miller et al., 1996).

Il semble donc que des déficiences en monoamines n'expliquent pas l'apparition du trouble, alors que l'action thérapeutique des antidépresseurs est bien dépendante de l'augmentation de la transmission monoaminergique. Les modalités d'action des antidépresseurs semblent cependant beaucoup plus complexes, étant donné que l'augmentation des niveaux de neurotransmetteurs induite par le traitement est rapide (quelques heures) comparée au délai d'action thérapeutique des antidépresseurs qui est généralement de plusieurs semaines (Wong et Licinio, 2001; Artigas et al., 2002).

Il semblerait que cette action thérapeutique soit donc dépendante de changements moléculaires et cellulaires durables en aval de la stimulation monoaminergique, induisant des modifications structurelles et fonctionnelles au sein des réseaux cortico-limbiques modulés par les systèmes monoaminergiques. De tels changements ont été étudiés notamment à travers les voies de signalisation intracellulaires activées suite à la fixation de la 5-HT et de la NA à leurs récepteurs respectifs. On retrouve notamment dans la dépression des modifications de concentration ou une atteinte fonctionnelle des différents acteurs de la signalisation intracellulaire, comme certaines protéines G couplées aux récepteurs 5-HT et NA (hormis pour les 5-HT₃), les seconds messagers tel l'inositol ou l'AMP cyclique (AMPc), et le facteur de transcription cAMP response element-binding (CREB) (Avisar et al., 1997; Shimon et al., 1997; Valdizán et al., 2003; Coupland et al., 2005). Inversement, la plupart des classes d'antidépresseurs augmentent l'expression du CREB dans l'hippocampe après traitement chronique mais pas aigu (Nibuya et al., 1996) et la surexpression du CREB peut avoir des effets antidépresseurs chez l'animal (Blendy, 2006). Le facteur de transcription CREB régulant l'expression de différents gènes, notamment du facteur neurotrophique BDNF, ces changements sont susceptibles d'induire d'importants changements structurels et fonctionnels qui pourraient sous tendre certains effets des antidépresseurs. Ces changements transcriptionnels induits par les antidépresseurs ou dans la pathologie ne sont cependant vraisemblablement pas les mêmes dans différentes régions cérébrales (Surget et al., 2009), ce qui est en accord avec le fait que contrairement aux effets observés dans l'hippocampe, les antidépresseurs diminuent l'expression du

CREB dans le noyau accumbens (Chartoff et al., 2009) et l'inhibition du CREB dans cette structure induit des effets antidépresseurs (Newton et al., 2002).

Des changements à long terme dans l'activité ou l'expression de différents récepteurs monoaminergiques ont aussi été décrits. L'effet des ISRS a été associé à la désensibilisation des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} dans le noyau du raphé dorsal (DRN), conduisant à une diminution du feedback inhibiteur exercé par ces récepteurs sur la libération de sérotonine (Blier et de Montigny, 1980; Chaput et al., 1986; Haddjeri et al., 1998; Rainer et al., 2012).

Si des changements d'expression ou fonctionnels des autorecepteurs 5-HT_{1A} ont été décrits chez les patients dépressifs, les résultats sont cependant contrastés, des études indiquant une augmentation de la densité du récepteur dans le raphé dorsal (Stockmeier et al., 1998; Boldrini et al., 2008), tandis que d'autres montrent une diminution de la capacité de liaison de ces récepteurs (Meltzer et al., 2004; Drevets et al., 2007). Une étude récente chez l'animal a cependant montré que des taux élevés d'autorécepteurs 5-HT_{1A} dans le raphé dorsal étaient associés à une augmentation des comportements de résignation dans le FST et une absence de réponse comportementale à la fluoxétine en rapport avec une faible efficacité du traitement à stimuler la neurotransmission sérotoninergique (Richardson-Jones et al., 2010). Des changements dans l'expression et la fonction des récepteurs 5-HT_{1A} post-synaptiques ont aussi abondamment été décrits dans des structures comme l'hippocampe ou le cortex préfrontal. Ces changements semblent associés à une vulnérabilité accrue à la dépression et une réponse diminuée aux antidépresseurs (pour revue: Savitz et al., 2009). Chez l'animal de nombreuses études ont montré que l'invalidation du gène codant pour le récepteur 5-HT_{1A} augmentait les comportements de type anxieux (Heisler et al., 1998; Ramboz et al., 1998; Gross et al., 2000) ou dépressifs-like dans le FST ou le NSF (Santarelli et al., 2003; Klemenhagen et al., 2006; Richardson-Jones et al., 2010). De plus les récepteur 5-HT_{1A} semblent critiques pour l'efficacité des antidépresseurs de type ISRS (Santarelli et al., 2003; Richardson-Jones et al., 2010).

Même si le récepteur 5-HT_{1A} a été le plus abondamment étudié, beaucoup d'autres récepteurs sérotoninergiques ont été incriminés dans la pathologie et les mécanismes d'actions des antidépresseurs (Pour revue, Carr et Lucki, 2011), notamment les récepteurs 5-HT_{2C} et 5-HT_{1B} (**Figure 5**), ces derniers agissant comme autorécepteurs au niveau des terminaisons pré-synaptiques des neurones sérotoninergiques et contrôlant la libération de 5-HT mais aussi en tant qu'hétérorécepteurs exerçant une fonction inhibitrice sur les neurones dopaminergiques (Benloucif et al., 1993), GABAergiques (Bramley et al., 2005; Ase et al., 2008), glutamatergiques (Hashimoto et Kita, 2008; Shen et Johnson, 2008), et cholinergiques (Rutz et al., 2006; Hu et al., 2007). Plus récemment, une étude chez l'animal a montré que les récepteur 5-HT_{2B}, impliqués dans le contrôle de l'activité du SERT et capables de réguler les niveaux de 5-HT dans le cerveau (Doly et al., 2008;

Banas et al., 2011) sont nécessaires pour l'action thérapeutique des ISRSs fluoxetine et paroxetine (Diaz et al., 2012).

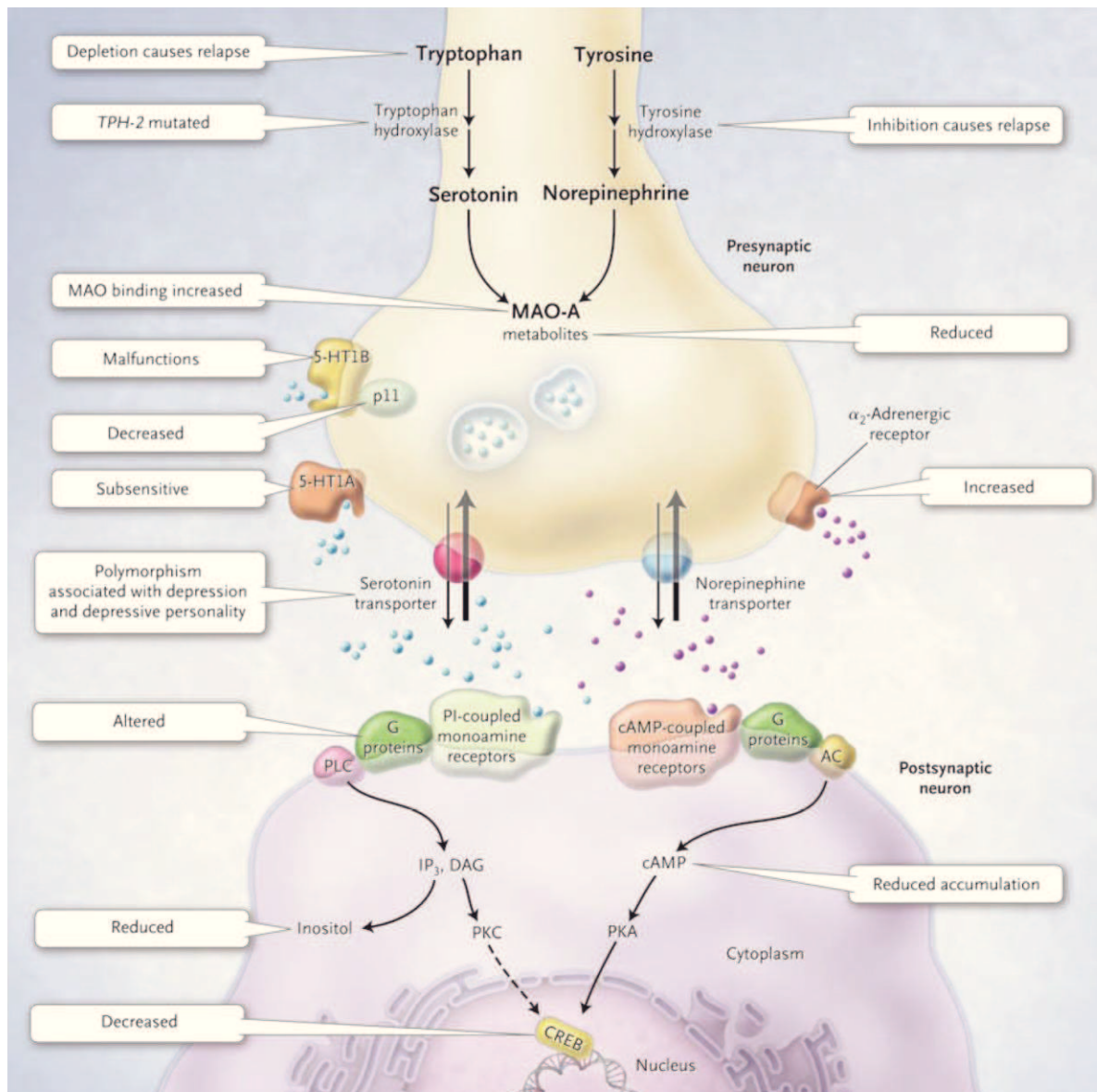


Figure 6. Altérations des systèmes sérotoninergique et noradrénergique dans la dépression.

Exemples d'altérations dans la synthèse, la dégradation et la fonctionnalité des récepteurs et voies de seconds messagers impliqués dans les déficiences des systèmes sérotoninergique (gauche) et noradrénergique (droite) retrouvées dans la dépression. Extrait de Belmaker et Agam (2008).

L'hypothèse initiale stipulant une implication préférentiellement des systèmes 5-HT et NA a cependant évolué. Les différents systèmes monoaminergiques ont des interactions réciproques importantes. A travers différents récepteurs chacun des systèmes 5-HTergique, NAergique et DAminergique est régulé par et régule l'activité des autres systèmes (Millan, 2006; Guiard et al., 2008). Ces systèmes sont en outre modulés par la transmission glutamatergique et GABAergique. Des perturbations d'un système entraînent des altérations globales de la neurotransmission et c'est

vraisemblablement tout un équilibre qui est perturbé dans les troubles de l'humeur, conduisant à l'expression de différentes altérations cognitives et émotionnelles (**Figure 7**).

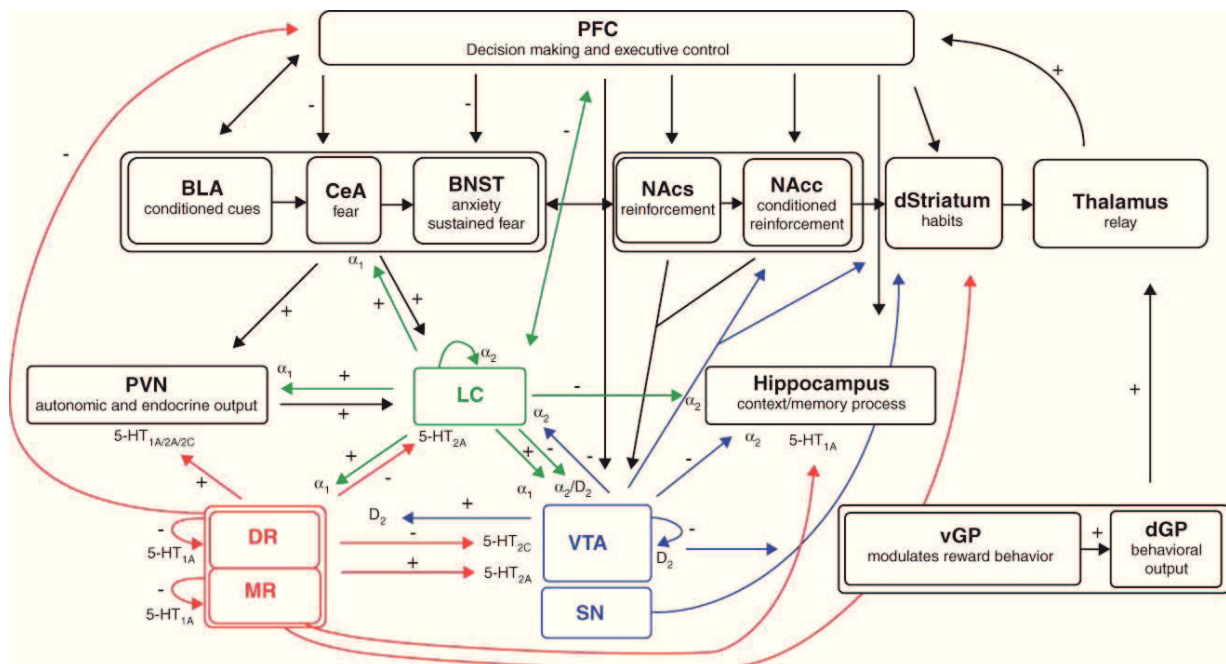


Figure 7. Schéma représentatif de différentes régions impliquées dans la dépression et de leurs connexions monoaminergiques. Les + et – représentent respectivement les connexions excitatrices et inhibitrices du système noradrénergique (en vert), sérotoninergique (en rouge) et dopaminergique (en bleu). Les nombreuses interactions entre ces différents systèmes et les systèmes glutamatergiques et GABAergiques (en noir) suggèrent que les manifestations comportementales de la dépression sont sans doute la résultante d'un déséquilibre global complexe de neurotransmission. Extrait de Prins et al. (2011).

BLA: Amygdale basolatérale; BNST: Noyau du lit de la strie terminale; CeA: Amygdale centrale; DR: noyau dorsal du raphé; dGP: globus pallidus dorsal; LC: Locus coeruleus; MR: noyau médian du raphé; NAcS: Noyau accumbens (coque); NAcc: Noyau accumbens (cœur); dStriatum: Striatum dorsal; PFC: cortex préfrontal; PVN: noyau paraventriculaire de l'hypothalamus; SN: Substance noire; VTA: aire tegmentale ventrale; vGP: globus pallidus ventral.

Même si les cibles des antidépresseurs sont de plus en plus spécifiques, ils affectent un nombre plus large de processus de façon directe ou indirecte et le maintien d'un équilibre fonctionnel est nécessaire à leur action. Par exemple l'invalidation du gène codant pour la dopamine beta-hydroxylase (dbh) qui permet la synthèse de NA à partir de la DA supprime les effets thérapeutiques à la fois de ISRN mais aussi des ISRS (Cryan et al., 2004), indiquant que l'action des IRSS dépend d'une interaction fonctionnelle avec le système NAergique (Baudry et al., 2010).

Les interactions entre les systèmes 5-HTergique et NAergique avec le système DAergique semblent aussi importantes. Par exemple de la même façon que pour la déplétion en tryptophane, l'administration d'un antagoniste des récepteurs DAergiques D_2 comme le sulpiride induit une importante rechute chez les patients traités avec un ISRS sans affecter les sujets sains (Willner et al., 2005). On observe dans le modèle du SCIM une diminution de l'expression et de la sensibilité des

récepteurs D2 dans le NAcc qui est contrecarrée par un traitement antidépresseur avec la fluoxétine ou l'imipramine (Dziedzicka-Wasylewska et al., 1997). De plus le blocage de ce récepteur empêche les ISRS, ISRN, et IRSN de contrecarrer le comportement anhédonique observé chez les animaux exposés au modèle (Muscat et al., 1990, 1992; Sampson et al., 1991).

Les systèmes dopaminergiques méso-limbique et méso-cortical, de par leurs interactions avec les systèmes 5-HTergique et NAergique et leur rôle dans la régulation des comportements hédoniques et le contrôle des fonctions frontales semblent donc aussi impliqués dans la dépression et les effets des antidépresseurs. Ceci est suggéré notamment par la relative efficacité thérapeutique dans la dépression et les troubles bipolaires de composés agissant principalement sur le système dopaminergique comme les agonistes des récepteurs DA2/DA3 (tel le pramipexole) (Goldberg et al., 1999; Corrigan et al., 2000; Sporn et al., 2000; Lattanzi et al., 2002).

Du fait qu'il est le principal neurotransmetteur excitateur du cerveau et régule les systèmes monoaminergiques, le système glutamatergique est aussi une cible particulièrement étudiée dans la dépression et le traitement antidépresseur. La neurotransmission glutamatergique est impliquée dans tous les circuits fonctionnels du système nerveux central (régulations autonomes, boucles sensori-motrices, fonctions cognitives et régulation des émotions). Les antidépresseurs semblent notamment stabiliser la transmission glutamatergique qui est altérée dans différentes structures cortico-limbiques dans la dépression (pour revues: Sanacora et al., 2008; Hashimoto, 2009). En particulier différents sous-types du transporteur vésiculaire du glutamate (VGLUT), essentiels à la transmission glutamatergique, semblent impliqués dans les comportements anxieux, la vulnérabilité au SCIM et la réponse à différentes classes d'antidépresseurs (Moutsimilli et al., 2005; Amilhon et al., 2010; Farley et al., 2012). Les antagonistes des récepteurs glutamatergiques NMDA comme la kétamine ont des effets antidépresseurs chez les patients dépressifs qui sont qui plus très rapides (Zarate et al., 2006). Inversement il semblerait que l'antagonisme des récepteurs glutamatergiques AMPA bloque certains effets de la fluoxétine, et que la potentialisation des effets de ce récepteur ait des effets antidépresseurs dans le modèle du SCIM (Farley et al., 2010).

Des altérations du système glutamatergique pourraient notamment induire les changements de connectivité observés dans les circuits cortico-limbiques chez les sujets dépressifs (Horn et al., 2010) et induire un déséquilibre entre les systèmes de neurotransmission excitateurs et inhibiteurs.

En effet, le système GABAergique, le principal médiateur inhibiteur du système nerveux central et exerçant lui aussi une modulation dans la plupart des régions du cerveau a lui aussi été incriminé dans la dépression (Croarkin et al., 2011). Certains antagonistes des récepteurs GABAergiques ont notamment montré des propriétés antidépressives dans différents modèles animaux (pour revue: Ghose et al., 2011).

Il apparaît finalement que les altérations des systèmes de neurotransmission observées dans la dépression sont extrêmement complexes. L'hypothèse initiale de déficiences en 5-HT et NA a permis de grandement contribuer à une meilleure compréhension du trouble, mais cette hypothèse a peu à peu évolué vers la constatation que les troubles de la neurotransmission ne semblent qu'une partie du problème. En particulier ces troubles semblent plutôt associés à l'état pathologique et ne semblent pas être des facteurs étiologiques inducteurs de la pathologie.

La plupart des antidépresseurs développés depuis les premiers tricycliques et IMAO sont tous basés sur l'augmentation de la disponibilité en monoamines. Cependant s'ils induisent moins d'effets secondaires que les premières générations, leur supériorité en termes d'efficacité thérapeutique n'est pas avérée (Montgomery et al., 2007) et environ 40% des patients ne répondent toujours pas aux différents traitements proposés (Trivedi et al., 2006; Holtzheimer et Mayberg, 2011), indiquant que les mécanismes impliqués dans les effets des antidépresseurs et l'apparition des troubles dépressifs sont vraisemblablement plus complexes et font intervenir d'autres systèmes. Etant donné l'importance du stress dans l'apparition du trouble les recherches se sont notamment tournées vers les dysfonctions de l'axe neuroendocrinien du stress.

2.3. Dysfonctionnements de la réponse au stress

2.3.1. Réponse au stress

La notion de stress fait initialement référence aux stimuli internes et externes à l'organisme, pouvant être physiques ou psychologiques, et qui menacent l'équilibre physiologique vers lequel il tend, appelé homéostasie. La réponse au stress met en jeu la coordination complexe de différents médiateurs afin de préparer l'individu à s'adapter de façon optimale à une situation potentiellement dangereuse. Elle a donc une valeur adaptative très forte et les systèmes physiologiques qui la soutiennent sont fortement conservés chez les mammifères. De façon générale ces systèmes incluent des structures cérébrales cortico-limbiques servant d'interface entre la perception sensorielle et les structures effectrices initiant la libération des médiateurs biologiques de la réponse.

Cette interface va permettre l'appréciation de la situation et du danger que représente le stress sur la base des représentations cognitives de l'individu et de son expérience passée, l'anticipation de ses conséquences et la mise au point d'une stratégie comportementale adaptée dont l'exécution sera facilitée par le système effecteur. Ces structures incluent notamment l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal, formant un circuit essentiel à l'apprentissage et la mémoire, la prise de décision, l'appréciation et l'expression des émotions comme la peur, composante essentielle dans la mise en place d'une réponse adaptée. Des dysfonctionnements dans ces circuits, comme ceux rapportés chez

les sujets dépressifs ou dans les troubles anxieux, peuvent donc avoir des conséquences importantes sur la perception et la réponse au stress. Même si les épisodes de stress auquel nous sommes confrontés n'impliquent généralement pas, en tous cas dans le cadre étiologique de la dépression, une mise en danger immédiate tel que par exemple l'apparition d'un prédateur, mais plutôt des stress psychologiques ou contraintes sociales, les structures impliquées dans la perception et la réponse à ces deux types de stress sont fortement similaires. La réponse au stress ne doit pas en ce sens être perçue comme une réponse réflexe purement physiologique.

Les deux principaux systèmes effecteurs de la réponse au stress sont le système nerveux sympathique et l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA), coordonnés par l'hypothalamus, centre intégrateur des informations liées au stress et sous l'influence de ses afférences cortico-limbiques (**Figure 8**).

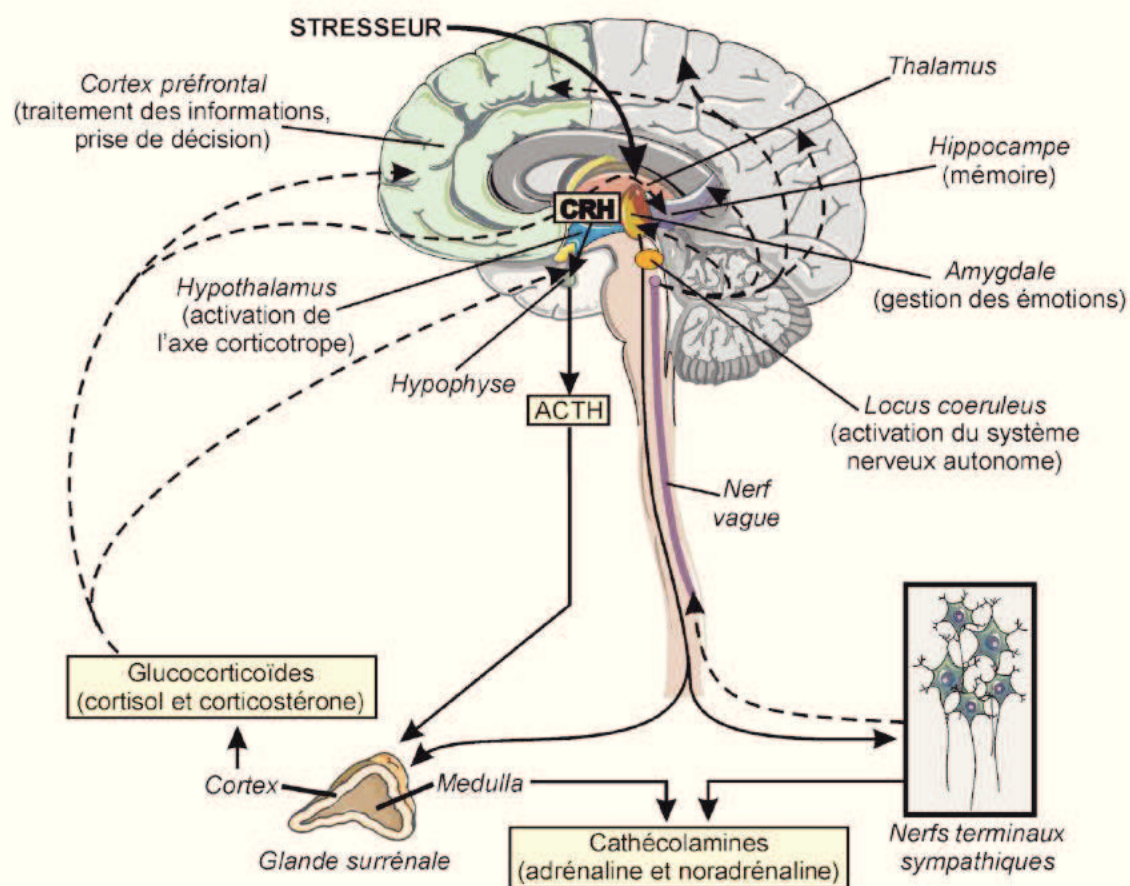


Figure 8. Systèmes effecteurs de la réponse au stress : axe HPA et système nerveux sympathique. Extrait de l'expertise collective INSERM, Stress au travail et santé (2011). CRH : corticotropin-releasing hormone ; ACTH : adrenocorticotropin hormone.

Système nerveux sympathique

L'activation rapide du système sympathique et de la glande médullosurrénale conduisant à la libération de NA et d'adrénaline vont agir en synergie pour faciliter la mobilisation des ressources énergétiques nécessaires à l'action, en augmentant le débit cardiaque, la ventilation pulmonaire, la dérivation de l'irrigation sanguine au profit des régions actives (muscles, cerveau etc) et le métabolisme lipidique et glucidique. En outre, la stimulation des voies NAergiques centrales pourra favoriser la vigilance, les comportements de peur et l'apprentissage.

Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA)

Suite à l'intégration du stress par les circuits cortico-limbiques, l'information est transmise au niveau du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (PVN). Ce noyau possède deux types de neurones : les neurones magnocellulaires qui sécrètent l'ocytocine et la vasopressine, et les neurones parvocellulaires qui sécrètent la vasopressine, l'hormone thyroïdienne (thyrotropin-releasing hormone, TRH) et la corticolibérine (corticotropin-releasing hormone, CRH, ou corticotropin-releasing factor, CRF). Lorsque les neurones parvocellulaires vont être stimulés suite à un stress, le CRH va être libéré dans le système porte hypothalamo-hypophysaire pour rejoindre l'adénohypophyse (hypophyse antérieure) et déclencher la sécrétion dans le système circulatoire sanguin de l'hormone adrénocorticotrope (adrenocorticotropic hormone, ACTH). Cette dernière parvient alors au niveau des glandes corticosurrénales, induisant la libération des hormones corticostéroïdes (principalement le cortisol chez les primates et la corticostérone chez les rongeurs), produit final dans la réponse de l'axe HPA. Ces corticostéroïdes vont agir à la fois en périphérie et sur le système nerveux central à travers les récepteurs de type I ou récepteurs des minéralocorticoïdes (mineralocorticoid receptor, MR) et les récepteurs de type II ou récepteurs des glucocorticoïdes (glucocorticoid receptor, GR).

Au niveau central, les récepteurs aux corticostéroïdes sont exprimés par de nombreux types de neurones dans différentes structures cortico-limbiques comme le cortex préfrontal, l'amygdale et l'hippocampe, et ils sont impliqués dans les fonctions cognitives et émotionnelles. Les hormones corticostéroïdes agissent alors par des actions génomiques assez larges à travers des effets directs ou indirects mais aussi par des actions rapides et non-génomiques (Stahn et Buttgerit, 2008).

Le système HPA n'est cependant pas activé uniquement suite à stress. En situation basale, la libération de corticostéroïdes suit un rythme circadien notamment sous l'influence du noyau suprachiasmatique de l'hypothalamus qui régule l'activité sécrétrice des neurones à CRH de l'hypophyse (Whitnall et al., 1993) mais aussi des modifications dans la sensibilité des glandes

surrénales à la stimulation de l'ACTH (Dijkstra et al., 1996; Ehrhart-Bornstein et al., 1998). On constate une cortisolémie maximale au début de la phase diurne ou active (pour l'homme) qui diminue progressivement pour atteindre son minimum en début de phase nocturne. L'axe corticotrope présente aussi une rythmicité ultradienne chez l'homme comme chez les rongeurs, caractérisée par des pics de sécrétion (1 à 3 par heure) suivis par une cessation de la sécrétion et une clairance rapide des hormones circulantes (Windle et al., 1998).

Le contrôle de l'activité de l'axe HPA est exercé par une boucle de rétrocontrôle négatif initiée par les glucocorticoïdes eux-mêmes par le biais des GR et MR (De Kloet et Derijk, 2004) au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse antérieure mais aussi par le biais de structures centrales comme l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal (Herman et al., 2005). Ces deux récepteurs semblent cependant contribuer différemment au rétrocontrôle du fait de leur affinité différente pour les corticostéroïdes (Reul et de Kloet, 1985). Les GRs ayant une plus faible affinité, ils sont recrutés principalement quand les taux de corticostéroïdes sont hauts, et seraient vraisemblablement les principaux médiateurs dans la terminaison de la réponse de l'axe HPA au stress ou lors des pics d'activité circadiens et ultradiens (Kitchener et al., 2004). Ceci est corroboré par l'action d'agonistes des GRs ayant une faible affinité pour le MR comme la dexaméthasone, dont l'administration induit une diminution importante des taux de corticostéroïdes (Holsboer, 2000). Outre leur rôle essentiel dans l'initiation de la réponse au stress, le CRH et la vasopressine sont aussi impliqués dans ce rétrocontrôle et participent à la régulation de l'axe HPA (Buijs et Kalsbeek, 2001).

L'axe HPA est donc modulé de façon complexe et des dysfonctionnements dans ces processus de régulations peuvent avoir des conséquences comportementales et physiologiques importantes pour l'organisme. Au regard de l'importance du stress dans l'étiologie de la dépression et des interactions complexes entre l'axe HPA et les circuits cérébraux impliqués dans la pathologie, les dysfonctionnements de ce système pourraient avoir un rôle particulièrement important dans la pathophysiologie de la dépression.

2.3.2. Dysfonctionnements de l'axe HPA dans la dépression

Un grand nombre d'anomalies décrites dans la dépression suggèrent que la pathologie est associée à une hyperactivité de l'axe corticotrope (**Figure 9**). En effet, des taux anormalement élevés de cortisol (Burke et al., 2005; Vreeburg et al., 2009), de CRH (Nemeroff et al., 1984; Merali et al., 2006) et de vasopressine (de Winter et al., 2003; Meynen et al., 2006) ont été rapportés chez les

patients dépressifs, ainsi qu'une libération accrue d'ACTH (Mortola et al., 1987) et une augmentation du volume et de l'activité de l'hypophyse et des glandes surrénales (Nemeroff et Vale, 2005).

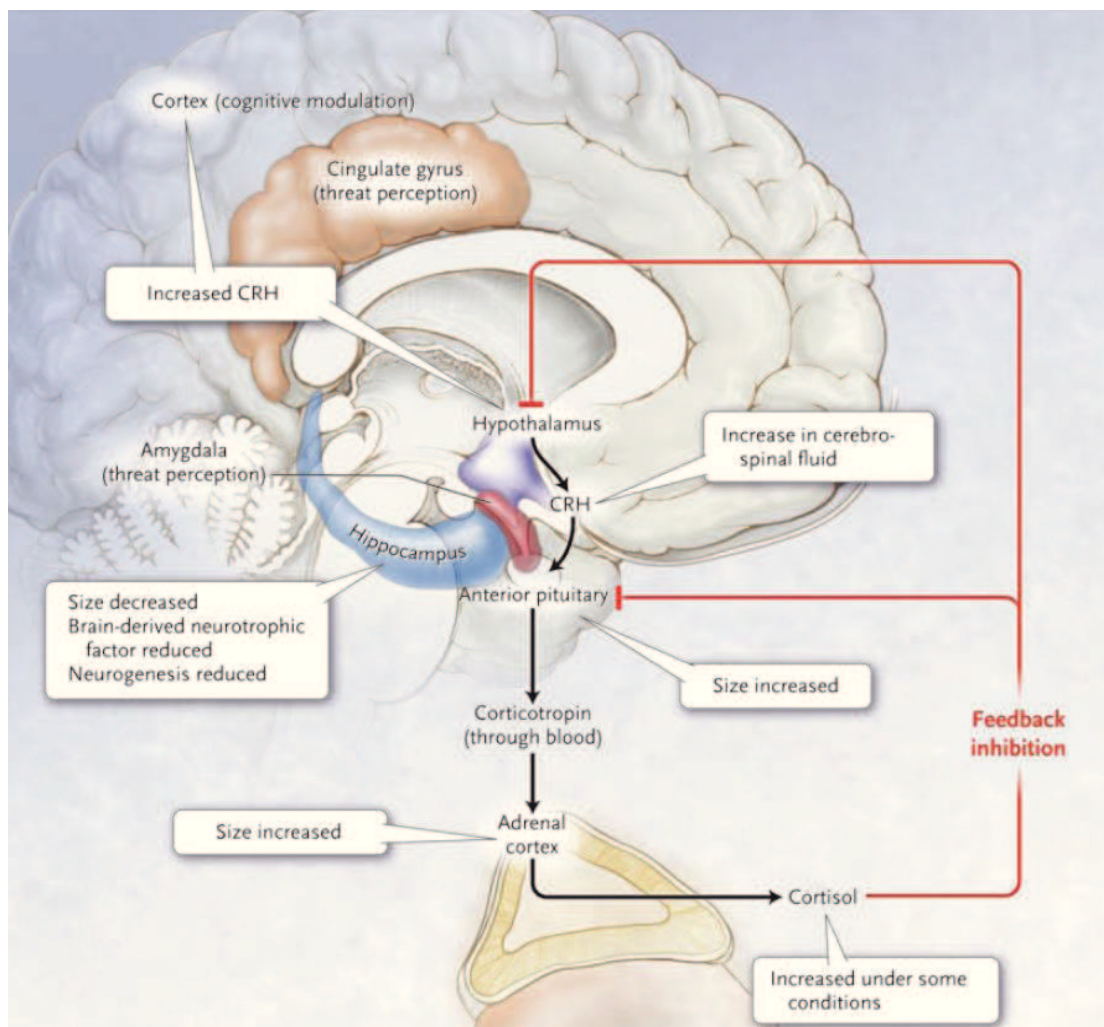


Figure 9. Schéma représentatif des altérations du système HPA associées à la dépression.
Extrait de Belmaker et Agam (2008).

Ces manifestations ayant été observées chez des sujets dépressifs, il est difficile de savoir s'ils sont la cause ou une conséquence de la pathologie, ou bien un facteur de vulnérabilité. Plusieurs études tendent à montrer qu'un certain nombre de facteurs de risque génétiques ou environnementaux pour la dépression sont corrélés avec des modifications de l'axe HPA à l'âge adulte. La séparation maternelle précoce ou des traumatismes pendant l'enfance sont notamment des facteurs prédisposant à la dépression et associés à une hyperactivité durable de l'axe HPA, présente cependant chez les sujets sains comme chez les sujets dépressifs (Heim et Nemeroff, 2002; Tarullo et Gunnar, 2006). L'hyperactivité de l'axe HPA est aussi observée chez des sujets sains mais avec un haut risque familial pour la dépression majeure (Holsboer et al., 1995; Rao et al., 1996) indiquant que cette hyperactivité serait plutôt un facteur de risque. On constate notamment une importante

prévalence des troubles dépressifs chez les sujets atteints d'hypercortisolémie comme le syndrome de Cushing (Carroll et al., 2007). Les modèles animaux basés sur l'administration chronique de CORT ont d'ailleurs montré une réelle efficacité à induire des symptômes dépressifs (Stern et Kalynchuk, 2010) montrant l'importance des dysfonctionnements de l'axe HPA dans l'apparition de la pathologie.

Cette hyperactivité est en partie associée à une diminution dans l'efficacité des processus freinant l'activation de l'axe HPA. Le test de suppression à la dexaméthasone (DST) permet de mesurer l'intégrité fonctionnelle du rétrocontrôle inhibiteur exercé par les glucocorticoïdes sur l'axe HPA. La dexaméthasone étant un agoniste des GR, son administration va induire dans les heures suivantes une diminution de cortisol. L'intégrité du rétrocontrôle peut aussi être mesurée en administrant du CRF quelques heures après la dexaméthasone et en mesurant l'augmentation de cortisol induite par le CRF, qui doit être limitée si le rétrocontrôle est intact. Ces deux tests ont mis en évidence de façon consistante une plus faible efficacité du rétrocontrôle inhibiteur médié par les glucocorticoïdes chez les patients dépressifs (Holsboer, 2000). Le rétrocontrôle s'exerçant à la fois au niveau de l'hypophyse, de l'hypothalamus mais aussi via des structures comme l'hippocampe et le cortex préfrontal, ce test ne permet pas de rendre compte de la localisation de l'atteinte. Chez le rat, il a été montré que la diminution de corticostérone induite par une injection de dexaméthasone directement dans l'hippocampe ou le cortex préfrontal était atténuée chez les animaux soumis à un modèle de dépression comme le SCIM (Mizoguchi et al., 2003); en revanche, l'injection de dexaméthasone dans l'hypothalamus induit une suppression du taux de corticostérone équivalente chez les animaux soumis au modèle de dépression et chez les contrôles. Ces résultats indiquent que l'atteinte du rétrocontrôle inhibiteur de l'axe HPA dans la dépression viendrait principalement d'altérations au niveau des structures cortico-limbiques régulant l'axe HPA.

De façon intéressante, la normalisation de l'activité de l'axe HPA, en particulier le rétablissement d'un feedback inhibiteur fonctionnel, semble un prérequis à la rémission clinique durable, qu'elle soit spontanée ou induite par un traitement antidépresseur pharmacologique ou par ECT (Ribeiro et al., 1993; Holsboer et Barden, 1996; Zobel et al., 2001; Kunugi et al., 2006; Ising et al., 2007).

Les altérations du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA pourraient être induites par des modifications d'expression ou des altérations fonctionnelles des récepteurs aux glucocorticoïdes. Plusieurs études post-mortem ont rapportées une diminution de l'expression du GR au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal ainsi qu'au niveau du PVN et de l'hypophyse chez des sujets dépressifs (Modell et al., 1997; Webster et al., 2002). De plus chez l'homme ou l'animal les traitements antidépresseurs stimulent l'expression et la fonction du récepteur GR (Pariante, 2006). Cette action des antidépresseurs sur les récepteurs pourrait être importante dans leur habilité aptitude à normaliser

l'activité de l'axe HPA. Différents polymorphismes du GR ont notamment été décrits comme influençant la réponse aux antidépresseurs (Binder et al., 2004; Brouwer et al., 2006) ainsi que la réactivité de l'axe HPA et son contrôle inhibiteur (Derijk et de Kloet, 2008). Paradoxalement, les antagonistes des récepteurs GR, comme le mifepristone, semblent avoir une certaine efficacité dans le traitement de certains symptômes des troubles bipolaires ou de la dépression psychotique (Belanoff et al., 2001; Young et al., 2004). Cependant, leur capacité à traiter les symptômes centraux de la dépression est moins établie (Flores et al., 2006). Les résultats chez l'animal sont cependant encourageants (Aisa et al., 2008; Wulsin et al., 2010).

L'hypothèse d'une implication des troubles de l'axe HPA dans la dépression a aussi conduit au développement de différents antidépresseurs agissant sur les différents médiateurs participant à la réponse au stress, comme les antagonistes du récepteur CRH1 ou de la vasopressine V1b. Ces composés ont montré une efficacité thérapeutique dans différents modèles animaux (Ducottet et al., 2003; Alonso et al., 2004; Surget et al., 2008) et en clinique mais avec des résultats contrastés et insuffisants (Binneman et al., 2008; Holsboer et Ising, 2008). Le mode d'action de ces composés n'est cependant pas totalement établi, outre leur rôle dans l'activité de l'axe HPA les neuropeptides comme le CRH et la vasopressine modulent un certain nombre de comportements émotionnels et cognitifs indépendamment de leur action sur l'axe HPA (Müller et al., 2003; Stemmelin et al., 2005; Salomé et al., 2006).

Si l'axe HPA semble être une cible importante dans les mécanismes d'action des antidépresseurs, il est cependant clair que les antidépresseurs peuvent aussi avoir une action thérapeutique indépendamment d'une modulation de l'axe corticotrope. Une étude chez l'animal a notamment montré que l'invalidation des GR dans le cerveau antérieur (affectant principalement les récepteurs hippocampiques et corticaux) induisait un profil dépressif dans le FST et le test de préférence au sucre, mais qu'un traitement chronique avec l'imipramine contrecarrait ces altérations comportementales sans pour autant rétablir la perte de rétrocontrôle inhibiteur induite par l'invalidation des récepteurs (Boyle et al., 2005). Il semble donc que les antidépresseurs peuvent avoir une action thérapeutique via d'autres mécanismes et que la modulation de l'axe HPA n'est pas centrale à leur efficacité.

De plus, même si des altérations de l'axe HPA et une diminution du rétrocontrôle inhibiteur semblent des marqueurs valables dans la dépression, ces altérations ne semblent observées que chez 40 à 60% des patients dépressifs suivant les études (Holsboer, 2000). Il semblerait que ce trait soit associé à des sous types cliniques de dépression, en particulier la dépression mélancolique (Antonijevic, 2006).

Ces altérations constituent possiblement un endophénotype de la dépression et ne suffisent pas en soi à expliquer la pathologie.

Les systèmes monoaminergiques et l'axe HPA sont fortement interconnectés. Des dysfonctionnements de neurotransmission dans les réseaux cortico-limbiques qui sous-tendent les comportements émotionnels et cognitifs sont susceptibles de perturber l'activité de l'axe HPA et la réponse au stress ; inversement les médiateurs de l'axe corticotrope influencent aussi la neurotransmission monoaminergique, glutamatergique et GABAergique. Ces deux systèmes, en particulier l'axe HPA, sont aussi fortement liés au système inflammatoire dont les perturbations sont aussi une composante notable de la dépression (Anisman, 2009). De façon intéressante, ces différents systèmes modulent de façon importante les processus de plasticité neuronale essentiels au fonctionnement dynamique du cerveau, et de nombreuses études tendent à montrer que la dépression est associée à des atteintes globales de la neuroplasticité. Ces altérations pourraient sous-tendre les différentes altérations fonctionnelles et structurelles qui caractérisent le trouble dépressif.

2.4. Altérations de la plasticité neuronale

Le système nerveux central bénéficie d'une importante plasticité qui permet aux réseaux neuronaux d'intégrer et de traiter les informations de façon dynamique (en s'adaptant aux changements et en remaniant leur configuration) et ce depuis le développement jusqu'à l'âge adulte. Ces changements sont produits par l'ensemble des inputs sensoriels, cognitifs, émotionnels et endocriniens. Cette propriété de plasticité est un outil adaptatif fondamental et constitue une interface entre l'individu, son environnement et ses expériences. C'est notamment la base des mécanismes de formation de la mémoire. Ces mécanismes de plasticité incluent de façon générale la plasticité synaptique, permettant le remodelage des connexions entre les neurones (renforcement ou atténuation), la création de nouvelles synapses (synaptogenèse), des changements morphologiques au niveau des terminaisons nerveuses et leur extension, la naissance de nouveaux neurones (neurogenèse) et de cellules gliales ainsi que leur survie.

L'hypothèse d'une importance majeure de la plasticité dans les troubles dépressifs est basée sur plusieurs postulats :

- D'importantes altérations structurelles et fonctionnelles sont présentes dans le cerveau de sujets dépressifs.
- Les facteurs étiologiques ou précipitants de la dépression, comme l'exposition prolongée au stress et les glucocorticoïdes, perturbent un large spectre de mécanismes de plasticité.

- Toutes les classes d'antidépresseurs ainsi que les manipulations comportementales comme l'exercice physique ou l'environnement enrichi stimulent la plasticité cérébrale.
- Le délai nécessaire aux effets bénéfiques des antidépresseurs sur la neuroplasticité semble corrélé à leur délai d'action thérapeutique.
- La stimulation de certains processus de plasticité a des propriétés antidépressives et le blocage de ces processus peut perturber l'action thérapeutique des antidépresseurs.

Plusieurs études ont montré qu'une exposition prolongée aux glucocorticoïdes pouvait entraîner un appauvrissement des extensions dendritiques, une atrophie et une mort neuronale dans l'hippocampe et le cortex préfrontal (Sapolsky, 2000; Radley et al., 2004). Ces changements morphologiques semblent aller dans le sens des observations faites sur des sujets dépressifs, montrant une réduction du volume hippocampique, qui est corrélée avec la durée des épisodes dépressifs (Sheline et al., 1996; MacQueen et al., 2003; Stockmeier et al., 2004). De façon intéressante les traitements antidépresseurs semblent pouvoir réverser ces modifications structurelles induites par le stress dans ces deux régions (Pittenger et Duman, 2008). A l'inverse de l'hippocampe et du cortex préfrontal, le volume et l'activité de l'amygdale sont tous deux augmentés (Sheline et al., 2001; Frodl et al., 2003), et cette augmentation d'activité est corrélée à l'intensité des symptômes (Abercrombie et al., 1998; Drevets, 2003). Chez l'animal, il a été montré que le stress chronique augmente la plasticité synaptique et la croissance des neurones de l'amygdale (Vyas et al., 2003), facilite les apprentissages amygdalo-dépendants comme les apprentissages de peur et augmente les comportements anxieux (Conrad et al., 1999; Vyas et al., 2004). De plus, ces changements structuraux induits par le stress semblent être très durables, puisque l'exposition à un stress prénatal peut même conduire à l'augmentation du volume de l'amygdale à l'âge adulte (Salm et al., 2004). Les traitements antidépresseurs semblent par ailleurs induire le retour à une activité métabolique normale de l'amygdale (Drevets, 2003). Ces résultats soulignent que la plasticité n'est qu'un médiateur du fonctionnement d'une structure et qu'elle peut avoir des effets opposés suivant les régions impliquées.

Une autre observation intéressante est la réduction du nombre de cellules gliales dans le cortex préfrontal médian chez les patients atteints de dépression majeure (Ongur et coll., 1998; Rajkowska et coll., 1999; Cotter et coll., 2001, 2002; Uranova et coll., 2004). Chez l'animal, le stress chronique et l'exposition aux glucocorticoïdes induisent aussi une diminution de la prolifération de cellules gliales dans cette même structure (Banasr et coll., 2007 ; Alonso, 2000). Les cellules gliales sont un support essentiel au métabolisme des neurones, cette diminution pourrait donc nuire à leur intégrité structurelle et fonctionnelle. De plus, les cellules gliales jouent un rôle important dans la synthèse et l'inactivation du glutamate, neurotransmetteur dont l'excès pourrait contribuer à l'atrophie

neuronale et à la perte cellulaire induite par le stress (Sapolsky, 2000 ; 2003). En effet une étude récente a montré que l'inhibition dans le cortex préfrontal du transporteur au glutamate GLT-1, chargé de la recapture du glutamate dans la synapse, était suffisant pour induire un comportement anhédonique (John et al., 2012). Une autre étude avait préalablement montré que l'ablation des cellules gliales dans le cortex préfrontal par infusion de L-alpha-aminoadipic acid (L-AAA), une toxine touchant spécifiquement les astrocytes, était suffisante pour induire un profil dépressif similaire à celui induit par le SCIM dans les tests de préférence au sucre, NSF et FST (Banasz et Duman, 2008).

Au niveau fonctionnel, le stress chronique ou sévère est associée à une altération de la plasticité synaptique dans l'hippocampe, en particulier une diminution de la potentialisation à long terme (LTP) et une augmentation de la dépression à long terme (LTD), correspondant respectivement à la facilitation ou l'atténuation de l'efficacité de communication synaptique et permettant un remodelage dynamique des circuits neuronaux (Kim et Diamond, 2002). Ces altérations sont aussi observées dans les voies de communication entre différentes structures. On observe notamment une diminution de la LTP au niveau des communications hippocampe/cortex préfrontal induite par le stress (Rocher et al., 2004; Cerqueira et al., 2007) qui semble contrecarrée par un traitement antidépresseur (Rocher et al., 2004). Des altérations de plasticité synaptique sont aussi décrites au niveau des communications réciproques entre l'amygdale et le cortex préfrontal (Maroun et Richter-Levin, 2003). L'ensemble de ces atteintes de plasticité synaptique pourraient perturber le traitement de l'information au sein des circuits cérébraux qui sous-tendent les comportements émotionnels et cognitifs.

Différents facteurs régulent de façon directe ou indirecte les mécanismes de plasticité neuronale, parmi lesquelles la transmission monoaminergique, glutamatergique, les glucocorticoïdes, différents neuropeptides ou encore les cytokines etc. Les voies de signalisation intracellulaire associées à la régulation de la neuroplasticité ciblent entre autres de nombreux facteurs trophiques majeurs essentiels pour le développement, le fonctionnement et la survie des neurones, tel que le BDNF. Chez l'animal, il a été montré que différents modèles de dépression et les glucocorticoïdes pouvaient conduire à une diminution de l'expression du BDNF dans l'hippocampe, suggérant une altération de ces voies de signalisation (Rasmusson et al., 2002; Tsankova et al., 2006). Chez l'homme, des observations post-mortem faites chez des sujets dépressifs montrent une diminution de l'expression du BDNF dans l'hippocampe et l'amygdale et une augmentation chez les patients sous traitement antidépresseur (Chen et al., 2001; Karege et al., 2005; Guilloux et al., 2011b). De façon intéressante toutes les classes d'antidépresseurs, y compris l'ECT et la TMS semblent stimuler la synthèse de BDNF dans l'hippocampe (Duman et Monteggia, 2006). Chez l'animal des manipulations environnementales comme l'exercice physique ou l'environnement enrichi, qui ont aussi des

propriétés antidépressives (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Laviola et al., 2008; Martinsen, 2008; Ströhle, 2009) stimulent l'expression du BDNF dans l'hippocampe (Neeper et al., 1996; Rossi et al., 2006; Kobil et al., 2011). De plus l'administration de BDNF dans l'hippocampe ou la surexpression de son récepteur TrkB semblent induire des effets antidépresseurs (Shirayama et al., 2002; Koponen et al., 2005). Il semble donc que la stimulation des processus de plasticité par le BDNF, en particulier dans l'hippocampe, soit un mécanisme important dans l'action des antidépresseurs. Ceci est confirmé par le fait que l'intégrité fonctionnelle du récepteur TrkB est nécessaire à l'action thérapeutique de l'imipramine et de la fluoxétine (Saarelainen et al., 2003).

Finalement, l'invalidation du BDNF spécifiquement dans le gyrus denté de l'hippocampe semble suffisante pour induire une diminution de la préférence au sucrose et une diminution de l'activité dans le FST (Taliaz et al., 2010). Ces différents résultats soulignent le rôle important du BDNF dans l'hippocampe à la fois dans l'étiologie du trouble dépressif mais aussi dans les mécanismes d'actions des traitements antidépresseurs. Le BDNF étant un médiateur important de différents processus de plasticité structurelle et fonctionnelle, des altérations de la neuroplasticité pourraient, en rendant le système nerveux incapable de s'adapter adéquatement à son environnement ou au stress, contribuer à expliquer l'éthiopathogenèse de la dépression. Ces altérations de la neuroplasticité pourraient être le fruit de l'interaction d'une vulnérabilité génétique avec des facteurs environnementaux générateurs de stress, entraînant le développement de troubles dépressifs. Une forme de plasticité qui est stimulée par le BDNF et notamment sous l'influence des systèmes de neurotransmission et des glucocorticoïdes est la neurogenèse, qui regroupe les différentes étapes conduisant à l'intégration fonctionnelle de nouveaux neurones dans le cerveau adulte, en particulier dans le gyrus denté de l'hippocampe. Si la fonction des nouveaux neurones hippocampiques n'est pas encore totalement élucidée, ils semblent contribuer activement à différentes fonctions hippocampiques et de nombreuses études ont établi un lien important entre les troubles affectifs et la neurogenèse, qui sera détaillé dans la deuxième partie de ce manuscrit.

3. Neurogenèse hippocampique et dépression majeure

La neurogenèse est l'ensemble des processus conduisant à l'intégration fonctionnelle de nouveaux neurones à partir de cellules souches neurales (NSC) qui vont proliférer, se différencier en neurones, migrer et acquérir des caractéristiques fonctionnelles afin de s'intégrer au sein des réseaux neuronaux préexistants.

Si la neurogenèse est un processus qui débute pendant le développement embryonnaire, elle subsiste spontanément de façon plus limitée dans des régions spécifiques du cerveau (niches neurogéniques) pendant l'âge adulte, et peut même avoir lieu en réponse à des atteintes du système nerveux, comme des lésions ischémiques. Les deux principales niches neurogéniques dans lesquelles la neurogenèse subsiste sont la zone sous-ventriculaire (SVZ) des ventricules latéraux et la couche sous-granulaire (SGZ) du gyrus denté de l'hippocampe (Altman et Das, 1965; Ming et Song, 2011) (**Figure 10**). Des NSCs ont cependant été décrites dans d'autres régions du cerveau, en particulier la zone sous callosale (Kim et al., 2011), l'hypothalamus (Kokoeva et al., 2005), le neocortex (Gould et al., 1999), le striatum (Luzzati et al., 2006) et l'amygdale (Fowler et al., 2002). Cependant il semblerait que dans ces régions les NSCs aient des capacités limitées à proliférer et à se différencier de façon spontanée (Kim et Sun, 2012).

Les nouveaux neurones issus de la SVZ ne feront pas l'objet d'une description extensive dans ce manuscrit. On peut toutefois noter qu'ils présentent quelques différences dans leurs caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles par rapport aux nouveaux neurones hippocampiques. En particulier contrairement aux neurones hippocampiques qui ne migrent que sur une distance limitée au sein du gyrus denté, les neurones issus de la SVZ migrent en longeant les parois des ventricules latéraux (Doetsch et Alvarez-Buylla, 1996) jusqu'aux bulbes olfactifs où ils achèvent leur maturation et leur intégration en neurones granulaires et periglomérulaires. Si seulement la moitié survivront et deviendront fonctionnels, plusieurs milliers de nouveaux neurones intègrent les bulbes olfactifs chaque jour et différentes études ont mis en évidence la contribution de ces nouveaux neurones dans l'olfaction, en particulier dans la mémoire olfactive (Lazarini et Lledo, 2011).

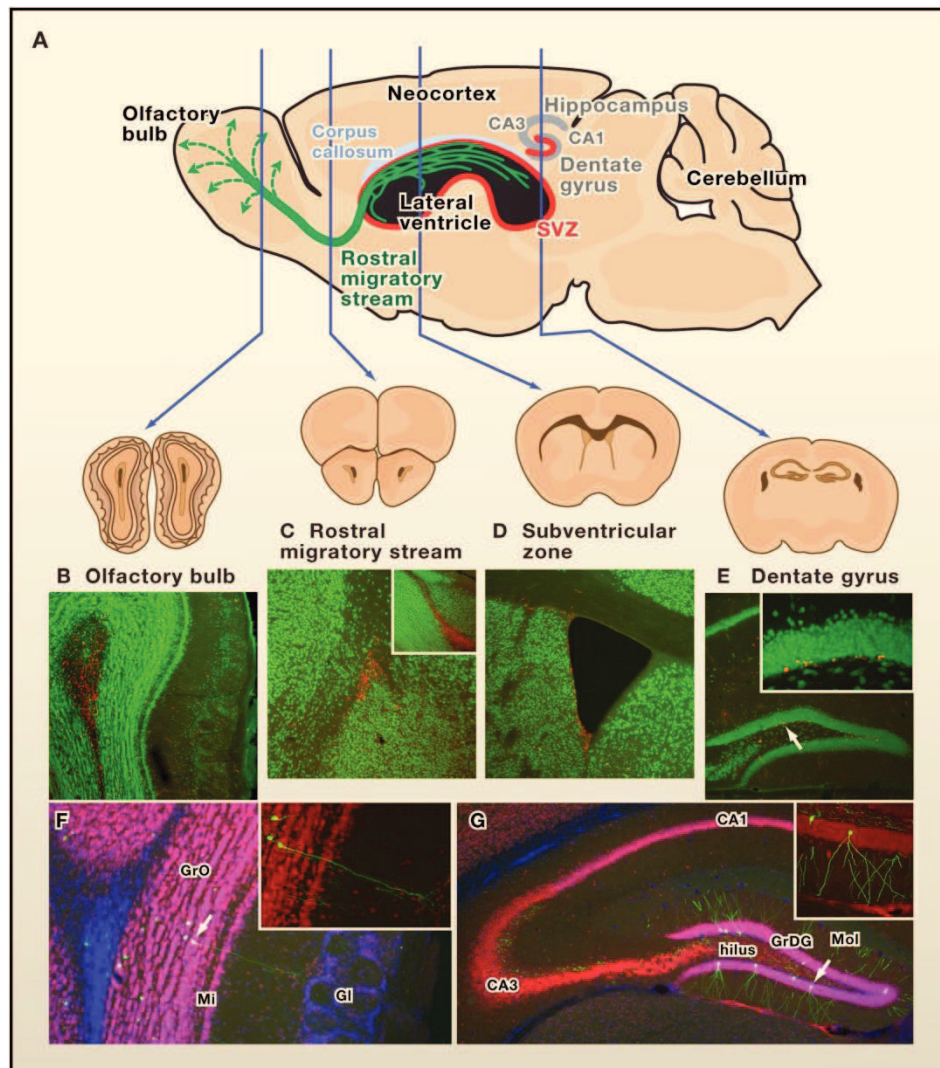


Figure 10. Neurogenèse dans le cerveau adulte. Vues sagittale (A) et coronales (B-G) d'un cerveau de rongeur. Les zones en rouges constituent les principales niches neurogéniques du cerveau : la zone sous ventriculaire (SVZ) d'où les nouveaux neurones (en vert) sont issus et migrent via le flux migratoire rostrale pour atteindre les bulbes olfactifs où ils achèvent leur maturation, et la zone subgranulaire du gyrus denté de l'hippocampe. (B-E) Les nouveaux neurones visualisés par marquage au BrdU dans les bulbes olfactifs (B), le flux rostralmigratoire (C), la SVZ (D) et le gyrus denté (E). (F et G) Nouveaux neurones visualisés dans les bulbes olfactifs (F) et le gyrus denté (G) par l'expression de la « green fluorescent protein » (GFP) induite par l'injection d'un rétrovirus. Extrait de Zhao et al. (2008).

Afin de mieux appréhender les mécanismes de régulation et l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones au sein du réseau hippocampique nous décrivons brièvement dans un premier temps l'organisation anatomique de l'hippocampe.

3.1. Organisation anatomique de l'hippocampe

3.1.1. Description générale

Différentes régions du lobe temporal médian constituent un regroupement fonctionnel appelé région hippocampique. Sur la base de leur architecture cellulaire et de leur connectivité on distingue la formation hippocampique des régions parahippocampiques. La formation hippocampique (ou plus généralement l'hippocampe) est constituée du gyrus denté (DG), de la corne d'Ammon (champs ammoniens CA1, CA2 et CA3) et du subiculum. La région parahippocampique inclut quant à elle le cortex entorhinal, perirhinal, et postrhinal ainsi que le présubiculum et le parasubiculum.

L'organisation des régions hippocampiques est particulièrement complexe (**Figure 11**). La formation hippocampique chez le rongeur apparaît en forme de C renversé qui s'étend à la fois selon un axe rostro-caudal et un axe dorso-ventral à partir des noyaux du septum jusqu'à la base du lobe temporal. Cette orientation est plus communément appelé l'axe septo-temporal de l'hippocampe.

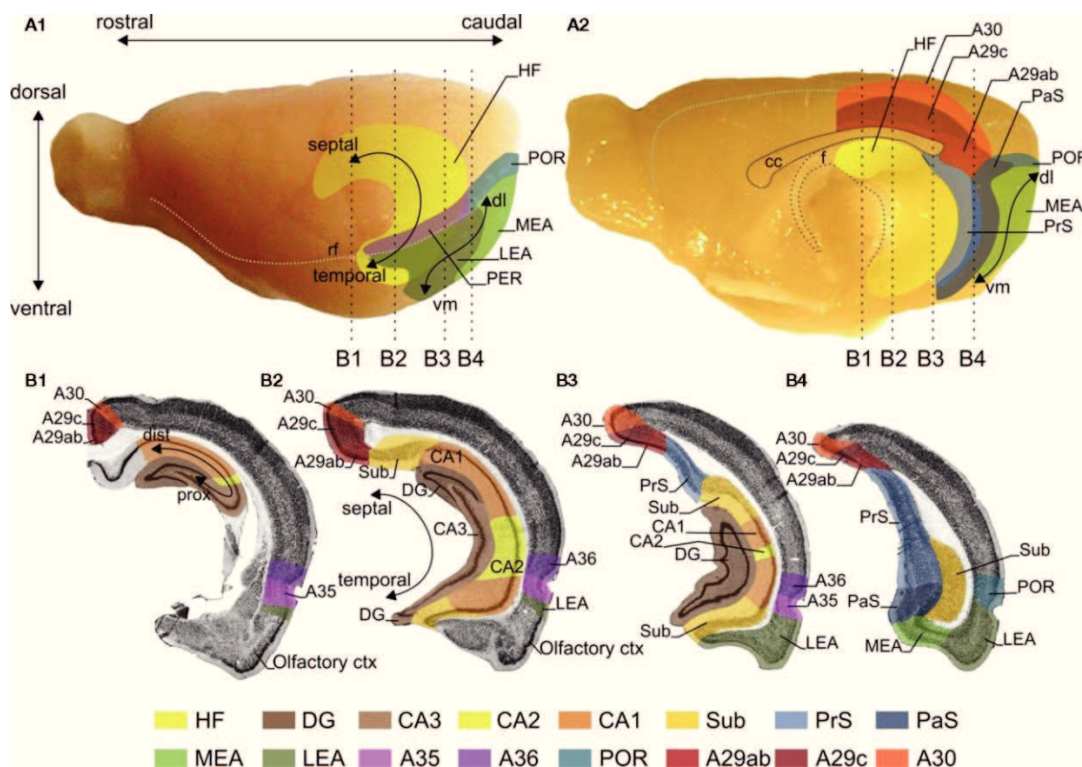


Figure 11. Organisation anatomique de l'hippocampe. Vues latérale (A1) et sagittale (A2) d'un cerveau de rat. La formation hippocampique (HF) est constituée du gyrus denté (DG), des champs ammoniens CA1, CA2 et CA3 ainsi que du subiculum (Sub). La région parahippocampique (PHR) inclut le présubiculum (PrS), le parasubiculum (PaS), le cortex entorhinal constituée des divisions latérale (LEA) et médiale (MEA), le cortex périrhinal (PER, constitué des aires A35 et A36 de Brodmann) et le cortex postrhinal (POR). Sur la figure sont aussi représentées les aires A29ab, A29c et A30 constituant le cortex rétrosplénial (situé au-dessus du corps calleux, cc) qui ne fait pas partie de l'hippocampe mais partageant des connexions importantes avec la région parahippocampique. La fissure rhinale (rf), parfois utilisée pour ségréguer les parties septales et temporales de l'hippocampe est indiquée dans A1. (B1-B4) Sections coronales dont les niveaux sont indiqués en A1 et A2 permettant de visualiser l'organisation interne des différentes sous régions de l'hippocampe. Extrait de (Sugar et al., 2011).

Les patterns de connectivité extra-hippocampiques diffèrent sensiblement entre les régions septales et temporales de la formation hippocampique, cependant l'organisation des circuits intra-hippocampiques et l'architecture cellulaire des différentes régions de l'hippocampe sont relativement similaires tout au long de l'axe septo-temporal. Les différences anatomiques et fonctionnelles entre ces deux parties ne seront donc abordées que dans la troisième partie du manuscrit.

3.1.2. Organisation cyto-architecturale et circuit intra-hippocampique

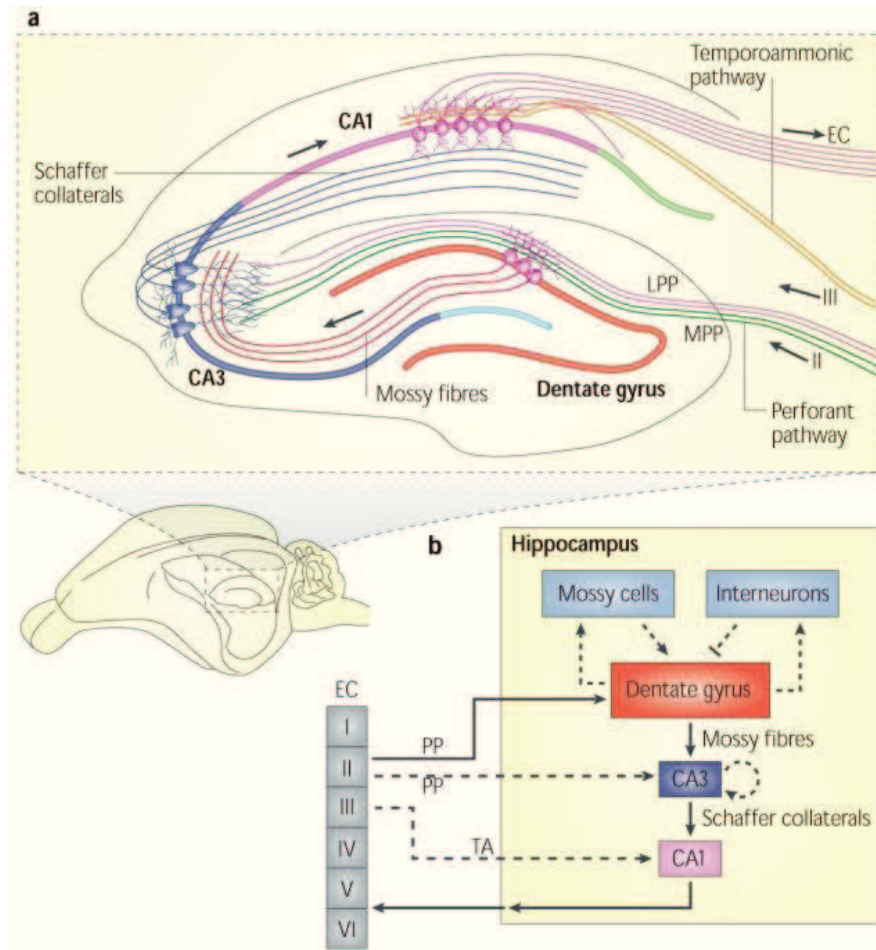
La majorité des neurones de l'hippocampe sont glutamatergiques, parmi lesquels on distingue cependant deux types cellulaires principaux, les cellules granulaires qui forment la couche granulaire du gyrus denté, et les cellules pyramidales des champs ammoniens et du subiculum. Ces types cellulaires sont disposés en couches radiales abondamment interconnectées. Une population plus limitée (environ 10 à 15% de la population cellulaire de l'hippocampe) de neurones GABAergiques est présente dans différentes couches de l'hippocampe et contribuent localement à la régulation des circuits hippocampiques.

3.1.2.1. Voies d'entrées

La principale voie d'entrée de l'information dans l'hippocampe est le cortex entorhinal. L'information en provenance des cortex associatifs visuels, auditifs ou somatiques parvient d'abord à la région parahippocampique du cortex, puis passe au cortex entorhinal. Le cortex entorhinal en retour projette vers le gyrus denté (dont il constitue la principale source d'information), les CA et le subiculum.

Le circuit intra-hippocampique le plus simple et le plus souvent décrit (**Figure 12**) est constitué d'une voie principale excitatrice trisynaptique mettant en jeu 4 groupes de neurones : les cellules des couches superficielles du cortex entorhinal projettent leurs axones, formant la voie perforante, vers le gyrus denté pour contacter les dendrites des cellules granulaires. Les axones des cellules granulaires, les fibres moussues, contactent les cellules pyramidales du CA3 qui, à leur tour, envoient des axones, appelés collatérales de Schaffer, vers l'aire du CA1. Les cellules pyramidales de CA3 sont en outre interconnectées entre elles du côté ipsilatéral grâce aux collatérales récurrentes mais également avec le CA3 contralatéral. Par ailleurs le cortex entorhinal projette aussi directement vers CA3 par la voie perforante. Le passage dans le gyrus denté du circuit trisynaptique s'apparente donc à une voie de dérivation qui de par les caractéristiques uniques des fibres moussues permettrait de moduler l'activité intrinsèque de l'hippocampe.

Le subiculum reçoit aussi un certain nombre d'afférences corticales en provenance du cortex cingulaire antérieur et du cortex rétrosplénial ainsi que sous-corticales issues de l'amygdale, du septum et des structures thalamiques.



3.1.2.2. Voies de sortie

Le cortex entorhinal, en plus d'être la principale voie d'entrée du circuit hippocampique, est également une voie de sortie majeure avec le subiculum. Le cortex entorhinal reçoit un grand nombre de projections en retour des circuits intra-hippocampiques et envoie des efférences

corticales et sous corticales vers un grand nombre de régions de façon directe ou via les cortex perirhinal et postrhinal. Ces régions incluent les différentes aires sensorielles primaires et associatives, le cortex olfactif, prélimbique (préfrontal), orbitofrontal et rétrosplénial, ainsi que le septum latéral, l'amygdale et le noyau accumbens.

Le subiculum, qui reçoit ses principales entrées hippocampiques du CA1 et des régions parahippocampiques avec lesquelles il est interconnecté, est également une voie de sortie majeure de l'hippocampe. En particulier il projette à destination des cortex prélimbique et infralimbique, du cortex cingulaire et du cortex rétrosplénial ainsi que vers un grand nombre de structures sous corticales comme les noyaux du septum, le noyau du lit de la strie terminale (BNST), les régions hypothalamiques et le thalamus.

3.1.2.3. Le gyrus denté

Les corps cellulaires des neurones granulaires du gyrus denté forment une couche dense appelée la couche granulaire. On estime le nombre de cellules granulaires à un million chez le rat (Amaral et al., 1990). Leurs dendrites apicales se ramifient au niveau de la couche moléculaire où arrivent les afférences du gyrus denté. Les axones des cellules granulaires se ramifient et sont rassemblées au niveau de la couche polymorphique (ou hilus) pour former les fibres moussues qui projettent et font synapse avec les neurones pyramidaux du CA3. Par ailleurs les fibres moussues génèrent des collatérales qui font synapse avec une quantité importante d'interneurones GABAergiques et de neurones glutamatergiques (cellules moussues) présents dans l'hilus et exerçant un contrôle régulateur sur l'activité intrinsèque du gyrus denté (**Figure 12**). Les cellules moussues projettent notamment vers les cellules granulaires du gyrus denté contralatéral.

Si les seules afférences intra-hippocampiques du gyrus denté proviennent du cortex entorhinal, le gyrus denté reçoit un nombre important d'afférences extrinsèques (**Tableau 3**) en provenance du septum (afférences cholinergiques et GABAergiques), du locus coeruleus (afférences noradrénergiques), des noyaux du raphé (afférences sérotoninergiques), de l'aire tegmentale ventrale et de la substance noire (afférences dopaminergiques) (Zhao et al., 2008).

Neurotransmitters or neural peptides	anatomical source	target area in DG
Acetylcholine	Septum	hilus and mol
Cholesystokinin	Entorhinal cortex	mol
Enkephalin	Entorhinal cortex	mol
Dopamine	Ventral tegmental area	hilus, GCL and mol
Gamma aminobutyric acid (GABA)	Septum	hilus
Glutamate	Entorhinal cortex	hilus, GCL and mol
Norepinephrine	Locus coeruleus	hilus
Serotonin	Median raphe nucleus	hilus
Substance P	Supreamammillary region	inner third of mol

Tableau 3. Afférences vers le gyrus denté. DG : gyrus denté ; GCL : couche granulaire. Extrait de (Zhao et al. (2008).

C'est à l'interface entre la couche granulaire et l'hilus que se trouve la couche sous-granulaire (SGZ) qui est avec la SVZ une des deux principales niches neurogéniques du cerveau adulte. On estime à une dizaine de milliers le nombre de nouveaux neurones générés chaque jour dans le gyrus denté du rongeur (Cameron et McKay, 2001). La SGZ constitue un microenvironnement hautement vascularisé (Palmer et al., 2000) où les cellules souches neurales ont des contacts étroits avec les cellules endothéliales, les astrocytes et la microglie. Via certains facteurs qu'ils sécrètent, en particulier différents facteurs de croissance, les astrocytes et les cellules endothéliales favorisent la prolifération, la différenciation, la migration et l'intégration des progéniteurs (Suh et al., 2009). La SGZ constitue donc un environnement cellulaire et moléculaire permissif pour la production de nouvelles cellules granulaires, hautement régulé et sous l'influence directe des systèmes monoaminergiques (**Figure 13**)

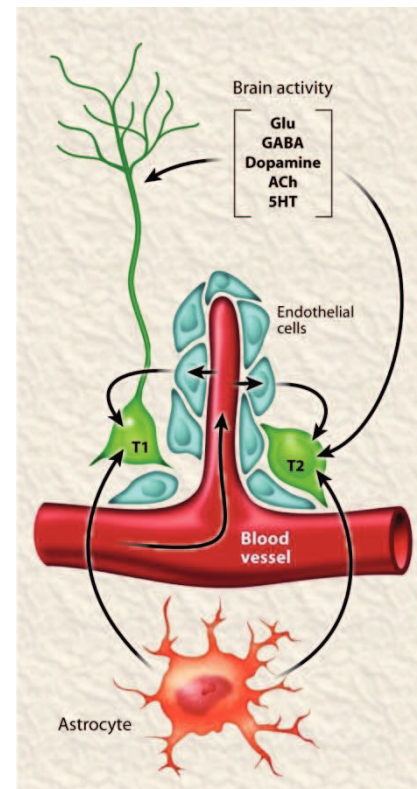


Figure 13. Niche neurogénique de la zone subgranulaire du gyrus denté. La couche subgranulaire constitue un environnement hautement vascularisé où les cellules souches neurales (T1 et T2) sont sous l'influence de nombreux signaux provenant des astrocytes, cellules endothéliales et des principaux systèmes de neurotransmission. Extrait de (Suh et al., 2009).

3.2. Neurogenèse hippocampique

3.2.1. Cellules souches et précurseurs neuraux

Une cellule souche est définie par 1) sa capacité à proliférer et s'auto-renouveler par divisions symétriques en produisant deux cellules souches filles et 2) sa capacité à générer par divisions asymétriques des progéniteurs plus différenciés capables de proliférer transitoirement et d'adopter des phénotypes cellulaires différents (cellules multipotentes). Si l'existence de NSCs dans le cerveau adulte a largement été décrite *in vitro* et *in vivo*, ce n'est que récemment que leur caractère multipotent et leurs capacités d'auto-renouvellement ont été réellement mis en évidence *in vivo* (Bonaguidi et al., 2011; Song et al., 2012). De ce fait, le terme de cellule souche a souvent été remplacé au profit du terme plus générique de précurseur neural. Chez les mammifères au stade

adulte ces NSCs peuvent donner naissance majoritairement à des neurones (75% des cellules produites), principalement des cellules granulaires glutamatergiques mais aussi des interneurones GABAergiques (Liu et al., 2003), ainsi que des astrocytes et des oligodendrocytes (Steiner et al., 2004).

Sur la base de leurs propriétés morphologiques et de l'expression de différents marqueurs endogènes deux types de précurseurs ont été identifiés dans la SGZ du cerveau adulte. Les premiers précurseurs décrits (cellules de type-1) ont des caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques proches des astrocytes, de type glie radiale, avec des « pieds vasculaires » en contact avec les capillaires sanguins et un prolongement apical développé traversant la couche granulaire et atteignant la couche moléculaire du gyrus denté (Filippov et al., 2003). Bien que présentant des caractéristiques communes avec les astrocytes et exprimant notamment des marqueurs gliaux comme le « glial fibrillary acidic protein » (GFAP) ou le transporteur au glutamate (GLAST), ils représentent une population à part et n'expriment pas le marqueur astrocytaire mature S100 β (Doetsch, 2003). Ils expriment en revanche d'autres marqueurs spécifiques non exprimés par les astrocytes, en particulier nestin, notch1, MUSASHI-1, sox2 ou la « brain lipid binding protein » (BLBP).

Le modèle linéaire établi (Seri et al., 2004) est que ces premiers précurseurs génèrent les précurseurs de type-2 (ou progéniteurs intermédiaires) qui n'expriment plus des caractéristiques gliales ni le marqueur GFAP mais toujours nestin et sox2 (Encinas et Enikolopov, 2008), entre autres, et génèrent à leur tour les neuroblastes. Le lien entre les précurseurs de type-1 et de type-2 n'est cependant pas clair et il n'est pas réellement établi que les cellules de type-1 constituent l'unique source de NSCs de la SGZ. En effet, outre le fait que les précurseurs de type-2 ont été décrits comme ayant à la fois des capacités d'auto-renouvellement et la capacité de générer des nouveaux neurones ou astrocytes, ils sont aussi capables de générer des cellules de type-1 (Suh et al., 2007). Il est donc possible qu'un lien réciproque existe entre ces deux populations et que plusieurs types de précurseurs cohabitent au sein de la SGZ (Lugert et al., 2010). En particulier, de par la faible activité proliférative des cellules de type-1 comparé aux cellules de type-2 (95% des cellules nestin+ en prolifération sont de type-2) (Kronenberg et al., 2003) les NSCs de type glial pourraient constituer une population quiescente de « réserve » éventuellement modulable en fonction de la demande environnementale et d'inducteurs exogènes. Une étude récente a notamment mis en évidence que l'activation des récepteurs GABA_A des NSCs de type-1 par une sous-population d'interneurones (exprimant la parvalbumin) du gyrus denté maintenait un état de quiescence chez les précurseurs de type-1 et que l'inactivation du récepteur entraînait une augmentation de l'activité proliférative par divisions symétriques des cellules (Song et al., 2012). Il semble par ailleurs que des manipulations environnementales comme

l'enrichissement ou l'isolement sociale puissent moduler le fait que les NSCs se divisent en produisant de nouvelles NSCs ou en se différenciant en neurones (Dranovsky et al., 2011).

Après une série de divisions, les précurseurs de type-2 vont générer les neuroblastes (type-3), qui n'expriment plus les marqueurs de précurseurs comme la nestin mais maintiennent un pouvoir de prolifération important. Ils perdent cependant leur propriété multipotente et ne pourront générer que des nouveaux neurones. L'apparition du phénotype neuronal est caractérisée par l'expression de différents marqueurs spécifiques comme la PSA-NCAM, neuroD, et la doublecortin (DCX), dont l'expression est associée à la différenciation neuronale et au début de la migration des nouveaux neurones au sein de la couche granulaire (Francis et al., 1999). Le passage au stade post-mitotique et la sortie du cycle cellulaire est marquée par l'expression de marqueurs spécifiques comme le NeuN et la calrétinin (Brandt et al., 2003). C'est pendant leur migration, qui peut durer deux à trois semaines, que les nouveaux neurones entament leur maturation et leur intégration fonctionnelle et commencent à présenter des caractéristiques de neurones matures 6 à 8 semaines après les premières divisions des précurseurs. Ils expriment alors des marqueurs plus tardifs, en particulier la calbindin (**Figure 14**).

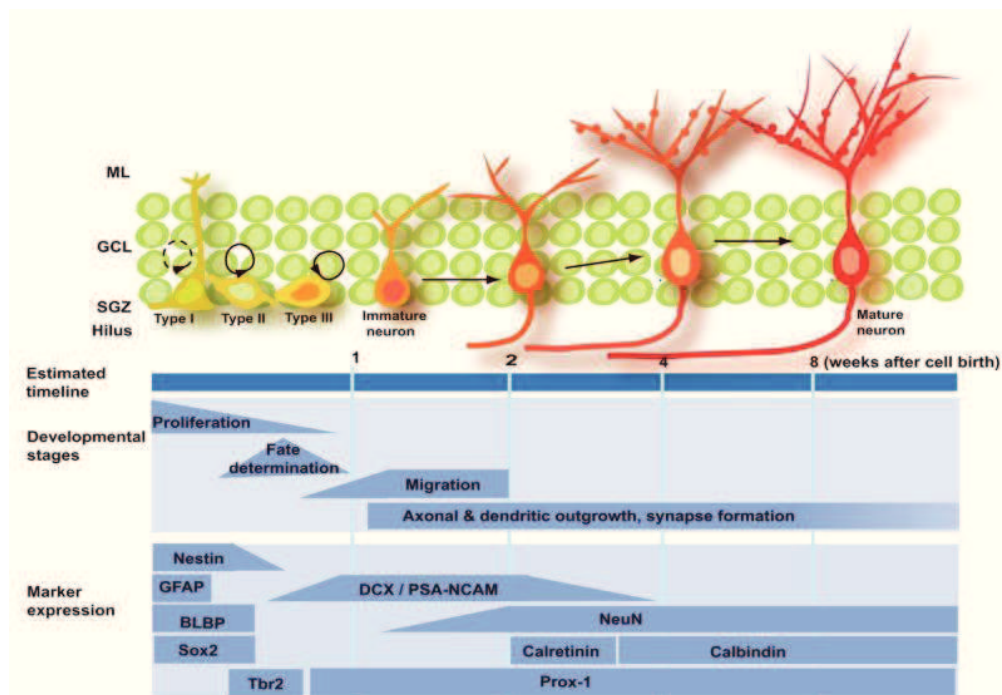


Figure 14. Schéma représentatif des différentes étapes conduisant à la production de nouveaux neurones. L'expression de marqueurs spécifiques en fonction du stade développemental des précurseurs et nouveaux neurones est indiquée sous l'illustration. Extrait de Duan et al. (2008).

L'expression de ces marqueurs spécifiques pendant le développement des nouveaux neurones a permis la mise au point d'outils génétiques et immunohistochimiques permettant la visualisation et quantification des différentes sous populations neuronales.

3.2.2. Intégration et maturation fonctionnelle des nouveaux neurones

Sur le plan électrophysiologique et fonctionnel la maturation et l'intégration des nouveaux neurones suit un schéma caractéristique (**Figure 15**). Même s'ils sont initialement dépourvus de connexions synaptiques, les précurseurs et neuroblastes expriment déjà des récepteurs GABAergiques et glutamatergiques. Via les récepteurs GABA_A ils sont notamment sous l'influence d'une activation tonique par le GABA extrasynaptique qui module de façon importante leur activité proliférative et le développement des nouveaux neurones (Ge et al., 2006; Song et al., 2012). Le fait que le GABA soit initialement excitateur chez les neurones immatures est une caractéristique unique, possiblement due à une accumulation en ions Cl⁻ liée à un pattern d'expression spécifique des co-transporteurs ioniques Na-K-2Cl (NKCC1) et K-Cl (KCC2) chargés de transporter les ions Cl⁻ respectivement dans et en dehors de la cellule (Owens et Kriegstein, 2002; Blaesse et al., 2009). A mesure qu'ils deviennent plus matures des changements fonctionnels des transporteurs aux ions Cl⁻ surviennent qui vont petit à petit rétablir l'inhibition GABAergique (Ben-Ari, 2002).

Le développement axonal et dendritique commence à la deuxième semaine de développement au moment de la différenciation post-mitotique des nouveaux neurones (Hastings et Gould, 1999; Ambrogini et al., 2004). Les premières connexions synaptiques qu'ils établissent sont des inputs dendritiques GABAergiques (Overstreet Wadiche et al., 2005; Markwardt et al., 2009). Après deux à trois semaines, la mise en place d'une transmission excitatrice glutamatergique fonctionnelle commence avec la formation de synapses au niveau des dendrites apicales des neurones immatures (Zhao et al., 2006; Toni et al., 2007). Les nouveaux neurones vont ainsi être capables d'émettre des courants post-synaptiques suite à une stimulation de la voie perforante, la principale afférence excitatrice du gyrus denté (Mongiat et al., 2009). Parallèlement, leurs axones commencent à établir des connexions avec les interneurons de l'hilus et les dendrites des cellules pyramidales de CA3 (Faulkner et al., 2008; Ide et al., 2008). Ils deviendront finalement pleinement matures et intégrés au bout de 8 semaines et présenteront des caractéristiques morphologiques et électrophysiologiques indissociables des neurones matures. Cependant ces différentes étapes de maturation ont principalement été décrites chez la souris ou le rat et la durée nécessaire à l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones semble être variable entre les espèces (Bonfanti et Peretto, 2011).

Pendant leur développement les nouveaux neurones ont des caractéristiques électrophysiologiques uniques comparé aux neurones matures qui pourraient sous tendre une implication particulière dans le codage de l'information. En particulier avant 3 semaines ils sont dépolarisés par le GABA, entre 2 et 4 semaines ils sont plus excitables et ont un seuil d'initiation de la PLT plus bas, présentent une plus grande amplitude de LTP en réponse à une stimulation de la voie perforante, liée à l'augmentation transitoire des récepteurs NMDA présentant la sous unité NR2B (Ge et al., 2007) et ne reçoivent des inputs GABAergiques perisomatiques qu'au bout de 4 semaines de développement (Espósito et al., 2005). Ces propriétés indiquent de façon générale une plus grande excitabilité des nouveaux neurones pendant des fenêtres critiques de développement. Il est aussi vraisemblable qu'ils présentent des propriétés uniques au niveau des connexions synaptiques avec CA3.

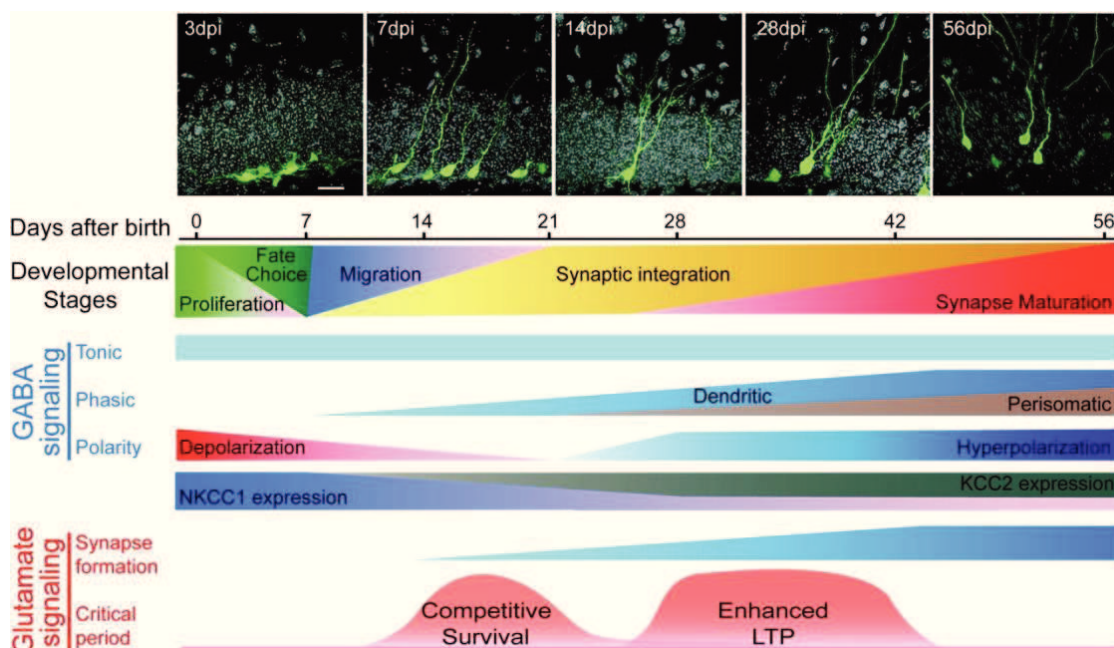


Figure 15. Maturation et intégration fonctionnelle des nouveaux neurones hippocampiques. Morphologie des nouveaux neurones visualisée par l'expression de la GFP 3, 7, 14, 28 et 58 jours après injection d'un rétrovirus. Les propriétés excitatrices et inhibitrices du GABA et du glutamate sont décrites en fonction des stades de maturation des nouveaux neurones. LTP : potentialisation à long terme. Extrait de (Ge et al., 2008).

En outre l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones semble être soumise à une sélection dépendante de l'activité du réseau hippocampique. En effet la moitié des nouveaux neurones générés ne survivront pas et une fenêtre temporelle pendant leur développement a été décrite comme critique pour leur intégration et leur survie. En particulier, entre 2 et 3 semaines la survie des nouveaux neurones est conditionnée par l'expression fonctionnelle des récepteurs NMDA. Les nouveaux neurones n'établissant pas de connexions synaptiques fonctionnelles pendant cette période sont plus susceptibles d'être sujet à une mort cellulaire (Tashiro et al., 2006a). La maturation

des nouveaux neurones est de plus facilitée par l'activité intrinsèque de l'hippocampe (Piatti et al., 2011).

Ces propriétés indiquent que l'activation des nouveaux neurones pendant ces périodes critiques pourrait être facilitée. En effet il a été montré qu'ils sont plus susceptibles d'être recrutés lors de stimulations environnementales, d'une exposition à un environnement nouveau ou pendant des tâches d'apprentissage spatial (Kee et al., 2007; Tashiro et al., 2007).

3.2.3. Régulation de la neurogenèse hippocampique par le stress et les antidépresseurs

Les différentes étapes de la neurogenèse, c'est-à-dire la prolifération des précurseurs neuronaux et la différenciation, migration, et maturation fonctionnelle des nouveaux neurones sont hautement régulées par une quantité importante de facteurs intrinsèques et exogènes. Cette régulation est aussi facilitée du fait que la SGZ constitue un microenvironnement riche et hautement vascularisé permettant une interaction permanente entre les NSCs et les cellules avoisinantes, cellules épithéliales, astrocytes, et microglie permettant le maintien d'un équilibre au sein de la niche neurogénique et influant sur les différentes étapes de la neurogenèse. Ces facteurs incluent différents facteurs de transcription, des protéines et de signalisation, la plupart des neurotransmetteurs, neuropeptides, hormones sexuelles, glucocorticoïdes, ou facteurs de croissance (Balu et Lucki, 2009; Suh et al., 2009). Il n'est donc pas étonnant que des stimulations environnementales, en particulier le stress, ou des tâches comportementales comme l'apprentissage ou l'exercice physique, soient en mesure de modifier la production de nouveaux neurones hippocampiques.

Si la fonction des nouveaux neurones n'est toujours pas clairement établie, leurs propriétés fonctionnelles uniques, le fait que la neurogenèse adulte soit un trait conservé chez tous les mammifères à ce jour étudiés, et le fait que des mécanismes complexes soient mis en place pour la réguler suggèrent qu'elle constitue un mécanisme de plasticité fonctionnelle capable de contribuer aux fonctions hippocampiques. Des altérations dans les mécanismes conduisant à la production de nouveaux neurones pourraient donc avoir des conséquences importantes sur le comportement. De telles altérations ont notamment été décrites dans différentes pathologies mentales, et plus particulièrement la dépression majeure.

La description exhaustive de tous les facteurs régulateurs de la neurogenèse n'étant pas l'objet du présent travail nous n'aborderons la régulation de la neurogenèse que par le biais de l'hypothèse neurogénique de la dépression. Les parties suivantes seront donc articulées autour des 2 observations qui ont contribué à la formulation de cette hypothèse.

- Les facteurs étiologiques associés à la dépression, en particulier le stress et les glucocorticoïdes altèrent différentes étapes de la neurogenèse et une diminution de la neurogenèse est observée chez l'homme comme dans les modèles animaux de dépression.
- La plupart des traitements antidépresseurs, pharmacologiques mais aussi les manipulations comportementales exerçant un effet antidépresseur dans les modèles animaux comme l'environnement enrichi et l'exercice physique stimulent de façon importante la neurogenèse.

3.2.3.1. Le stress diminue la neurogenèse

Les premiers liens entre la neurogenèse et la dépression viennent de l'observation que l'administration exogène de glucocorticoïdes induisait une diminution de la prolifération cellulaire dans la SGZ (Cameron et Gould, 1994). Les dysfonctionnements de l'axe HPA étant fréquentes chez les patients dépressifs, il a été postulé que des taux anormalement élevés de glucocorticoïdes et un effet prolongé de ces hormones du fait d'un feedback inhibiteur non fonctionnel pourraient conduire à une atteinte fonctionnelle de la neurogenèse et contribuer à certains aspects de la pathologie. Chez l'homme deux études post-mortem ont montré une diminution de la neurogenèse chez les patients dépressifs, en particulier une diminution de la prolifération cellulaire (Boldrini et al., 2009; Lucassen et al., 2010), même si ces résultats sont contrastés par une étude antérieure ne trouvant pas de différence chez les patients dépressifs (Reif et al., 2006). Le faible effectif et l'hétérogénéité méthodologique de ces études font qu'il est difficile de conclure sur une diminution de la neurogenèse dans la dépression clinique. L'âge des patients pourrait notamment être un facteur expliquant des différences dans ces résultats. Le vieillissement est en effet associé à la fois à un risque accru de développer un trouble dépressif et une diminution graduelle de la neurogenèse chez l'animal comme chez l'homme (Kuhn et al., 1996; Heine et al., 2004; Leuner et al., 2007; Manganas et al., 2007).

Tous les modèles animaux de dépression, basés sur l'exposition au stress, qu'il soit physique ou psychosocial, aigu ou chronique peuvent induire une diminution de la prolifération et de la survie cellulaire, et ce chez différentes espèces. Cela inclut les modèles basés sur la défaite sociale ou la subordination (Gould et al., 1997; Czéh et al., 2002; Van Bokhoven et al., 2011), le stress de contention (Pham et al., 2003), le SCIM (Alonso et al., 2004; Silva et al., 2008), la bulbectomie (Jaako-Movits et Zharkovsky, 2005), la séparation maternelle (Lajud et al., 2012) et la résignation apprise (Ho et Wang, 2010). Il est intéressant de noter que dans certaines conditions ces effets semblent liés à la perception du stress et non au stress en lui-même. Une étude récente a en effet montré que la possibilité de prédire l'apparition des stress et peut être de s'y habituer dans le modèle du stress

chronique induisait une augmentation de la neurogenèse (Parihar et al., 2011), des effets opposés à ceux induits par le SCIM.

Les effets délétères du stress sur la neurogenèse semblent médiés en partie par les glucocorticoïdes via les récepteurs GRs et MRs (Montaron et al., 2003; Mayer et al., 2006; Oomen et al., 2007). Les GRs semblent cependant avoir une implication complexe et bidirectionnelle dans la régulation de la neurogenèse. En effet le blocage des GRs par l'antagoniste mifepristone prévient la diminution de neurogenèse induite par l'administration chronique de corticostérone ou par le stress chronique (Mayer et al., 2006; Oomen et al., 2007). Cependant les glucocorticoïdes sont aussi nécessaires aux effets pro-neurogéniques de certaines manipulations qui stimulent la neurogenèse comme l'environnement enrichi (Lehmann et al., poster sfm 2012 # 899.03) et les GRs sont nécessaires aux effets pro-neurogéniques de différentes classes d'antidépresseurs (Anacker et al., 2011). Le GR est exprimé précocement par les NSCs, progéniteurs et neurones immatures (Garcia et al., 2004a). L'inactivation du GR chez les précurseurs neuronaux stimule leur différenciation neuronale, accélère la maturation des nouveaux neurones et augmente leur excitabilité, mais conduit à une migration aberrante des nouveaux neurones au sein de la couche granulaire et perturbe la consolidation d'apprentissages hippocampe-dépendants (Fitzsimons et al., 2012). Ces résultats indiquent donc que si les GRs peuvent médier les effets délétères du stress sur la neurogenèse, ils semblent aussi nécessaires en condition basale au développement normal de nouveaux neurones et même impliqués dans l'action pro-neurogénique des antidépresseurs.

D'autres facteurs ont été incriminés dans les effets du stress, en particulier les cytokines pro-inflammatoires comme l'interleukine IL-1 β dont la libération accrue par la microglie suite au stress chronique a des effets délétères sur la prolifération, la survie et la différenciation des nouveaux neurones (Goshen et al., 2008; Koo et Duman, 2008). Le récepteur des interleukines IL-1 β (IL-1RI) est exprimé par les précurseurs neuronaux, et la stimulation de ce récepteur *in vitro* induit une diminution de la prolifération cellulaire via la voie de signalisation intracellulaire du facteur nucléaire kappaB. *In vivo* le blocage du récepteur prévient les effets du stress chronique sur la neurogenèse et sur le comportement anhédonique induit par le modèle (Koo et Duman, 2008). Bien que corrélatives ces études montrent un lien étroit entre les processus inflammatoires, en particulier les cytokines pro-inflammatoires qui semblent impliquées dans l'étiologie de la dépression (Raison et Miller, 2011) et la neurogenèse hippocampique.

3.2.3.2. Les antidépresseurs stimulent la neurogenèse

De façon intéressante, si différents facteurs étiologiques ou vulnérabilisant de la dépression semblent diminuer la neurogenèse, la plupart des manipulations pharmacologiques ou environnementales ayant un effet antidépresseur stimulent la neurogenèse. Ces effets sont de plus observés après traitement chronique et non aigu. Cela inclut les antidépresseurs monoaminergiques (Malberg et al., 2000) mais aussi les composés ayant une action antidépressive en agissant sur d'autres cibles, comme le système glutamatergique (Yoshimizu et Chaki, 2004) et le système cannabinoïde (Jiang et al., 2005), les antidépresseurs atypiques comme la tianeptine (Czeh et al., 2001) et l'agomelatine (Banasr et al., 2006), ainsi que les antagonistes des récepteurs de certains neuropeptides tel que le CRF et la vasopressine (Alonso et al., 2004) ou le « melatonin-concentrating hormone » (MCH) (David et al., 2007). Le lithium, utilisé comme stabilisateur d'humeur dans les troubles bipolaires stimule également la neurogenèse hippocampique (Manji et al., 2000). De façon intéressante, les composés dénués de propriétés antidépressives comme les benzodiazépines ne semblent pas avoir d'effet sur la neurogenèse (Malberg et al., 2000; Santarelli et al., 2003). Des manipulations non pharmacologiques ayant des propriétés antidépressives stimulent aussi la neurogenèse comme la thérapie électro-convulsive (Malberg et al., 2000), l'environnement enrichi (Kempermann et al., 1997) et l'exercice physique (van Praag et al., 1999). Chez l'homme cependant seulement trois études ont évalué l'effet des antidépresseurs sur la neurogenèse. La première n'a pas observé de différences dans le nombre de progéniteurs chez les patients dépressifs (Reif et al., 2006) alors que deux études plus récentes ont montré une augmentation du nombre de progéniteurs et une augmentation de la prolifération cellulaire induite par les ISRSs et les tricycliques (Boldrini et al., 2009, 2012). Il faut de plus ajouter que bien que la plupart des antidépresseurs stimulent la neurogenèse dans les modèles animaux, certaines manipulations ayant des propriétés antidépressives semblent avoir un effet opposé, comme la privation de sommeil qui inhibe la neurogenèse, possiblement via une augmentation des niveaux de glucocorticoïdes (Mirescu et al., 2006), ou la stimulation magnétique transcrânienne qui atténue la diminution de prolifération cellulaire induite par un modèle de stress chronique mais exacerbe la diminution de la survie des nouveaux neurones induite par le modèle (Czeh et al., 2002). Cette dernière étude met en avant le fait que les différentes étapes de la neurogenèse peuvent être différentiellement régulées par un traitement.

Effets des antidépresseurs sur les différents stades de développement des nouveaux neurones

La régulation de la neurogenèse par les antidépresseurs pourrait en effet affecter différents stades dans le développement des nouveaux neurones, à savoir la prolifération, la différenciation, la

maturation et la survie. Les résultats dans ce domaine sont relativement hétérogènes du fait de la diversité des marqueurs et des méthodes de quantification utilisés. En particulier, la plupart des études s'intéressent aux modifications de neurogenèse induites par un traitement en quantifiant un nombre restreint de populations neuronales et à des moments donnés, par exemple le nombre de cellules en proliférations à travers les marqueurs de division cellulaire comme le ki67 ou le PCNA et le nombre de neurones immatures à travers l'expression de marqueurs neuronaux comme la DCX ou la calrétinin. Les populations de nouveaux neurones plus matures peuvent être quantifiées en combinant l'utilisation du BrdU, un analogue synthétique de la thymidine incorporant l'ADN des cellules en division en combinaison de marqueurs neuronaux exprimés par les cellules granulaires matures comme le NeuN ou Prox. Suivant le délai entre l'administration du BrdU (et donc son incorporation dans les cellules en prolifération) et le sacrifice des animaux, le marquage immunohistochimique du BrdU permet donc de quantifier différentes populations de nouvelles cellules. La survie des nouveaux neurones est ainsi étudiée à travers l'expression du BrdU après une éventuelle manipulation environnementale ou pharmacologique. Puisqu'avant le protocole expérimental le nombre de cellules en prolifération ayant incorporé le BrdU est supposément le même entre les groupes, des modifications du nombre de cellules exprimant le BrdU après manipulation environnementale ou pharmacologique peut indiquer une modification de la survie des nouveaux neurones ayant initialement incorporé le BrdU. La différenciation des précurseurs peut être étudiée en combinant le marquage au BrdU avec des marqueurs spécifiques du phénotype neuronal ou glial. Ainsi la proportion de cellules exprimant à la fois le BrdU et un marqueur neuronal parmi la population totale de cellules exprimant le BrdU indique la proportion de nouveaux neurones générés à partir d'une cohorte de progéniteurs en prolifération à un moment donné. Cependant, suivant le délai choisi entre l'administration de BrdU et le sacrifice des animaux, des modifications dans cette mesure pourraient indiquer des modifications de différenciation mais aussi de maturation et la ségrégation de ces deux étapes par immunohistochimie peut être source de confusion. Par exemple une diminution de la proportion de cellules co-exprimant le BrdU et un marqueur neuronal peut être due à une expression plus tardive du marqueur neuronal, et donc à une diminution de la maturation plutôt qu'une altération du pourcentage de différenciation neuronale. La mesure morphologique de la complexité de l'arborisation dendritique des nouveaux neurones ou la mesure des propriétés électrophysiologiques peut s'avérer un moyen plus précis de mesurer la maturation neuronale. La maturation et l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones peuvent aussi être étudiées en mesurant la capacité des nouveaux neurones à exprimer des marqueurs d'activation précoce comme le fos, arc ou zif.

Ces différentes mesures sont complémentaires et nécessaires pour appréhender la régulation dynamique de la neurogenèse par les antidépresseurs. Une première étude a montré que la fluoxétine augmentait le nombre de nouveaux neurones uniquement en stimulant la prolifération des précurseurs de type-2 mais sans affecter la division cellulaire des NSCs de type-1 (Encinas et al., 2006). D'autres études ont depuis précisé l'effet complexe des antidépresseurs sur les différentes étapes de la neurogenèse. Une étude a montré que la fluoxétine stimulait la prolifération cellulaire et augmentait le nombre de nouveaux neurones exprimant des marqueurs matures (en combinant l'expression du BrdU avec le marqueur neuronal NeuN) mais n'affectait pas le nombre total de neurones immatures exprimant le marqueur DCX (Wang et al., 2008). Cela suggère que la fluoxétine accélère la maturation des progéniteurs DCX+ en nouveaux neurones plus matures, ce qui explique que malgré une prolifération cellulaire accrue le nombre de cellules DCX+ ne soit pas modifié. Par ailleurs cette même étude a montré que la fluoxétine augmentait la complexité de l'arborisation dendritique des neurones immatures, confirmant que le traitement chronique avec la fluoxétine stimulait la maturation neuronale. La simple mesure du nombre de cellules exprimant la DCX pourrait conduire à la conclusion que la fluoxétine n'affecte pas la neurogenèse. Cette étude met en avant le fait que plusieurs populations sont affectées et que la neurogenèse est un processus dynamique.

Des résultats identiques ont été décrits dans d'autres études. Klempin et al. (2010) ont montré que la fluoxétine augmentait la survie et le nombre de nouveaux neurones matures sans modifier la différenciation neuronale mais diminuait le nombre de neurones immatures exprimant la calrétinin. Ici aussi ces résultats suggèrent que la maturation des neurones immatures exprimant la calrétinin est accélérée, ce qui conduit à une diminution de cette population mais à l'augmentation de la population de neurones plus matures. De la même façon, l'exercice physique stimule la maturation neuronale et la sortie du cycle cellulaire des nouveaux neurones mitotiques et augmente le nombre de neurones immatures post-mitotiques (Brandt et al., 2010; Piatti et al., 2011).

3.2.4. Mécanismes impliqués dans les effets pro-neurogéniques des antidépresseurs

Comme vu précédemment, la dépression est associée à d'importantes modifications des principaux systèmes de neurotransmission. La plupart des neurotransmetteurs ont une action régulatrice sur la neurogenèse hippocampique et ces effets pourraient en partie contribuer à l'action pro-neurogénique des antidépresseurs.

3.2.4.1. Monoamines

Parmi les monoamines, le rôle de la sérotonine dans la régulation de la neurogenèse a largement été décrit. La déplétion de 5-HT par son inhibiteur de synthèse le parachlorophenylalanine (PCPA) ou la neurotoxine sérotoninergique 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) induit une diminution de la prolifération, de la survie ainsi que le nombre de nouveaux neurones hippocampiques (Brezun et Daszuta, 1999; Banasr et al., 2001). Les effets pro-neurogeniques de la sérotonine semblent médiés par différents types de récepteurs, tel les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C} et 5-HT₄ (Santarelli et al., 2003; Banasr et al., 2004; Lucas et al., 2007; Grabiec et al., 2009; Klempin et al., 2010; Soumier et al., 2010; Diaz et al., 2012). De façon intéressante, l'expression ou l'activité de certains de ces récepteurs est altérée dans la dépression et les modèles animaux et certains de ces récepteurs semblent impliqués dans les effets comportementaux et pro-neurogéniques des antidépresseurs. Par exemple, les récepteurs 5-HT_{2B} et 5-HT_{1A} sont nécessaires à la fois aux effets comportementaux des ISRSs mais aussi à la stimulation de la prolifération et survie cellulaire par ces antidépresseurs (Santarelli et al., 2003; Diaz et al., 2012).

Les neurones NAergiques du locus coeruleus projettent aussi sur le gyrus denté et sont susceptibles de réguler la neurogenèse. La déplétion en NA par le N-éthyl-N-(2-chloro-éthyl)-2-bromobenzylamine (DSP-4) induit notamment une diminution de la prolifération cellulaire, sans semble-t-il affecter la différenciation et la survie des nouveaux neurones (Kulkarni et al., 2002). Cet effet pourrait passer par la stimulation des récepteurs β -adrénergiques β_2 et β_3 (Jhaveri et al., 2010; Masuda et al., 2012). La stimulation du récepteur α_2 exprimé par les progéniteurs semble avoir un effet opposé et diminuer la prolifération cellulaire (Yanpallewar et al., 2010). Plus d'études sont cependant nécessaires pour préciser le lien potentiel entre la neurogenèse hippocampique, le système NAergique et la dépression.

Si la déplétion sélective de dopamine semble diminuer la prolifération cellulaire dans la SGZ (Höglinger et al., 2004), les résultats des études manipulant les récepteurs dopaminergiques sont contrastés. L'antagonisme des récepteurs D2 par l'haloperidol conduit suivant les études à une absence d'effet (Malberg et al., 2000; Halim et al., 2004), une diminution (Backhouse et al., 1982) ou une augmentation de la prolifération cellulaire (Dawirs et al., 1998). Des résultats contradictoires sont aussi obtenus concernant la survie et la différenciation des nouveaux neurones (Halim et al., 2004; Wang et al., 2004; Keilhoff et al., 2010). Une autre étude (Yang et al., 2008) a cependant montré que la stimulation du récepteur D2 par le quinpirole stimulait la prolifération cellulaire dans la SGZ et que cet effet était médié par l'augmentation du facteur neurotrophique ciliaire (ciliary neurotrophic factor, CNTF) libéré par les astrocytes et les cellules granulaires du gyrus denté, un

facteur connu pour stimuler la neurogenèse (Emsley et Hagg, 2003). Il semble donc que le système dopaminergique puisse être impliqué dans la régulation de la neurogenèse. Les modifications du système dopaminergique pourraient conduire à des altérations de la neuroplasticité, en particulier de la neurogenèse hippocampique, et contribuer aux perturbations cognitives et émotionnelles retrouvées dans certaines pathologies comme la dépression, mais aussi la schizophrénie, également associée semble-t-il à des perturbations de la neurogenèse (Reif et al., 2006).

3.2.4.2. Autres neurotransmetteurs

La transmission glutamatergique est essentielle dans la régulation de la neurogenèse hippocampique. Des lésions de la voie perforante, principale source d'afférences glutamatergiques sur le gyrus denté, ou du cortex entorhinal d'où elles sont originaires augmentent la prolifération cellulaire dans la SGZ (Gould, 1994; Cameron et al., 1995) et la survie des nouveaux neurones (Gama Sosa et al., 2004). Les trois types de récepteurs glutamatergiques NMDA, AMPA, et KA (récepteur du kaïnate) ont été impliqués dans cette régulation mais de façon dynamique et antagoniste suivant les récepteurs. La stimulation des récepteurs KA et AMPA induit une importante augmentation du nombre de nouveaux neurones (Parent et al., 1997; Bai et al., 2003; Yoshimizu et Chaki, 2004; Jessberger et al., 2007). Inversement le blocage des récepteurs NMDA par injection d'un antagoniste stimule la neurogenèse (Cameron et al., 1995). Paradoxalement, la stimulation *in vitro* des récepteurs NMDA des précurseurs neuronaux favorise la différenciation neuronale et inhibe la différenciation gliale (Deisseroth et al., 2004) et la stimulation de ces récepteurs semble critique pour la survie des nouveaux neurones pendant leur maturation (Tashiro et al., 2006a). Ces effets différentiels pourraient s'expliquer par l'expression transitoire par les précurseurs et les nouveaux neurones de différentes sous unités des récepteurs NMDA NR1, NR2A et NR2B qui semblent avoir des effets opposés sur la prolifération, la différenciation et la survie neuronale (Ge et al., 2007; Nacher et al., 2007).

L'influence du GABA dans la neurogenèse a aussi largement été décrite. Comme vu précédemment, via les récepteurs GABA_A l'activation tonique GABAergique stimule la prolifération des précurseurs neuronaux (Song et al., 2012). Le GABA semble aussi affecter des stades plus tardifs notamment en promouvant la différenciation, la survie et la maturation des nouveaux neurones (Mayo et al., 2005; Tozuka et al., 2005; Earnheart et al., 2007).

D'autres systèmes de neurotransmission ont montré une action régulatrice sur la neurogenèse et semblent aussi impliqués dans la pathophysiologie de la dépression et dans les effets des antidépresseurs, notamment les endocannabinoïdes (Gorzalka et Hill, 2011). Les progéniteurs

neuraux de l'hippocampe synthétisent des endocannabinoïdes et expriment le récepteur aux cannabinoïdes CB1 (Aguado et al., 2005). L'administration chronique d'un agoniste du récepteur CB1 induit une augmentation de la neurogenèse hippocampique (Jiang et al., 2005; Marchalant et al., 2009) et l'inactivation du récepteur diminue la prolifération cellulaire (Jin et al., 2004). En outre l'inactivation du récepteur CB1 ou le blocage du récepteur par un antagoniste empêche la stimulation de la neurogenèse induite par l'exercice physique (Hill et al., 2010; Wolf et al., 2010).

3.2.4.3. Facteurs neurotrophiques

D'autres mécanismes ont été impliqués dans les effets pro-neurogéniques des antidépresseurs. En particulier les voies de signalisation conduisant à la production de facteurs neurotrophiques ou de facteurs de croissance comme le BDNF, le VEGF, le « fibroblast growth factor » (FGF), et l'« insulin growth factor 1 » (IGF1) qui régulent certaines étapes de la neurogenèse. Ces facteurs neurotrophiques ont tous été impliqués dans la pathophysiologie de la dépression et les mécanismes d'action des antidépresseurs (Duman et Monteggia, 2006). La survie des nouveaux neurones est réduite chez les souris hétérozygotes BDNF +/- et les souris possédant une forme tronquée du récepteur TrkB du BDNF (Saarelainen et al., 2003; Sairanen et al., 2005). L'augmentation de la survie des nouveaux neurones induite par un traitement antidépresseur tricyclique est bloquée chez ces souris (Sairanen et al., 2005). L'inactivation du récepteur TrkB chez les progéniteurs neuronaux empêche les effets comportementaux et pro-neurogéniques des antidépresseurs fluoxétine et imipramine ainsi que de l'exercice physique (Li et al., 2008), indiquant que le BDNF est essentiel dans la régulation de la neurogenèse par différents types d'antidépresseurs.

L'administration d'un antagoniste des récepteurs Flk-1 du VEGF empêche la stimulation de la prolifération cellulaire induite par différents traitements antidépresseurs comme la desipramine, la fluoxétine, ou les ECS (Warner-Schmidt et Duman, 2007). En outre, l'inactivation du VEGF dans le gyrus denté bloque les effets comportementaux et pro-neurogéniques de la fluoxétine (Lee et al., 2009).

Le facteur de croissance IGF1 revêt un intérêt croissant en ce qui concerne ses effets conjoints sur la neurogenèse et l'action des antidépresseurs (Malberg et al., 2007). De même, le facteur de croissance FGF module la prolifération, la survie et la différenciation neuronale (Zhao et al., 2007) et son expression est stimulée par les antidépresseurs (Bachis et al., 2008).

Ces différents facteurs neurotrophiques semblent donc essentiels dans la régulation de la neurogenèse et en particulier sont impliqués dans les effets pro-neurogéniques des antidépresseurs.

3.2.4.4. Facteurs influant sur la capacité des antidépresseurs à stimuler la neurogenèse

Si les antidépresseurs stimulent la neurogenèse cette capacité semble cependant influencée par de nombreux facteurs. En particulier toutes les lignées d'animaux ne répondent pas de la même façon aux antidépresseurs (Huang et al., 2008; Miller et al., 2008). L'âge des animaux semble aussi un facteur important et les animaux âgés ne semblent pas bénéficier des effets pro-neurogéniques de la fluoxétine (Couillard-Despres et al., 2009).

Comme vu précédemment, la régulation de la neurogenèse par les glucocorticoïdes est complexe. Les GRs semblent à la fois impliqués dans les effets négatifs du stress sur la neurogenèse (Mayer et al., 2006; Montaron et al., 2003; Oomen et al., 2007) mais aussi dans le développement normal des nouveaux neurones (Fitzsimons et al., 2012) et sont nécessaires aux effets pro-neurogéniques de différents antidépresseurs (Anacker et al., 2011). Il semble en outre que les fluctuations du rythme circadien de libération des glucocorticoïdes soient nécessaires pour que la fluoxétine stimule la neurogenèse (Huang et Herbert, 2006).

La neurogenèse et même le recrutement fonctionnel des nouveaux neurones dans des tâches émotionnelles semblent aussi sous l'influence de l'activité régulatrice d'autres structures cérébrales comme l'amygdale (Castro et al., 2010; Kirby et al., 2012). En particulier une diminution de cette activité semble nécessaire pour que la fluoxétine stimule la prolifération cellulaire dans la SGZ et un lien étroit semble exister entre les états anxieux et la neurogenèse (Castro et al., 2010).

Ce lien entre les états affectifs et la capacité des antidépresseurs à moduler la neurogenèse semble en effet important. Par exemple chez les lignées de souris BALB/cJ et C57BL/6 les antidépresseurs semblent stimuler la neurogenèse uniquement dans certaines conditions, en particulier suite à une exposition chronique au stress ou pendant l'adolescence (Navailles et al., 2008; Surget et al., 2008) mais pas en condition basale (Holick et al., 2008; Huang et al., 2008; Navailles et al., 2008). Cela souligne l'importance d'étudier les effets des antidépresseurs dans des modèles pertinents visant à mimer la pathophysiologie de la dépression plutôt qu'en situation contrôle. Les processus mis en jeu dans la régulation des états affectifs ne sont pas nécessairement les mêmes suivant que l'organisme est dans un état pathologique ou dans un état sain/normal. Une étude récente confirme cette idée (Rainer et al., 2011). La fluoxétine ou l'agomelatine dans cette étude sont capables de stimuler la prolifération cellulaire chez des animaux soumis au modèle d'administration chronique de corticostérone (CORT) mais pas chez les animaux témoins. Par ailleurs, cette augmentation induit des niveaux de prolifération cellulaire supérieurs chez les animaux CORT et traités à la fluoxétine à ceux

des contrôles. Ces deux composés sont cependant capables de stimuler la maturation des nouveaux neurones à la fois chez les animaux CORT et les animaux contrôles, mais là encore la fluoxétine induit chez les souris CORT une maturation supérieure à celle des animaux témoins. Il semble donc que les effets de la fluoxétine soient amplifiés par l'exposition chronique à la corticostérone. Ces résultats confirment que les effets des antidépresseurs dans un modèle de dépression ne sont pas les mêmes que dans une situation normale (Surget et al., 2009) et affectent peut-être des cibles différentes.

3.3. Implication fonctionnelle de la neurogenèse hippocampique dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression

L'ensemble des études précédentes montre un lien corrélatif fort entre la dépression et la neurogenèse hippocampique. En particulier le stress, facteur étiologique majeur de la dépression, diminue la neurogenèse, alors que la stimulation de la neurogenèse semble être un mécanisme important dans la réponse aux antidépresseurs. Ces observations ont conduit à formuler deux questions majeures qui sont la base de l'hypothèse neurogénique de la dépression : 1) Des perturbations de la neurogenèse hippocampique peuvent-elles constituer un facteur étiologique ou vulnérabilisant de la dépression et conduire à l'expression d'un phénotype dépressif-like? 2) La stimulation de la neurogenèse par les antidépresseurs est-elle un mécanisme indispensable pour l'établissement de leurs effets thérapeutiques? Ces deux questions ont donné lieu à de nombreuses études qui seront discutées dans le reste de ce chapitre, en prenant en considération que, comme nous l'avons mentionné, l'implication éventuelle de la neurogenèse dans la pathophysiologie de la dépression et dans le traitement antidépresseur est peut être dépendante d'un nombre important de facteurs environnementaux et génétiques. En particulier la neurogenèse pourrait contribuer différemment à la pathophysiologie de la dépression et aux effets des antidépresseurs en situation contrôle ou en cas de challenge environnemental. Ces questions sont aussi discutées de façon moins détaillée dans l'**annexe 2**.

La notion de phénotype dépressif-like peut sous-entendre un continuum dans les altérations induites par le modèle. Comme discuté précédemment, chez l'homme comme dans la modélisation animale, l'expression phénotypique de la dépression est très hétérogène et ne correspond pas à une entité précise, mais plutôt à un ensemble de symptômes plus ou moins indépendants. Particulièrement chez l'animal les performances dans les différents tests comportementaux utilisés ne sont pas nécessairement corrélées entre elles. Par exemple un profil dépressif-like dans le FST n'est pas forcément indicateur des performances d'un animal dans le NSF. L'implication de la neurogenèse dans la dépression est donc de manière générale étudiée à travers un large spectre de paradigmes qui peuvent expliquer l'hétérogénéité des résultats observés. C'est pourquoi les différentes études

s'intéressant aux effets de la suppression de la neurogenèse sur le comportement ou dans les effets des antidépresseurs seront classées en fonction des paradigmes utilisés, en incluant les paradigmes utilisés à la fois dans la description de profils dépressifs mais aussi anxieux, compte tenu de la difficulté d'isoler ces deux composantes chez l'animal et que les antidépresseurs sont détectés dans ces deux types de paradigmes (Cryan et Holmes, 2005).

3.3.1. La suppression de la neurogenèse peut-elle induire un phénotype dépressif-like ?

Différentes techniques ont été mises au point afin d'abolir la neurogenèse et d'étudier le lien causal entre la neurogenèse et le comportement. Les premières études ont utilisé l'irradiation focale aux rayons X ciblée au-dessus de l'hippocampe permettant d'éliminer de façon durable les précurseurs neuraux et entraînant une diminution quasi totale de la neurogenèse hippocampique sans affecter la SVZ (Santarelli et al., 2003). Les processus inflammatoires résultant de l'irradiation peuvent cependant s'avérer une limite de cette approche (Monje et al., 2002) et le délai nécessaire à la récupération des animaux (plusieurs semaines) rend la technique peu flexible pour étudier le rôle dynamique des nouveaux neurones dans certaines tâches comportementales. Les agents antimitotiques comme le méthylazoxyméthanol (MAM) ont aussi été utilisés, mais leur action non spécifique ainsi que la toxicité des doses nécessaires à l'abolition totale de la neurogenèse constitue une limite de cette méthode (Shors et al., 2002; Bruel-Jungerman et al., 2005; Dupret et al., 2005). Depuis différentes approches génétiques ont été développées (Imayoshi et al., 2011), basées sur l'induction de la mort cellulaire par exemple par l'expression de la thymidine kinase du virus herpès simplex sous le contrôle du promoteur Nestin ou GFAP, conduisant à la mort cellulaire des précurseurs en division après administration de ganciclovir (Garcia et al., 2004b). Bien qu'affectant les précurseurs des différentes niches neurogéniques, ces méthodes ont l'avantage d'être inductibles et d'offrir un contrôle temporel sur l'ablation de la neurogenèse. La surexpression de la protéine apoptotique Bax sous le contrôle du promoteur Nestin a aussi été utilisée pour induire la mort cellulaire des précurseurs neuraux et abolir la neurogenèse spécifiquement dans la SGZ, bien que de façon partielle (~70%) (Dupret et al., 2008). Finalement l'injection de rétrovirus directement dans l'hippocampe a aussi été utilisée afin de manipuler le matériel génétique des précurseurs neuraux et d'abolir la neurogenèse (Tashiro et al., 2006b).

Le tableau 4 présente une synthèse des résultats obtenus par différentes études concernant les effets de l'ablation de la neurogenèse dans des tests mesurant le comportement dépressif et anxieux. Il apparaît que dans la majorité des tests utilisés la suppression de la neurogenèse ne semble pas avoir d'effet sur le comportement, que ce soit en situation contrôle ou suite à l'exposition

à un modèle de dépression, indiquant que la neurogenèse ne semble pas induire ni précipiter l'apparition d'un phénotype dépressif/anxieux. Quelques études montrent cependant que l'ablation de la neurogenèse peut augmenter les comportements dépressifs ou anxieux. De façon intéressante ces résultats sont hétérogènes et ne s'accordent pas en fonction du test utilisé.

Modèle	Effets de la suppression de la neurogenèse sur le comportement dépressif/anxieux	Espèce	Méthode de suppression	Référence
Novelty Suppressed Feeding (NSF)				
-	0	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5A)
-	0	souris	irradiation	Meshi et al., 2006 (Fig. 3A)
-	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 2C)
-	0	souris	irradiation	Wang et al., 2008 (Fig. 6)
-	0	souris	irradiation	David et al., 2007 (Fig. 7)
-	↗	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1C)
-	0	souris	Nestin-Bax	Revest et al., 2009 (Fig. 5A)
-	0	rat	irradiation	Zhu et al., 2010 (Fig. 4E)
-	0	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. 4)
SCIM	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 2C)
SCIM	↗	Rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1C)
CORT	0	souris	irradiation	David et al., 2009 (Fig. 3)
Contention (aigu)	↗	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. 4)
Forced Swim Test (FST)				
-	0	rat	irradiation	Airan et al., 2007 (Fig. 4E)
-	0	souris	irradiation	Holick et al., 2008 (Fig. 3)
-	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1B)
-	0	souris	Nestin-Bax	Revest et al., 2009 (Fig. 5)
-	0	rat	irradiation	Zhu et al., 2010 (Fig. 4B)
-	↗	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. 4)
SCIM	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1B)
CORT	0	souris	irradiation	David et al., 2009 (Fig. 3H)
Contention (aigu)	0	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. 4)
Pelage				
-	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 2A)
-	0	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Sup. Fig. 2)
SCIM	0	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5C)
SCIM	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 2B)
SCM	0	rat	irradiation	Zhu et al., 2010 (Fig. 5B)
SCIM	0	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Sup. Fig. 2)
Splash Test				
-	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 2B)
SCIM	0	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5C)
SCIM	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 2B)
Préférence au sucre				
-	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1A)
-	↗	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. 4)
SCIM	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1A)
Contention (aigu)	↗	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. 4)

Croix surélevée (EPM)				
-	0	rat	MAM	Shors et al., 2002 (Fig. 5)
-	0	souris	irradiation	Saxe et al., 2006 (Fig. 4)
-	↗	souris	Nestin-Bax	Revest et al., 2009 (Fig. 2)
-	0	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Sup. Fig. 7)
Contention (aigu)	0	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Sup. Fig. 7)
Open Field (OF)				
-	0	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 2)
-	0	souris	irradiation	Fuss et al., 2010 (Fig. 4A)
-	0	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Fig. Sup. 3)
CORT	0	souris	irradiation	David et al., 2009 (Fig. 3)
Boîte claire-obscur				
-	0	souris	irradiation	Saxe et al., 2006 (Fig. 4)
-	↗	souris	Nestin-Bax	Revest et al., 2009 (Fig. 2)
-	0	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 2)
-	↗	souris	irradiation	Fuss et al., 2010 (Fig. 5)
Evitement social				
Défaite sociale	↗	souris	irradiation	Lagace et al., 2010 (Fig. 4I)
Novelty Induced Hypophagia (NIH)				
-	0	souris	irradiation	Holick et al., 2008 (Fig. 5)
-	↘	souris	ATR	Onksen et al., 2011 (Fig. 4)
Evitement d'un prédateur				
-	↗	souris	Nestin-Bax	Revest et al., 2009 (Fig. 3)
Consommation de sucrose/saccharine				
-	0	rat	MAM	Jayatissa et al., 2009 (Fig. 1)
-	0	rat	irradiation	Noonan et al., 2010 (Fig. 5)
-	0	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 2)
-	0	souris	hGFAPtk	Snyder et al., 2011 (Sup. Fig. 9)
Cookie Test				
-	0	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Fig. 2)
SCIM	0	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Fig. 2)
Labyrinthe en O				
-	0	souris	irradiation	Fuss et al., 2010 (4B)
-	↘	souris	ATR	Onksen et al., 2011 (Fig. 3)
Suspension par la queue (TST)				
-	0	souris	nestin-tk	Singer et al., 2009 (Fig. 8B)
Marble burying				
-	↘	souris	ATR	Onkesen et al., 2011 (Fig. 4)

Tableau 4. Effets de la suppression de la neurogenèse sur le phénotype dépressif/anxieux. Les effets de la suppression de la neurogenèse sont indiqués en fonction des tests comportementaux utilisés, du modèle utilisé (animaux naïfs en vert ; animaux soumis à un modèle de dépression ou à un stress aigu (Snyder et al., 2011) en rouge), de l'espèce et de la méthode d'ablation de la neurogenèse utilisée. 0 = aucun effet de la suppression de neurogenèse sur le comportement ; ↘ et ↗ = diminution et augmentation du phénotype dépressif/anxieux respectivement. Modifié d'après Petrik et al. (2012).

Deux études aboutissent à des résultats opposés concernant l'implication de la neurogenèse dans les comportements anxieux. L'ablation de la neurogenèse par la surexpression de Bax par les précurseurs neuronaux chez la souris semble anxiogène dans trois tests différents d'anxiété : l'EPM, la boîte claire-obscur et l'évitement d'un prédateur mais pas dans le NSF et ni dans des tests mesurant les comportements plus classiquement associés à la dépression comme le FST (Revest et al., 2009). A

l'inverse Onksen et al. (2011) obtiennent des résultats opposés. En effet l'ablation de la neurogenèse par l'inactivation du gène « ataxia telangeictasia-mutated and rad-3 related » (ATR) spécifiquement dans l'hippocampe conduit dans cette étude à une diminution de l'anxiété dans le O-Maze (O surélevé, variante de l'EPM), le test du Marble Burying (mesurant le comportement d'enfouissement qui est fortement corrélé au comportement anxieux) et le NIH (variante du NSF). Bien que ces 3 tests soient différents de ceux utilisés dans l'étude précédente ils mesurent supposément les comportements anxieux et permettent d'évaluer l'effet d'anxiolytique. Cette différence de résultats pourrait être liée à la spécificité de la technique, Bax étant surexprimée uniquement par les précurseurs neuraux alors que la délétion d'ATR touche toutes les cellules de l'hippocampe, même si la délétion d'ATR dans les cellules matures a été décrite comme n'ayant pas d'effet comportemental ou physiologique (Ruzankina et al., 2007). Ces différences pourraient aussi être liées au timing de suppression des nouveaux neurones par rapport au screening comportemental, ou bien à l'amplitude de la suppression. En particulier Onksen et al. induisent une suppression spécifique mais relativement partielle de la neurogenèse hippocampique (40 à 50%). Il est possible que la contribution de la neurogenèse dans les comportements anxieux soit différente suivant les taux de productions de nouveaux neurones. Par exemple une étude a notamment montré la stimulation de la neurogenèse par l'exercice physique mais aussi l'ablation de la neurogenèse étaient tous les deux associés à une anxiété accrue dans le test de la boîte claire-obscur (Fuss et al., 2010), suggérant que la relation entre neurogenèse et anxiété n'était pas linéaire mais que des niveaux intermédiaires pourraient être plus bénéfiques. Une autre étude récente a cependant montré que l'augmentation des taux de base de neurogenèse par ablation spécifique du gène bax dans les précurseurs neuraux n'induisait pas de modification comportementale dans des paradigmes mesurant les comportements dépressifs et anxieux comme le FST, le NSF et l'OF (Sahay et al., 2011).

Soulignant le fait que la contribution de la neurogenèse hippocampique dans le comportement n'est pas nécessairement uniquement « bénéfique » ou « négative » mais peut être adaptative, Lagace et al. (2010) ont montré que suite à l'exposition au modèle du stress social, la prolifération cellulaire dans la SGZ était diminuée de façon transitoire, mais que la survie des nouveaux neurones était augmentée chez les animaux les plus vulnérables au modèle et présentant un évitement social plus marqué. De plus la suppression de la neurogenèse chez ces animaux a induit une diminution l'évitement social. Il est possible qu'une augmentation de la neurogenèse constitue un mécanisme d'adaptation (ou de maladaptation) mis en place par l'individu face à une situation stressante.

Contrairement à l'étude de Revest et al. (2009) d'autres montrent un effet privilégié de la suppression de la neurogenèse sur les comportements dépressifs plutôt que anxieux. Snyder et al. (2011) montrent que l'ablation de la neurogenèse augmente les comportements de résignation dans

le FST et induit un comportement anhédonique dans le test de préférence au sucrose sans affecter les performances dans l'EPM ou l'OF. De façon intéressante dans cette étude la suppression de la neurogenèse semble vulnérabiliser la réponse comportementale au stress dans le NSF (et uniquement dans le NSF) car les animaux préalablement exposés à un stress de contention présentent une augmentation de la latence à manger dans le dispositif mais le stress seul ou l'ablation de la neurogenèse ne sont pas suffisants pour modifier ce comportement. Bessa et al. (2009) avaient préalablement obtenu des résultats différents avec un effet de l'ablation de la neurogenèse par administration de MAM seulement dans le NSF à la fois chez des animaux soumis au stress chronique et les animaux non-stressés, sans effet vulnérabilisant de l'ablation de la neurogenèse sur le comportement.

Il semble donc que de façon générale la majorité des études tend à montrer une absence d'effet de l'ablation de la neurogenèse hippocampique sur le comportement dépressif et anxieux. Les quelques études qui suggèrent une implication de la neurogenèse dans différents tests obtiennent des résultats hétérogènes, peut-être explicables par les différences de méthodes d'ablation utilisées. Par exemple parmi tous les tests étudiés un effet de l'irradiation n'est obtenu que dans deux études (Fuss et al., 2010; Lagace et al., 2010). Des tests comportementaux plus spécifiques pourraient peut-être permettre de mieux appréhender la contribution de la neurogenèse dans la dépression. En effet même si certaines études montrent que des manipulations génétiques peuvent moduler de façon opposée les comportements anxieux et dépressifs (Uchida et al., 2011) les paradigmes actuels permettent difficilement d'isoler les différentes composantes cognitives et émotionnelles mises en jeu dans l'expression de ces comportements et de ce fait limitent notre compréhension de la fonction des nouveaux neurones. Finalement le manque de précision temporelle de ces différentes études ne permet pas de rendre compte de l'éventuelle implication dynamique de la neurogenèse dans la mise en place de certains comportements.

3.3.2. Les nouveaux neurones sont-ils nécessaires à l'action thérapeutique des antidépresseurs ?

Le **tableau 5** présente une synthèse des effets de la suppression de la neurogenèse sur l'efficacité de différents types d'antidépresseurs ou manipulations comportementales à reverser un profil dépressif-like induit par un modèle de dépression ou à moduler le comportement chez des animaux non-stressés.

Modèle	Antidépresseur/ manipulation	Effets de la suppression de la neurogenèse sur l'efficacité du traitement	Espèce	Méthode de suppression	Référence
Novelty Suppressed Feeding (NSF)					
-	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5A)
-	Imipramine	↘	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5A)
-	agoniste CB1	↘	rat	irradiation	Jiang et al., 2005 (Fig. 8E)
-	Env. enrichi	0	souris	irradiation	Meshi et al., 2006 (Fig. 3A)
-	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Wang et al., 2008 (Fig. 6)
-	hypoxie	↘	rat	irradiation	Zhu et al., 2010 (Fig. 4E)
-	antagoniste MCHR1	0	souris	irradiation	David et al., 2007 (Fig. 7)
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 3C)
SCIM	antagoniste CRH1	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 5C)
SCIM	Fluoxetine	↘	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1C)
SCIM	Imipramine	↘	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1C)
SCIM	antagoniste CRH1	↘	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1C)
SCIM	antagoniste V1b	↘	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1C)
CORT	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	David et al., 2009 (Fig. 3E)
SCM	Hypoxie	↘	rat	irradiation	Zhu et al., 2010 (Fig. 5C)
Forced Swim Test (FST)					
-	antagoniste CB1	↘	rat	irradiation	Jiang et al., 2005 (Fig. 8F)
-	Fluoxetine	↘	rat	irradiation	Airan et al., 2007 (Fig. 4E)
-	Fluoxetine	0	souris	irradiation	Holick et al., 2008 (Fig. 3)
-	Hypoxie	↘	rat	irradiation	Zhu et al., 2010 (Fig. 4B)
SCIM	Fluoxetine	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1B)
SCIM	Imipramine	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1B)
SCIM	antagoniste CRH1	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1B)
SCIM	antagoniste V1b	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1B)
CORT	Fluoxetine	0	souris	irradiation	David et al., 2009 (Fig. 3H)
Pelage					
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5C)
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 3A)
SCIM	Imipramine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 4A)
SCIM	antagoniste CRH1	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 5A)
SCIM	antagoniste V1b	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 6A)
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Sup. Fig. 2B)
SCIM	antagoniste CRH1	0	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Sup. Fig. 2D)
Splash Test					
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Santarelli et al., 2003 (Fig. 5D)
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 3B)
SCIM	Imipramine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 4B)
SCIM	antagoniste CRH1	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 5B)
SCIM	antagoniste V1b	0	souris	irradiation	Surget et al., 2008 (Fig. 6B)
Préférence au sucre					
SCIM	Fluoxetine	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1A)
SCIM	Imipramine	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1A)
SCIM	antagoniste CRH1	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1A)
SCIM	antagoniste V1b	0	rat	MAM	Bessa et al., 2009 (Fig. 1A)
Défaite sociale	Env. enrichi	↘	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 4I)
Open Field (OF)					
-	Exercice physique	0	souris	irradiation	Fuss et al., 2010 (Fig. 4A)
CORT	Fluoxetine	0	souris	irradiation	David et al., 2009 (Fig. 3)
Défaite sociale	Env. enrichi	↘	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 4H)

Boîte claire-obscur					
-	Exercice physique	0	souris	irradiation	Fuss et al., 2010 (Fig. 5)
Défaite sociale	Env. enrichi	↘	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 4J)
Evitement social					
Défaite sociale	Env. enrichi	↘	souris	hGFAPtk	Schloesser et al., 2010 (Fig. 4)
Novelty Induced Hypophagia (NIH)					
-	Fluoxetine	0	souris	irradiation	Holick et al., 2008 (Fig. 5)
Comportements hédoniques					
Isolement social	Fluoxetine	↘	macaque	irradiation	Perera et al., 2011 (Fig. 1)
Cookie Test					
SCIM	Fluoxetine	↘	souris	irradiation	Surget et al., 2011 (Fig. 2B)
Labyrinthe en O					
-	Exercice physique	0	souris	irradiation	Fuss et al., 2010 (4B)

Tableau 5. Effets de la suppression de la neurogenèse sur l'efficacité thérapeutique des antidépresseurs. Les effets de la suppression de la neurogenèse sont indiqués en fonction des tests comportementaux utilisés, du type d'antidépresseur, du modèle utilisé (animaux naïfs en vert ; animaux soumis à un modèle de dépression en rouge) de l'espèce et de la méthode d'ablation de la neurogenèse utilisée. 0 = aucun effet de la suppression de neurogenèse sur l'action de l'antidépresseur sur le comportement ; ↘ = diminution de l'efficacité de l'antidépresseur à affecter le comportement dépressif/anxieux. Modifié d'après Petrik et al. (2012).

Chez les animaux non-stressés il semble que dans la grande majorité des cas l'ablation de la neurogenèse supprime l'efficacité des antidépresseurs. Ceci est particulièrement observé dans le NSF et le FST, où sur les 11 mesures répertoriées dans seulement trois cas l'ablation de la neurogenèse n'a pas d'influence sur la capacité des antidépresseurs à influencer sur le comportement. L'intégrité de la neurogenèse semble de plus nécessaire pour l'efficacité de différents types d'antidépresseurs tels que la fluoxetine (Santarelli et al., 2003 ; Wang et al., 2008), l'imipramine (Santarelli et al., 2003), un agoniste du récepteur cannabinoïde CB1 (Jiang et al., 2005) mais aussi de manipulations non pharmacologiques comme l'hypoxie intermittente (Zhu et al., 2010). Quatre études au total montrent cependant une absence d'effet de la suppression de la neurogenèse dans les effets des antidépresseurs chez des animaux naïfs. Dans le premier cas l'ablation de la neurogenèse par irradiation chez les souris BALB/c n'a aucun effet sur l'action de la fluoxetine dans le FST et le NIH (Holick et al., 2008). Une autre étude a montré que l'irradiation n'empêche pas les effets antidépresseurs d'un antagoniste MCHR1 le NSF (David et al., 2007). Une autre étude a montré que l'irradiation focale de l'hippocampe n'influe pas sur les effets anxiolytiques de l'environnement enrichi dans le NSF chez les souris 129Sv/Ev (Meshi et al., 2006). La dernière étude ne concerne pas les effets antidépresseurs proprement dits puisque dans cette étude l'exercice physique induit une augmentation de l'anxiété dans l'OF, le O-Maze et la boîte claire-obscur qui est bloquée par l'irradiation (Fuss et al., 2010). Elle a tout de même été incluse ici du fait qu'elle montre un effet de

l'irradiation sur la capacité d'une manipulation environnementale à modifier le comportement anxieux.

Les résultats chez les animaux soumis à différents modèles de dépression sont plus contrastés. Dans plus de la moitié des cas il semble cependant que l'ablation de la neurogenèse empêche l'action comportementale des antidépresseurs. Outre les différences méthodologiques, cette hétérogénéité souligne que différents facteurs semblent influencer l'implication de la neurogenèse dans les effets des antidépresseurs, comme le type d'antidépresseur, les tests comportementaux et les lignées d'animaux utilisés.

Par exemple, de façon frappante les effets des antidépresseurs dans le NSF semblent particulièrement sensibles à la suppression de la neurogenèse puisque dans toutes les études répertoriées l'ablation de la neurogenèse induit une diminution de leur efficacité, et ce quel que soit leur mécanisme d'action, la technique d'ablation utilisée et le modèle de dépression utilisés. Cependant une étude a montré que les antagonistes CRF1, dont les effets semblent dépendants de la neurogenèse dans le NSF, sont toujours capables de contrecarrer les effets du SCIM sur l'état du pelage et dans le splash test (Surget et al., 2008). Similairement une autre étude a montré que si les effets de la fluoxétine dans le NSF étaient dépendants de l'intégrité de la neurogenèse hippocampique, dans le FST et l'OF ses effets comportementaux n'étaient pas affectés par la suppression de la neurogenèse (David et al., 2009). Ces résultats montrent que la neurogenèse hippocampique pourrait être impliquée dans certains effets des antidépresseurs mais ne constitue pas nécessairement un mécanisme essentiel à leurs effets. Ces différents tests reflètent vraisemblablement des composantes différentes du comportement, et la contribution fonctionnelle de la neurogenèse dans ces composantes n'est pas nécessairement la même.

Par ailleurs le fait que différentes classes d'antidépresseurs ne soient pas toutes dépendantes de la neurogenèse dans un même test et dans la même étude (ce qui élimine les différences méthodologiques entre études pouvant limiter l'interprétation des résultats) renforce la possibilité que différents mécanismes contribuent à leurs effets. Par exemple les effets de la fluoxétine et de l'imipramine sur l'état du pelage et dans le splash test sont bloqués par la suppression de la neurogenèse, mais pas ceux de molécules agissant sur d'autres mécanismes comme les antagonistes des récepteurs CRF1 ou V1b (Surget et al., 2008).

L'implication de la neurogenèse dans les mécanismes d'action des antidépresseurs semble aussi différente selon que l'efficacité des antidépresseurs est testée sur des animaux en situation basale ou dans une situation de challenge comportemental, comme suite à l'exposition au stress ou dans un modèle de dépression. Par exemple l'effet anxiolytique de l'hébergement dans un environnement

enrichi ne semble pas affecté par la suppression de la neurogenèse dans le NSF en situation basale (Meshi et al., 2006). Par contre l'ablation de la neurogenèse bloque la capacité de l'environnement enrichi à contrecarrer l'évitement social et les altérations comportementales induites par le modèle de défaite sociale dans le test de préférence au sucrose, dans la boîte claire-obscur et l'OF (Schloesser et al., 2010). Il est possible que le recrutement des nouveaux neurones soit plus important dans des situations de challenge comportemental et leur implication fonctionnelle dans les effets des antidépresseurs seulement importante dans de telles conditions. Cette idée semble renforcée par le fait que chez certaines lignées de souris, comme la C57BL/6, la neurogenèse n'est pas toujours stimulée par les antidépresseurs en situation basale mais seulement suite à une exposition au stress ou un modèle de dépression comme celui du CORT (David et al., 2009). Par ailleurs, les différences importantes dans les niveaux de neurogenèse entre lignées (Kempermann et Gage, 2002) ainsi que dans leur susceptibilité au stress pourraient influencer sur le fait que la neurogenèse puisse contribuer différenciellement aux effets des antidépresseurs en fonction des lignées étudiées.

En résumé si la majorité des études montrent que la neurogenèse hippocampique ne semble pas directement impliquée dans l'étiologie de la dépression, il semble que les nouveaux neurones hippocampiques pourraient contribuer aux effets des antidépresseurs. Cette contribution semble affectée par différents facteurs. En effet, tous les antidépresseurs ne semblent pas dépendre de l'intégrité fonctionnelle des nouveaux neurones hippocampiques pour exercer leurs effets. Par ailleurs l'implication de la neurogenèse dans les effets des antidépresseurs n'est pas la même suivant les paradigmes comportementaux utilisés, ce qui suggère qu'en stimulant la neurogenèse les antidépresseurs pourraient agir sur des fonctions cognitives et émotionnelles spécifiques différenciellement impliquées dans l'expression du phénotype dépressif. Bien que le rôle précis des nouveaux neurones ne soit pas clairement établi, la neurogenèse contribue à l'activité intrinsèque de l'hippocampe et du gyrus denté (Airan et al., 2007; Lacefield et al., 2012). Cette activité semble perturbée dans les modèles animaux de dépression et le rétablissement d'une activité hippocampique normale semble important pour les effets comportementaux de la fluoxétine (Airan et al., 2007). En modulant la neurogenèse, les antidépresseurs pourraient donc influencer sur l'activité de l'hippocampe et renforcer différentes fonctions cognitives et physiologiques facilitant la rémission. Parmi ces fonctions on note par exemple que les nouveaux neurones semblent contribuer à des tâches de flexibilité cognitive (Burghardt et al., 2012) et impliqués dans la capacité à différencier deux représentations contextuelles présentant un haut degré de similitudes, ou « pattern separation » (Clelland et al., 2009; Sahay et al., 2011). Le manque de flexibilité cognitive est un trait important de la dépression, et une incapacité à dissocier des situations qui n'ont pas la même

valence émotionnelle pourrait refléter la généralisation négative observée chez les patients dépressifs et anxieux. Parallèlement, les nouveaux neurones semblent contribuer de façon complexe à différentes tâches d'apprentissage et à la formation de la mémoire (Bruehl-Jungman et al., 2007). Outre son implication dans des fonctions cognitives, en contribuant à l'activité de l'hippocampe la neurogenèse est susceptible d'affecter la capacité de l'hippocampe à réguler certaines fonctions émotionnelles et physiologiques. En particulier, des études récentes tendent à montrer que les nouveaux neurones pourraient contribuer à la régulation de l'axe HPA (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011). Les dérégulations de l'axe HPA, en particulier des altérations dans la capacité de l'hippocampe à freiner la réponse au stress sont une composante majeure dans la pathophysiologie de la dépression. En stimulant la neurogenèse hippocampique, les antidépresseurs pourraient donc aussi contribuer au rétablissement d'une régulation hippocampique fonctionnelle sur l'axe du stress.

Il apparaît donc que différentes fonctions de l'hippocampe, à la fois cognitives mais aussi émotionnelles et physiologiques pourraient être impliquées dans les effets des antidépresseurs et facilitées par la stimulation de la neurogenèse. La neurogenèse pourrait ainsi contribuer à la rémission via des mécanismes fonctionnels multiples plus ou moins indépendants. De façon intéressante ces différentes fonctions ne sont pas sous tendues par les mêmes régions de l'hippocampe et une grande hétérogénéité anatomique et fonctionnelle est observée le long de son axe septo-temporal. En particulier, alors que les divisions septales de l'hippocampe semblent plutôt contribuer à ses fonctions cognitives, telles que l'apprentissage et la mémoire, les divisions temporales semblent plutôt impliquées dans la régulation des états émotionnels et la réponse au stress via ses connexions privilégiées avec le système limbique et les structures médiatrices de l'axe du stress. Les nouveaux neurones n'ont peut-être donc pas la même fonction et ne sont pas nécessairement régulés de la même façon le long de cet axe, en particulier par les antidépresseurs. Une approche visant à préciser l'implication de la neurogenèse hippocampique dans les effets des antidépresseurs pourrait donc consister à étudier sa régulation et fonction à travers la dissociation septo-temporale.

Le chapitre suivant sera donc articulé autour de la description des différences anatomiques et fonctionnelles le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe et des conséquences de telles dissociations pour la régulation et la fonction des nouveaux neurones hippocampiques, particulièrement au regard de leur fonction potentielle dans les effets des antidépresseurs.

4. Hétérogénéité fonctionnelle le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe

4.1. Fonctions de l'hippocampe

4.1.1. Rôle de l'hippocampe dans la mémoire

Le rôle de l'hippocampe dans les processus d'apprentissage et dans la mémoire a été abondamment décrit depuis les premières observations que des lésions bilatérales de l'hippocampe pouvaient induire une sévère amnésie antérograde ainsi qu'une amnésie rétrograde partielle. Tous les types de mémoire ne sont cependant pas affectés mais particulièrement l'acquisition et le rappel de la mémoire épisodique, c'est-à-dire la mémoire des faits et des événements ainsi que des lieux et contextes auxquels ils sont associés (Eichenbaum, 2003).

Un des paradigmes les plus courants pour étudier la mémoire contextuelle chez les rongeurs est le conditionnement de peur contextuelle. Ce type de conditionnement aversif est dépendant de l'amygdale, essentielle à l'interprétation et l'expression de la peur (Maren et Fanselow, 1996). De façon simplifiée le principe du test consiste à mesurer la réponse de peur induite par la réexposition d'un animal au contexte dans lequel il a préalablement reçu un choc électrique. La réexposition au contexte, mais pas à un environnement dans lequel l'animal n'a pas reçu de choc, induit généralement une réponse de peur même en l'absence de choc, ce qui suggère que l'animal a associé le contexte à la présence du choc électrique. L'intégrité fonctionnelle de l'hippocampe est critique dans l'acquisition et le rappel de cette association. En revanche si l'élément prédictif du choc électrique est un stimulus simple unimodal comme un son, l'hippocampe ne semble pas nécessaire à l'établissement de l'association son-choc et dans l'expression de la peur induite par la réexposition au son, ce qui suggère la spécificité du rôle de l'hippocampe dans la formation et le rappel de la mémoire contextuelle (Kim et Fanselow, 1992).

L'importance de l'hippocampe dans la mémoire contextuelle est aussi soulignée par son rôle essentiel dans la détection de la nouveauté et dans la navigation spatiale grâce à l'élaboration de cartes cognitives, fondées sur les relations de position entre les indices visuels présents dans l'environnement (O'Keefe, 1979). Ces représentations internes de l'environnement sont notamment facilitées par la présence dans l'hippocampe de « cellules de lieu » dont l'activité électrophysiologique est différente selon la position de l'animal dans un environnement donné (Frank et al., 2004). Il en résulte des patterns d'activité du réseau hippocampique différents selon la position dans l'espace et qui sous-tendent l'acquisition et l'apprentissage des configurations spatiales

de l'environnement. Le rôle de l'hippocampe dans la mémoire n'est cependant pas limité à la mémoire spatiale. Sa position en tant que structure intégratrice d'informations multimodales permet la mise en relation d'un nombre important d'informations et de représentations, la comparaison de ces informations aux expériences passées, et éventuellement la consolidation de ces relations permet l'émergence d'un souvenir intégré et stable. Les différentes régions hippocampiques (champs ammoniens et gyrus denté) contribuent différenciellement à l'apprentissage et la mémoire. Le gyrus denté semble avoir un rôle spécifique dans l'encodage des informations (Lee et Kesner, 2004) et sa position « en dérivation » au sein du circuit trisynaptique ainsi que les propriétés fonctionnelles des fibres moussues permettrait au gyrus denté d'exercer une influence sur l'activité des cellules du CA3. En particulier un des rôles supposés du gyrus denté serait à travers cette modulation de « décorrélérer » les patterns d'activation du CA3 provoqués par des stimuli ou représentations relativement proches afin de permettre la discrimination fine de deux situations ou contextes présentant un haut degré de similitudes.

Cependant le rôle de l'hippocampe dans la mémoire est loin d'être totalement élucidé, notamment son rôle dans le stockage des souvenirs. Il semblerait que s'il est impliqué dans le rappel des traces mnésiques il ne constitue pas le substrat définitif de la mémoire et aurait plutôt un rôle d'indexation graduelle des différentes composantes multimodales d'un souvenir au sein des aires associatives du néocortex, où ces composantes sont encodées par des réseaux neuronaux dont l'activation conjointe, peut-être facilitée par l'hippocampe, permet l'émergence de la représentation consciente du souvenir (Bontempi et al., 1999; Viard et al., 2007; Kryukov, 2008).

4.1.2. Rôle de l'hippocampe dans les émotions

Si l'hippocampe est plus connu pour son rôle dans la mémoire, son implication dans la régulation des émotions, en particulier l'anxiété, a aussi été suggérée il y a longtemps (Gray, 1971). Ce rôle n'est cependant pas clairement défini et certains auteurs suggèrent que l'hippocampe n'a pas un rôle essentiel dans le traitement ou l'expression de l'émotion en elle-même mais plutôt un rôle « neutre » dans le traitement de l'information contextuelle associée à une situation ou un environnement anxiogène générant de la peur. Son implication dans les émotions serait donc plutôt la résultante de son rôle dans la mémoire et les apprentissages associatifs. De nombreuses études lésionnelles et pharmacologiques ont cependant montré un lien direct entre l'état d'anxiété et l'hippocampe dans des paradigmes ne nécessitant pas d'apprentissage pour l'animal (paradigmes d'anxiété non conditionnée) comme l'EPM (Engin et Treit, 2007). Par ailleurs l'implication de l'hippocampe dans le contrôle de la réponse au stress a largement été décrite. Les lésions de l'hippocampe ou de ses voies de sortie augmentent la libération d'ACTH et de corticostérone ainsi

que l'expression du CRF et de la vasopressine dans le PVN (Sapolsky et al., 1984) et prolongent l'élévation de corticostérone induite par le stress (Herman et al., 1995). Inversement, la stimulation de l'hippocampe chez l'animal comme chez l'homme produit une inhibition de l'activité de l'axe HPA (Feldman et Weidenfeld, 2001). L'hippocampe exprime une grande densité de récepteurs GR et MR et son rôle dans l'inhibition de la réponse au stress est aussi souligné par le fait que l'administration intra-hippocampique de dexaméthasone induit une diminution de la libération de corticostérone (Mizoguchi et al., 2003). Son rôle dans la régulation du stress n'est cependant sans doute pas uniquement lié à son interaction avec l'axe HPA mais découle aussi de son lien avec d'autres structures du système limbique comme le cortex préfrontal et l'amygdale avec lesquelles il contribue à diverses fonctions cognitives et aux états affectifs. Son rôle dans la mémoire est aussi susceptible d'influer sur l'intégration des informations du stress et moduler la réponse de l'axe HPA en fonction des expériences passées.

Il est donc clair que l'hippocampe a un rôle majeur à la fois dans l'apprentissage et la mémoire, mais aussi dans la régulation des états affectifs et la réponse au stress. Ces deux aspects vraisemblablement complémentaires, ne paraissent néanmoins pas sous-tendus par les mêmes régions de l'hippocampe. Les études de lésions ont notamment mis en avant une double dissociation fonctionnelle entre les régions septales (appelé plus couramment hippocampe dorsal, HPCd), qui seraient préférentiellement impliquées dans les aspects cognitifs de la fonction hippocampique, et temporales (hippocampe ventral, HPCv), participant aux aspects émotionnels et motivationnels. Cette dissociation fonctionnelle est associée à de nombreuses différences frappantes de connectivité, neurotransmission, profil moléculaire et plasticité entre ces deux régions.

4.2. Connectivité le long de l'axe septo-temporal

4.2.1. Organisation topographique des connexions du cortex entorhinal

Les patterns de connexion entre le cortex entorhinal (principale voie d'entrée du circuit intra-hippocampique) et l'hippocampe (gyrus denté, CA et subiculum) suivent une organisation bien délimitée le long de l'axe septo-temporal, avec des domaines clairement indépendants présentant seulement un recouvrement partiel de leurs connexions. L'existence de connectivité différentes des voies perforantes le long de l'axe septo-temporal est ancienne et remonte aux travaux de Cajal au début du 20^{ème} siècle. Le cortex entorhinal, initialement divisé en deux régions, latérale et médiale sur la base de leur structure et de leur connectivité, peut aussi être divisé en trois parties relativement indépendantes par rapport à leur innervation le long de l'axe septo-temporal: caudolatérale, intermédiaire et rostromédiale, représentant potentiellement des divisions

fonctionnellement indépendantes au vu de leurs connexions entrantes qui sont différentes et du peu de connexions existant entre ces trois divisions (Dolorfo et Amaral, 1998; Burwell, 2000). La partie caudolatérale reçoit la majorité des informations visuospatiales, principalement via les cortex perirhinal et postrhinal et projette en retour spécifiquement vers l'HPCd. La partie rostromédiale reçoit principalement des informations olfactives, viscérales et gustatives et projette vers l'HPCv. Le pattern d'inputs de la division intermédiaire s'apparente à un mélange des deux autres divisions et projette principalement au niveau de la partie intermédiaire de l'hippocampe. Si les connexions du cortex entorhinal avec l'hippocampe suivent donc une organisation topographique précise, l'organisation intra-hippocampique de ces inputs vers les champs ammoniens, le gyrus denté et le subiculum est cependant la même le long de l'axe septo-temporal (Tamamaki et Nojyo, 1995; Dolorfo et Amaral, 1998; Naber et al., 2001).

4.2.2. Connectivité de l'hippocampe dorsal

La connectivité de l'HPCd est détaillée dans la **figure 16**. Le CA1 dorsal et la partie dorsale du complexe subiculaire (subiculum, pre et post-subiculum) vers lequel il projette massivement sont tous deux connectés aux cortex rétrosplénial et cingulaire antérieur (Cenquizca et Swanson, 2007). Ces deux régions ont été associées au traitement cognitif de l'information visuospatiale, en particulier la navigation et l'exploration spatiale mais aussi la mémoire contextuelle (Frankland et al., 2004; Harker et Whishaw, 2004; Jones et Wilson, 2005; Lavenex et al., 2006; Spiers et Maguire, 2006). Ces connections sont cohérentes avec le fait que le CA1 dorsal est la région de l'hippocampe contenant le plus de cellules de lieu (Jung et al., 1994; Muller et al., 1996) tandis que le complexe subiculaire dorsal contient un nombre important de cellules répondant sélectivement, à la manière d'une « boussole », à la direction de l'animal pendant sa navigation dans son environnement. Ce type de cellules est aussi retrouvé dans les noyaux mamillaires latéraux et médians de l'hypothalamus ainsi que dans des régions antérieures du thalamus (Taube, 2007) vers lesquelles le complexe subiculaire dorsal projette (Kishi et al., 2000). Ces différentes structures forment un réseau vraisemblablement essentiel à la navigation de l'animal et l'apprentissage des caractéristiques spatiales de l'environnement. Parallèlement l'HPCd est aussi connecté directement et indirectement à un vaste réseau de structures essentielles aux fonctions sensori-motrices et la locomotion, en particulier le septum médian et les noyaux supramamillaires ainsi que la substance noire réticulée et la VTA via le NAcc le striatum dorsal (Swanson, 2000).

En résumé l'HPCd semble intégré au sein de réseaux cérébraux particulièrement importants pour les fonctions sensorimotrices, la locomotion, la navigation et l'exploration. Cette connectivité spécifique

des parties septales de l'hippocampe pourrait sous-tendre son implication préférentielle dans l'apprentissage spatial et la mémoire contextuelle (Fanselow et Dong, 2010).

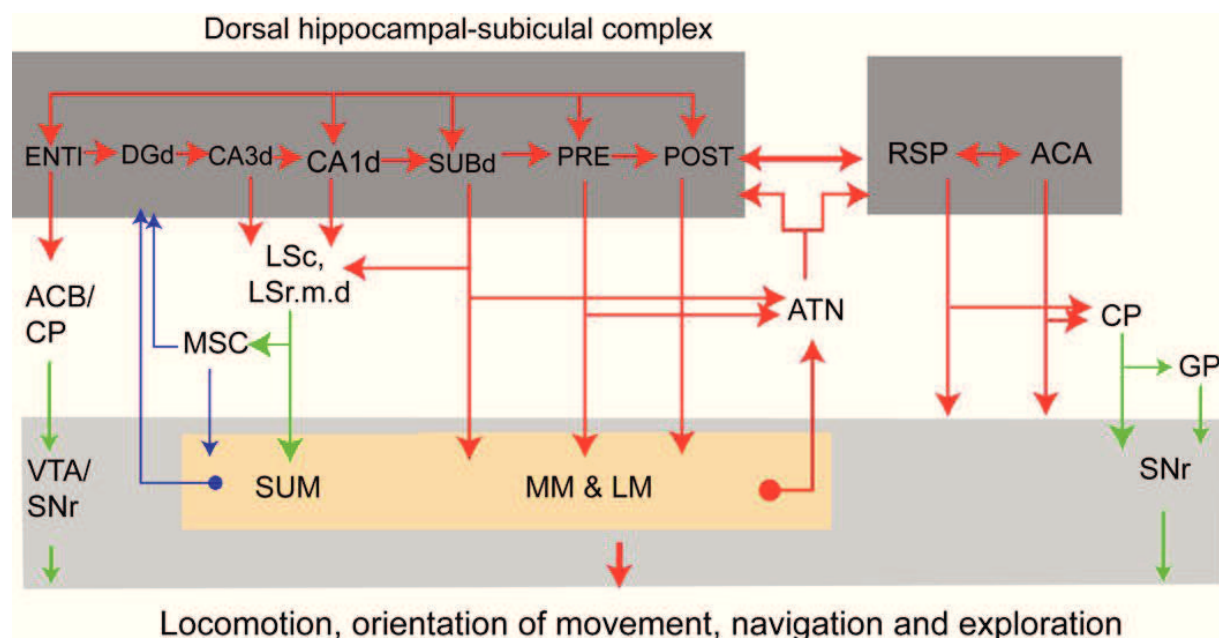


Figure 16. Connectivité de l'hippocampe dorsal et du complexe subiculaire dorsal. ACA : cortex cingulaire antérieur ; ACB : noyau accumbens ; ATN : complexe thalamique antérieur ; CP : noyau caudé/putamen ; DGd : gyrus denté dorsal ; ENTI : partie caudolatérale du cortex entorhinal ; GP : globus pallidus ; LM : noyau mamillaire latéral ; LSc : partie caudale du septum latéral ; MM : noyau mamillaire médian ; MSC : complexe septal médian ; PRE : présubiculum ; POST : postsubiculum ; RSP : cortex rétrosplénial ; SNr : substance noire réticulée ; SUBd : subiculum dorsal ; SUM : noyau supramamillaire ; VTA : aire tegmentale ventrale. Extrait de Fanselow et Dong (2010).

4.2.3. Connectivité de l'hippocampe ventral

Le pattern de connectivité de l'HPCv est particulièrement différent de celui de l'HPCd (**Figure 17**). Sur le plan sensoriel le CA1 ventral, contrairement au dorsal, est directement connecté aux bulbes olfactifs et aux aires corticales impliquées dans le traitement de l'information olfactive (Cenquizca et Swanson, 2007). Il est d'ailleurs intéressant de noter que l'ablation des bulbes olfactifs constitue un modèle de dépression dans lequel les antidépresseurs ont une certaine efficacité, créant donc un lien indirect entre HPCv et dépression. Une des différences majeures dans la connectivité de l'HPCv, et pouvant clairement mettre en avant sa probable implication préférentielle dans les émotions et dans la pathophysiologie de la dépression, est le fait qu'il possède des connexions privilégiées avec différentes structures du système limbique. En particulier le CA1 et le subiculum ventral ont des connexions réciproques avec différents noyaux de l'amygdale (Pitkänen et

al., 2000) et le PFC (Thierry et al., 2000). L'HPCv a aussi des connexions avec le septum latéral et le BNST qui avec l'amygdale, le PFC et le NAc forment un réseau complexe interconnecté et projetant vers l'hypothalamus, le centre intégrateur essentiel au contrôle du système neuroendocrinien et du système nerveux autonome et impliqué dans de nombreuses fonctions physiologiques et comportements motivationnels, incluant la reproduction, les comportements de défense, la prise de nourriture, etc (Kishi et al., 2000; Herman et al., 2005).

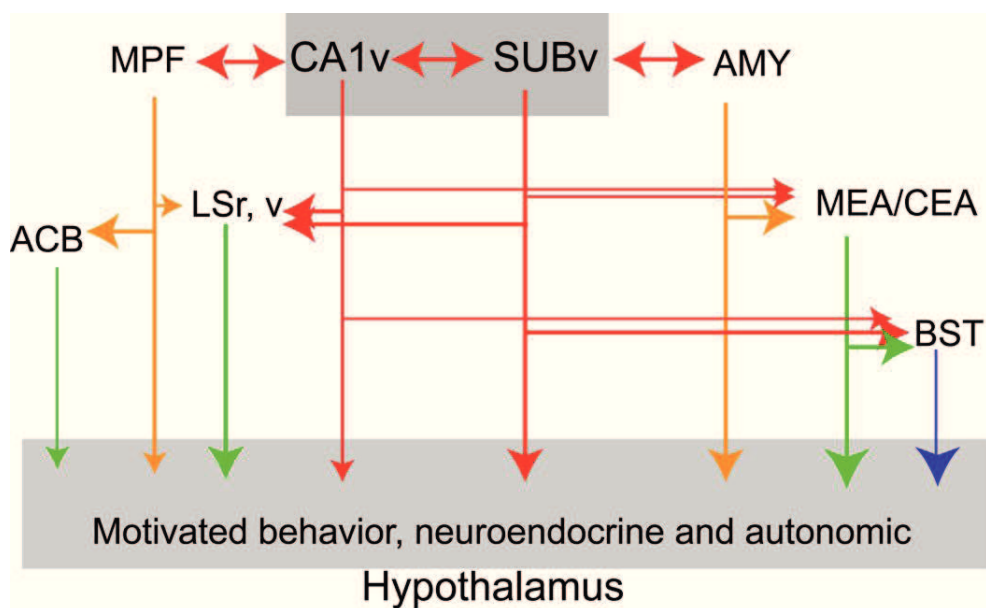


Figure 17. Connectivité de l'hippocampe ventral et du complexe subiculaire ventral. ACB, noyau accumbens ; AMY : noyaux corticaux de l'amygdale ; BST : noyaux du lit de la strie terminale ; CEA : noyau central de l'amygdale ; LSr,v : parties rostrales et ventrales du septum latéral ; MEA : noyau médian de l'amygdale ; MPF : cortex préfrontal médian ; SUBv : subiculum ventral.

Par ailleurs les études de traçage anatomique ont confirmé que les projections hippocampiques potentiellement à l'origine de la régulation de l'axe HPA proviennent principalement du subiculum et du CA1 ventral. Ces neurones glutamatergiques innervent la périphérie du PVN et différentes structures intermédiaires tels que différentes sous-régions du BNST ainsi que le noyau dorsomédian de l'hypothalamus et l'aire préoptique ventrolatérale. Ces régions, riches en neurones GABAergiques exercent en retour une influence directe sur l'activité des neurones du PVN (Herman et Mueller, 2006; **Figure 18**). L'hippocampe n'a donc pas de projections directes sur les neurones du PVN mais c'est à travers des circuits multisynaptiques qu'il exercerait une action régulatrice sur l'axe HPA.

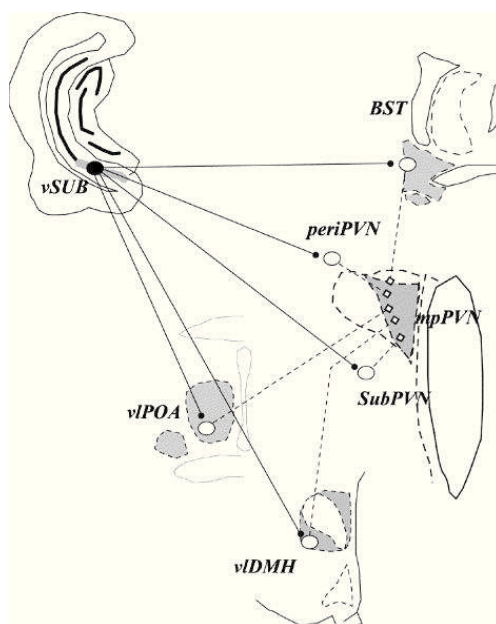


Figure 18. Influence inhibitrice indirecte du subiculum ventral sur le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus. Les projections excitatrices glutamatergiques et leurs terminaisons sont indiquées en traits noirs ; les neurones GABAergiques sont indiqués par des cercles blancs, leurs projections par des traits pointillés, et leurs terminaisons par des carrés blancs. Les études de traçage anatomique et physiologiques montrent que l'influence inhibitrice du subiculum ventral est indirecte et fait intervenir des régions comme les noyaux du lit de la strie terminale (BST), des régions périphériques du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (peri-PVN et subPVN), l'aire préoptique ventrolatérale (vIPOA) et les régions ventrolatérales de l'hypothalamus dorsomédian (vDMH). Ces régions riches en populations de neurones GABAergiques relaie l'information hippocampique et projettent directement sur les neurones parvocellulaires à CRH du noyau paraventriculaire médian (mpPVN). Extrait de Herman et Mueller (2006).

Outre ces connexions avec le système de réponse au stress, les connexions de l'HPCv avec ces différentes structures suggère un rôle important dans la régulation des états affectifs et une importance éventuelle dans la pathophysiologie de la dépression. En effet le NAc est connu pour être fortement lié aux comportements hédoniques. L'amygdale est centrale dans l'expression de la peur et dans l'évaluation de la valence émotionnelle des informations environnementales. Et finalement le PFC exerce un contrôle important sur ces différents systèmes, via notamment les fonctions exécutives.

D'autres différences structurelles ont été rapportées entre l'HPCd et l'HPCv. En particulier, différentes études ont montré des différences frappantes dans l'expression de différents gènes entre l'HPCd et l'HPCv, et ce pour les champs CA1 et CA3 et aussi le gyrus denté (**Figure 18**) (Fanselow et Dong, 2010). Certains gènes ne sont en effet exprimés que dans l'HPCd et d'autres uniquement dans les HPCv. Ces données renforcent l'idée que ces deux régions sont fonctionnellement distinctes.

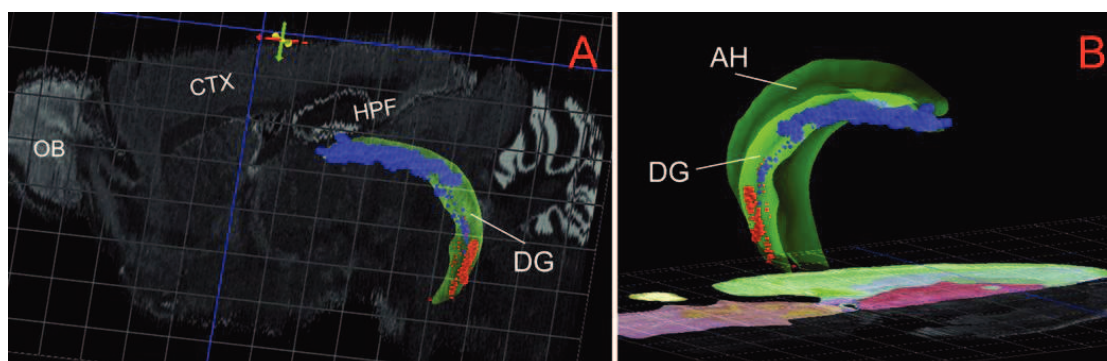


Figure 19. Hétérogénéité moléculaire le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. Reconstitution tridimensionnelle de l'hippocampe en vue latérale (A) et médiale (B) générés à partir du logiciel BrainExplorer montrant deux gènes, Lct (bleu) et Trhr (rouge), différemment exprimés le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. OB : bulbes olfactifs ; CTX : cortex cérébral ; DG : gyrus denté ; HPF : formation hippocampique ; AH : corne d'Ammon. Extrait de Fanselow et Dong (2010).

4.3. Dissociation fonctionnelle le long de l'axe septo-temporal

4.3.1. Implication préférentielle de l'HPCd dans la mémoire et l'encodage spatial

Les premiers rapports décrivant une contribution différentielle de l'HPCd et l'HPCv dans des tâches d'apprentissage suite à des lésions de l'hippocampe datent des années 60 (Hughes, 1965; Stevens et Cowey, 1973; Sinnamon et al., 1978). Ces études sont les premiers indices que des lésions de l'HPCd perturbent l'acquisition d'un apprentissage spatial alors que les lésions ventrales n'ont pas d'effet. Par la suite, différentes études ont confirmé une implication différentielle de ces deux régions dans l'apprentissage, particulièrement dans un des tests les plus couramment utilisés pour étudier la mémoire spatiale chez les rongeurs, la piscine de Morris. Dans ce type de labyrinthe l'animal est placé dans un bassin rempli d'eau et doit, en se servant d'indices visuo-spatiaux, localiser une plateforme submergée au cours de plusieurs sessions d'apprentissage afin de s'extraire du milieu aquatique. Moser et al. ont ainsi confirmé que des lésions de l'HPCd perturbaient de façon importante l'apprentissage dans ce test alors que des lésions de l'HPCv de taille similaire avaient un effet moindre sur les performances (Moser et al., 1993, 1995). De façon intéressante l'atteinte des performances semble corrélée à l'étendue des lésions de l'HPCd (Moser et al., 1995). Même avec une lésion couvrant 70 à 80% de l'hippocampe l'apprentissage était toujours possible à condition que la partie non lésée soit située dans le pôle septal.

Depuis d'autres études ont étendu ces résultats à d'autres formes d'apprentissage avec des conclusions similaires. Les lésions de l'HPCd mais aussi son inactivation temporaire par microinfusion

de muscimol semblent perturber à la fois la mémoire spatiale de référence (à long-terme) mais aussi la mémoire de travail (Hock et Bunsey, 1998; Bannerman et al., 1999; Pothuizen et al., 2004; Klur et al., 2009). Par ailleurs le recrutement différentiel de l'HPCd et l'HPCv dans diverses tâches d'apprentissages a été mis en évidence par des mesures électrophysiologiques (Jung et al., 1994; Colombo et al., 1998), des mesures de l'expression du c-fos (Vann et al., 2000) ou bien des mesures en IRMf (Maguire et al., 1997; Greicius et al., 2003; Kumaran et al., 2009). Les études célèbres rapportant des changements fonctionnels et structurels dans l'hippocampe de chauffeurs de taxi londoniens montrent en effet que ces changements concernent plus particulièrement l'hippocampe postérieur, qui est l'équivalent de l'HPCd chez les rongeurs (Maguire et al., 1997, 2000). L'activation différentielle de l'hippocampe antérieur et postérieur chez l'homme n'est cependant pas uniquement observée pendant des tâches spatiales, mais aussi verbales (Greicius et al., 2003) et plus généralement dans l'acquisition de règles logiques conceptuelles permettant d'adapter sa réponse dans des contextes d'apprentissage différents (Kumaran et al., 2009).

Il apparaît donc que les aspects cognitifs, en particulier l'apprentissage et la mémoire, sont soutenus préférentiellement par l'HPCd. Cependant l'implication différentielle de l'HPCd et l'HPCv dans l'apprentissage n'est pas si nette, plutôt qu'une dissociation il semblerait que ces deux régions contribuent de façon différente dans ces tâches. En effet certaines études montrent une contribution de l'HPCv dans l'apprentissage spatial (de Hoz et al., 2003; Ferbinteanu et al., 2003; Loureiro et al., 2012) qui pourrait dépendre du type et des conditions d'apprentissage, en particulier de sa durée (De Hoz et al., 2003). Même si moindre, la contribution de l'HPCv dans ces fonctions est d'ailleurs supportée par le fait que des cellules de lieu sont aussi présentes, bien qu'en nombre plus restreint, dans les régions temporales de l'hippocampe. Elles présentent en outre des caractéristiques électrophysiologiques différentes, notamment une moins grande sélectivité spatiale (Jung et al., 1994; Kjelstrup et al., 2008).

L'implication préférentielle de l'HPCd dans la formation de la mémoire contextuelle a aussi été largement étudiée dans le conditionnement de peur contextuelle. Un certain nombre d'études montrent que des lésions de l'HPCd empêchent la formation de l'association contexte-choc mais pas l'expression de la peur suite à un conditionnement classique avec une association son-choc (Kim et Fanselow, 1992; Yoon et Otto, 2007). Ces résultats soulignent l'importance de l'HPCd dans la formation de la mémoire contextuelle et non l'expression de la peur en elle-même. Bien que les résultats des études de lésion, d'inactivation ou d'activation de l'HPCv soient plus contrastés, il semble cependant que l'HPCv puisse être impliqué plus spécifiquement dans le rappel et non l'acquisition de la peur contextuelle (Maren et Holt, 2004; Yoon et Otto, 2007 ; mais voir Bast et al., 2001; Zhang et al., 2001 pour résultats contradictoires). Cette contribution serait par ailleurs dépendante des champs CA1 et CA3 (Hunsaker et Kesner, 2008). Même s'il n'a pas de rôle dans le

traitement détaillé des informations contextuelles, de par ses connections privilégiées avec l'amygdale il a été suggéré que l'HPCv pourraient être une voie de passage des informations encodées par l'HPCd et ainsi contribuer à l'expression de la peur contextuelle. Parallèlement l'influence de l'HPCv dans le conditionnement de peur pourrait être aussi indirecte et passer par la modulation de la transmission dopaminergique dans le cortex préfrontal (Thierry et al., 2000; Peleg-Raibstein et al., 2005).

Finalement, malgré une implication différentielle de l'HPCd et l'HPCv dans l'apprentissage spatial et la mémoire contextuelle, le modèle d'une dichotomie entre ces deux régions n'est sûrement pas adapté. L'intégration de ces deux composantes fonctionnelles sous tendues par les régions dorsales et ventrales de l'hippocampe est sans doute nécessaire pour l'élaboration d'un apprentissage et la mise en place des stratégies de navigation nécessaires à la résolution de tâches spatiales ou d'une réponse comportementale adaptée. A partir de l'observation que des lésions des régions intermédiaires de l'hippocampe induisaient des déficits importants dans l'acquisition d'un apprentissage spatial, tandis que des lésions de l'HPCd et l'HPCv ne perturbaient l'apprentissage que modérément, une étude récente suggère que les régions intermédiaires de l'hippocampe serviraient justement de centre intégrateur pour les informations encodées par l'HPCd et celles encodées par l'HPCv (Bast et al., 2009; mais voir Jarrard et al., (2012) pour résultats différents).

Au vu des différences anatomiques existant entre ces deux régions il est clair que la contribution de l'HPCv est vraisemblablement qualitativement différente de celle de l'HPCd dans l'apprentissage et de façon plus générale le comportement. En effet un nombre important d'études montrent que si son importance est peut-être limitée dans l'acquisition spatiale, l'HPCv est très étroitement lié aux états affectifs et motivationnels.

4.3.2. Implication préférentielle de l'HPCv dans les états affectifs, motivationnels et la régulation du stress

Le fait que certaines fonctions puissent être préférentiellement dépendantes de l'HPCd a conduit à s'interroger sur le rôle spécifique de l'HPCv. Dans le conditionnement de peur, alors que l'HPCd semble spécifiquement impliqué dans l'encodage et le rappel de l'information contextuelle, de façon intéressante les lésions ou inactivation de l'HPCv peuvent perturber à la fois la forme dépendante du contexte mais induisent aussi un déficit du conditionnement au son (Maren et Holt, 2004; Hunsaker et Kesner, 2008). Même si l'influence de l'HPCv dans la peur conditionnée pourrait résulter de son implication dans la formation de l'association son-choc en elle-même ou de ses caractéristiques, il pourrait néanmoins être impliqué plus directement dans le contrôle des émotions et son expression. En utilisant des tests n'impliquant pas de conditionnement chez l'animal un

certain nombre d'études ont montré que des lésions de l'HPCv induisaient un important effet anxiolytique. Cela inclut une diminution de l'hypophagie induite par la nouveauté (Burns et al., 1996; Bannerman et al., 2002; McHugh et al., 2004), une diminution de la réponse de peur ou des comportements défensifs induits par l'exposition à l'odeur d'un prédateur (Blanchard et al., 2005; Pentkowski et al., 2006), une augmentation du nombre d'entrées dans les bras ouverts dans l'EPM ou dans des paradigmes dérivés (Kjelstrup et al., 2002; Degroot et Treit, 2004; Trivedi et Coover, 2004; **Figure 20**), et une augmentation des interactions sociales (McHugh et al., 2004). De plus ces effets ne sont pas observés suite à des lésions de l'HPCd dans la plupart de ses études, indiquant un rôle spécifique de l'HPCv dans un large spectre de comportements liées aux émotions.

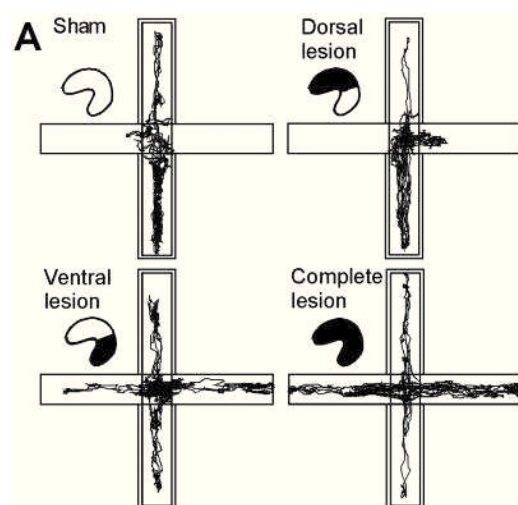


Figure 20. Lésions partielles de l'hippocampe et comportement anxieux dans la croix surélevée. Schéma représentatif du parcours effectué dans la croix surélevée par des animaux témoins (sham) ou subissant des lésions partielles ou totales de l'hippocampe. Les lésions spécifiques de l'HPCv, au même titre que les lésions totales de l'hippocampe, induisent une augmentation des déplacements des animaux dans les bras ouverts (contour simple sur le schéma) du dispositif, indiquant un effet anxiolytique des lésions de l'HPCv. Extrait de Kjelstrup et al. (2002).

En accord avec les études de lésion l'antagonisme des récepteurs NMDA par l'AP5 ne semble diminuer l'anxiété que quand il est infusé dans l'HPCv et non l'HPCd (Nascimento Häckl et Carobrez, 2007). Certaines études ont par ailleurs montré une double dissociation fonctionnelle entre l'HPCd, dont les lésions induisent des perturbations d'apprentissage spatial mais n'a pas d'effet sur le comportement anxieux, et l'HPCv, dont les lésions induisent d'importants effets anxiolytiques mais n'influent pas sur l'apprentissage (Bannerman et al., 2002; Kjelstrup et al., 2002; McHugh et al., 2004). Cette double dissociation fonctionnelle a été récemment illustrée par McHugh et al. chez l'animal en utilisant l'ampérométrie à potentiel constant, une technique d'imagerie permettant de visualiser les changements d'oxygénation du tissu cérébral dépendants du flux sanguin et de l'activité neuronale. Dans cette étude l'activation de l'HPCd était plus importante dans des tâches d'apprentissage spatial alors que l'HPCv était plus activé dans des paradigmes mesurant l'anxiété (McHugh et al., 2011). Chez l'homme la plus forte activité de l'hippocampe postérieur (équivalent de l'HPCd chez les rongeurs) pendant des tâches de navigation spatiale a déjà été décrite (Hartley et al., 2003) ainsi que la plus grande activation de l'hippocampe antérieur dans un contexte associé à l'anxiété (Hasler et al., 2007; Oler et al., 2010).

Comme vu précédemment, une des différences fonctionnelles majeure entre l'HPCd et l'HPCv est que l'aptitude de l'hippocampe à réguler la réponse au stress semble plus particulièrement dépendante de l'HPCv. Ceci est cohérent avec son rôle dans l'anxiété et ses connexions privilégiées avec le système limbique et des structures sous corticales servant de relais dans l'intégration du stress et exerçant une action régulatrice sur le PVN. Les lésions sélectives du subiculum ventral entraînent l'augmentation de l'expression de CRH dans le PVN ainsi que les niveaux de corticostérone en réponse à un stress de contention (Herman et al., 1995) et dans une moindre mesure dans l'EPM (Mueller et al., 2004). Les lésions de l'HPCv ne semblent cependant pas perturber les niveaux de base et le rythme circadien de sécrétion de corticostérone (Herman et al., 1995), contrairement à ce qui a été observé dans certaines études après des lésions totales de l'hippocampe (Jacobson et Sapolsky, 1991), suggérant une implication de l'HPCd dans la régulation du niveau basal de sécrétion. Il est intéressant de noter que les lésions de l'HPCv induisent à la fois une hyperactivité de l'axe HPA dans une situation anxiogène comme l'EPM mais a tout de même un effet anxiolytique dans ce même test (Mueller et al., 2004) ce qui suggère que les réponses comportementales et neuroendocriniennes à une situation anxiogène impliquant l'HPCv sont peut-être dissociables.

Cette implication différentielle dans la régulation hippocampique de l'axe HPA pourrait être dépendante du pattern de connectivité sensiblement différent entre ces deux régions. Parallèlement elle pourrait aussi découler d'une expression ou fonction différentielle des récepteurs aux glucocorticoïdes dans l'HPCd et l'HPCv. Des différences notables ont été décrites allant dans ce sens mais avec des résultats contradictoires. Lin et al. (2012) ont observé une plus grande expression des GR dans l'HPCv comparé à l'HPCd tandis qu'une autre étude a rapporté des niveaux de GR supérieurs dans l'HPCd mais une expression des MR supérieure dans l'HPCv (Robertson et al., 2005). Le ratio GR:MR est donc différent dans ces deux régions, en particulier dans l'HPCv l'expression des MR est deux fois plus importante que celle des GR (Robertson et al., 2005). Bien que les conséquences fonctionnelles d'une telle répartition hétérogène ne soient pas clairement établies, cet équilibre est susceptible d'influer sur la régulation de l'axe HPA en condition basale et suite au stress mais aussi sur d'autres aspects de la fonction hippocampique. En effet, via ces récepteurs les glucocorticoïdes peuvent moduler l'activité neuronale et la transmission synaptique et ceci via des actions non-génomiques mais aussi à travers la régulation transcriptionnelle d'un grand nombre de gènes (Joëls et Baram, 2009; Chaouloff et Groc, 2011). Ils peuvent influencer ainsi sur différentes fonctions cognitives, en particulier la mémoire mais aussi les émotions (de Kloet et al., 2008). De plus l'implication des GR et MR dans le comportement est complexe et différentielle (Oitzl et de Kloet, 1992), les différences observées le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe pourraient donc avoir des conséquences plus larges. Par ailleurs une étude récente montre que l'élévation de

corticostérone suite à un stress aigu était dynamique le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe, avec une élévation initiale dans l'HPCd suivie par l'HPCv. Cette élévation différentielle semble par ailleurs importante dans les effets du stress sur le rappel mnésique (Dorey et al., 2012 ; **Figure 21**) mais pourrait avoir des conséquences sur d'autres paramètres comportementaux ou dans l'initiation du feedback inhibiteur de l'axe HPA.

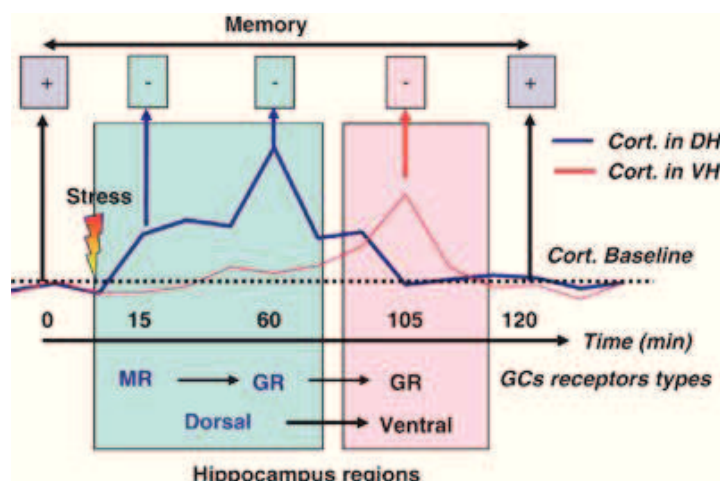


Figure 21. Implication différentielle des récepteurs aux glucocorticoïdes GR et MR dans les effets négatifs du stress sur la mémoire le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe en fonction du temps et des niveaux de corticostérone. Extrait de Dorey et al. (2012).

Les récepteurs GR et MR sont notamment impliqués dans la mise en place de la LTP et de la LTD, deux formes de plasticité importante pour le fonctionnement intrinsèque de l'hippocampe (Kim et Diamond, 2002). De façon intéressante l'effet du stress sur ces formes de plasticité semble différent le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. En particulier Maggio et Segal ont montré dans plusieurs études que le stress aigu diminuait la mise en place de la LTP et facilitait la LTD chez les neurones du CA1 de l'HPCd via un mécanisme dépendant des GRs. Inversement le stress augmente la LTP et diminue la LTD dans l'HPCv via cette fois un mécanisme dépendant des MRs (Maggio et Segal, 2012). Ces effets différentiels du stress ainsi que la répartition hétérogène des récepteurs aux glucocorticoïdes le long de l'axe septo-temporal suggèrent une différence fonctionnelle frappante entre l'HPCd et l'HPCv. L'augmentation de la transmission synaptique suite à un stress aigu dans l'HPCv pourrait faciliter ses communications avec d'autres structures impliquées dans le traitement émotionnel comme l'amygdale et le cortex préfrontal et ainsi contribuer à la mise place d'une réponse comportementale adaptée. Parallèlement le renforcement des connexions sous-corticales impliquées dans la régulation de l'axe HPA conduirait à l'initiation du feedback inhibiteur. Des perturbations de ces mécanismes de plasticité dans l'HPCv suite à une exposition chronique au stress pourraient être particulièrement importantes dans la pathophysiologie de la dépression.

Un autre aspect de la fonction de l'HPCv semble découler de son lien privilégié avec le cortex préfrontal et le système dopaminergique. En plus de son rôle dans la mémoire et les émotions

l'hippocampe semble avoir un rôle dans des fonctions cognitives en lien avec les fonctions exécutives, en particulier les lésions de l'hippocampe semblent induire un manque de flexibilité comportementale et des réponses persistantes dans des tâches précédemment associées à une récompense (Kimble et Kimble, 1965; Nonneman et al., 1974; Devenport et al., 1981; Rawlins et al., 1985). Certains auteurs suggèrent que l'hippocampe est essentiel à l'inhibition active d'une réponse comportementale, ce qui est d'ailleurs en lien avec les effets anxiolytiques des lésions de l'hippocampe dans des tests impliquant l'inhibition du comportement d'exploration ou la prise de nourriture dans une situation potentiellement dangereuse (par exemple EPM et NSF). Ces effets des lésions hippocampiques sont proches des effets connus des lésions du PFC induisant un manque d'inhibition comportementale et la persévérance de comportements inadaptés (Nonneman et al., 1974). De façon intéressante les connexions de l'hippocampe avec le PFC sont principalement ventrales (Ishikawa et Nakamura, 2006) et des lésions spécifiques de l'HPCv, et non de l'HPCd, induisent le même profil comportemental, à savoir une diminution de l'efficacité des fonctions inhibitrices dans différents paradigmes (Abela et al., 2012; Chudasama et al., 2012). Cette implication pourrait par ailleurs être liée à la capacité de l'HPCv à moduler la transmission dopaminergique. En effet la stimulation de l'HPCv module l'activité des neurones dopaminergiques de la VTA (Legault et al., 2000; Floresco et al., 2001; Lodge et Grace, 2006) et stimule la transmission dopaminergique dans le NAc (Blaha et al., 1997; Legault et al., 2000; Peleg-Raibstein et Feldon, 2006) ainsi que dans le PFC (Gurden et al., 2000; Peleg-Raibstein et al., 2005).

D'autres effets des lésions spécifiques de l'HPCv ont été décrits dans des fonctions cognitives particulièrement dépendantes du PFC. Les lésions de l'HPCv pendant une période précoce de développement perturbent notamment les performances dans des tâches de set-shifting, évaluant la flexibilité ou la capacité à appliquer différentes règles incompatibles entre elles pour la résolution d'un problème et à basculer d'une règle à l'autre en fonction de la configuration du problème (Brooks et al., 2012).

La capacité de l'HPCv à moduler l'activité du système méso-corticolimbique dopaminergique souligne son implication potentielle dans un large éventail de comportements émotionnels, attentionnels, motivationnels et sensori-moteurs. De nombreux dysfonctionnements de ces structures ont été décrits chez les patients dépressifs. La capacité des antidépresseurs à rétablir un fonctionnement optimal de l'hippocampe et peut être plus particulièrement de l'HPCv pourrait donc s'avérer essentielle dans leurs effets thérapeutiques, particulièrement au regard de lien entre l'HPCv et la régulation hippocampique de la réponse au stress.

Cette dichotomie est cependant largement simplifiée et découle principalement, en particulier pour les études du comportement anxieux, uniquement d'études lésionnelles. Les études d'infusions intra-hippocampiques sont beaucoup moins claires et indiquent même une certaine contribution de l'HPCd. L'infusion entre autres d'agonistes ou d'antagonistes GABAergiques, 5-HTergiques et cholinergiques peut dans certaines études moduler le comportement anxieux aussi bien après infusion dans l'HPCd que l'HPCv (Engin et Treit, 2007). Il semble donc que l'HPCd soit aussi capable de contribuer à des aspects émotionnels de la fonction hippocampique, mais peut être via des mécanismes différents. En particulier une hétérogénéité a été décrite le long de l'axe septo-temporal dans l'expression ou la fonction de différents récepteurs 5-HTergiques (File et Gonzalez, 1996; Alves et al., 2004; Adams et van den Buuse, 2011; Lin et al., 2012; Tanaka et al., 2012), glutamatergiques (Pandis et al., 2006), et GABAergiques (Sotiriou et al., 2005). Une étude a par exemple montré que l'infusion d'un antagoniste du récepteur à la vasopressine Avpr1a produisait un effet anxiolytique uniquement après infusion dans l'HPCv et non l'HPCd, mais qu'inversement l'antagonisme des récepteurs Avp1b induisait un effet anxiolytique uniquement après infusion dans l'HPCd et non dans l'HPCv (Engin et Treit, 2008). Cette étude souligne que des différences subtiles dans la fonction de certains récepteurs peuvent contribuer à l'hétérogénéité fonctionnelle de l'hippocampe.

Au final, il apparaît que notre compréhension des mécanismes différentiels impliqués dans le rôle de l'HPCd et de l'HPCv est limitée. Ces deux régions semblent impliquées toutes deux dans l'intégration de l'information et dans la mise en place de comportements cognitifs et émotionnels, mais possiblement de façon différente. Tout de même, au vu des différences fonctionnelles et anatomiques entre les régions septales et ventrales de l'hippocampe il est possible que ces régions ne soient pas impliquées de la même façon dans la pathophysiologie de la dépression. En effet beaucoup des altérations comportementales et physiologiques associées à la dépression pourraient s'expliquer par une perturbation du fonctionnement de l'HPCv et de ses interactions. Comme vu précédemment la neurogenèse semble contribuer de façon importante au fonctionnement de l'hippocampe et semble nécessaire, du moins en partie, aux effets thérapeutiques de certains antidépresseurs. Bien que la contribution de la neurogenèse dans ces différents aspects fonctionnels de l'hippocampe ne soit pas totalement établie, un certain nombre d'études montrent une contribution des nouveaux neurones à la fois dans des fonctions supposément dépendantes de l'HPCd et d'autres plus dépendante de l'HPCv. Par exemple un des rôles les plus étudiés des nouveaux neurones est dans la mémoire spatiale et contextuelle (Buel-Jungman et al., 2007) qui semble plus particulièrement dépendante de l'HPCd. Par ailleurs un rôle des nouveaux neurones dans des tâches de flexibilité cognitive dépendante de l'HPCv a aussi été mis en avant (Burghardt et al., 2012). Aussi, la possibilité que les nouveaux neurones hippocampiques soient essentiels à la

régulation de l'axe HPA (Snyder et al., 2011 ; Schloesser et al., 2009) suggère un rôle important de la neurogenèse dans l'HPCv dans la pathophysiologie et particulièrement dans le traitement de la dépression. Parallèlement la contribution de la neurogenèse à une des fonctions supposées du gyrus denté, comme la séparation de pattern (Sahay et al., 2011 ; Clelland et al., 2009), pourrait être uniforme le long de l'axe septo-temporal mais recrutée différemment suivant que la tâche requiert un traitement purement contextuel ou émotionnel, et ainsi avoir un rôle à la fois dans des tâches spatiales mais aussi émotionnelles. La limite des connaissances dans le rôle potentiellement différentiel du gyrus denté entre les régions septales et temporales de l'hippocampe permet difficilement de conclure sur ce point et soulève une question majeure. Les nouveaux neurones ont-ils une fonction générique dans le traitement de l'information et le fonctionnement intrinsèque de l'hippocampe le long de l'axe septo-temporal ? De ce fait leur implication fonctionnelle serait le reflet des différences fonctionnelles entre l'HPCd et l'HPCv, ou ont-ils une fonction spécifique précise, éventuellement différente entre les régions septales et temporales ? Bien que répondre à cette question dépasse largement les prétentions de ce travail de thèse, cette question semble être essentielle au vue de la contribution majeure des nouveaux neurones dans les effets des antidépresseurs. Si la stimulation de la neurogenèse par les antidépresseurs est essentielle pour induire des effets comportementaux, alors l'étude de la régulation de la neurogenèse par le stress ou les modèles de dépression et les antidépresseurs le long de l'axe septo-temporal pourrait peut-être permettre de préciser les fonctions supportées par les nouveaux neurones qui sont essentielles à ces effets thérapeutiques. Les parties suivantes s'intéresseront donc aux éventuelles conséquences de cette dissociation fonctionnelle sur la régulation et la fonction de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe.

4.4. Neurogenèse et axe septo-temporal hippocampique

4.4.1. Gradients de neurogenèse en condition basale

De façon générale, il existe une grande hétérogénéité des méthodes utilisées dans la quantification de la neurogenèse qui rendent difficile la comparaison de beaucoup d'études entre elles. Le fait que l'hippocampe s'étende à la fois le long d'un axe rostro-caudal et en même temps dorso-ventral fait que la définition même de l'HPCd et l'HPCv est différente suivant le plan ou le type de section utilisé. Précisément, même si pour des questions pratiques les dénominations « dorsal » et « ventral » sont le plus généralement utilisées par la communauté scientifique, ils prêtent à confusion car les régions septales et temporales sont définies par des axes différents et non uniquement selon un axe dorso-ventral. La partie septale, qui correspond à la partie la plus dorsale et à la fois la plus rostrale de l'hippocampe, peut être identifiée clairement suivant l'axe antéro-

postérieure car elle est située avant que l'hippocampe ne soit incurvé et donc sur un plan horizontal. Par contre la partie temporale ne correspond pas à la partie la plus caudale/postérieure de l'hippocampe, mais à sa partie la plus ventrale. Il en résulte que sur des sections coronales (méthode la plus couramment utilisée) postérieures on visualise à la fois une partie dorsale du gyrus denté et une partie ventrale. Si certains auteurs (Banasr et al., 2006) qui utilisent des sections coronales séparent les parties dorsales et ventrales du gyrus dans de telles sections (**Figure 22**), en se basant par exemple sur la position de la fissure rhinale, la plupart des études incluent dans leur quantification de la neurogenèse dans l'HPCv des parties qui sont en fait très dorsales, correspondant plutôt à l'hippocampe intermédiaire qu'à la partie temporale de l'hippocampe.

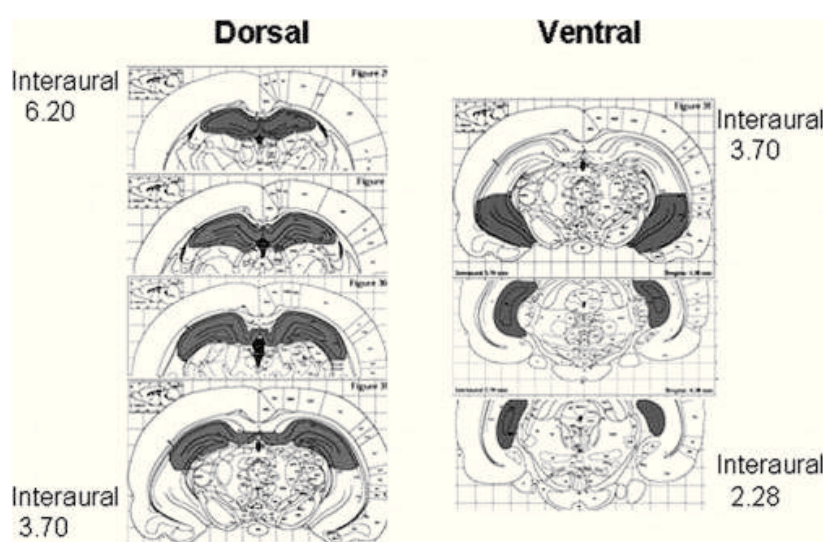


Figure 22. Séparation des composantes dorsale et ventrale de l'hippocampe sur des sections coronales. Les parties grisées représentent les régions incluses en tant qu'hippocampe dorsal et ventral respectivement. On peut voir que du fait que l'hippocampe soit incurvé les coupes les plus postérieures (à droite) incluent à la fois des divisions dorsales et ventrales de l'hippocampe. Ici uniquement la partie la plus ventrale est incluse dans l'analyse. Extrait de Banasr et al. (2006).

Qui plus est les coordonnées utilisées sont souvent très variées et incluent dans la région « ventrale » des sections qui sont en fait uniquement dorsales et même relativement antérieures (Paizanis et al., 2010; **Figure 23**).



Figure 23. Exemple de coordonnées stéréotaxiques utilisées pour définir la division ventrale de l'hippocampe. Image tirée de l'atlas stéréotaxique de Franklin et Paxinos (2008) au niveau bregma - 2.30, utilisé par certaines études pour définir la limite supérieure de l'hippocampe ventral (Paizanis et al., 2010).

Parallèlement, le problème est inversé dans les sections horizontales, qui permettent de visualiser les parties temporales de l'hippocampe de façon plus précise que les sections coronales mais dont les

sections les plus dorsales contiennent à la fois les parties septales de l'hippocampe mais aussi intermédiaire. Il en résulte vraisemblablement une importante hétérogénéité dans les résultats obtenus décrivant des gradients ou des régulations régions-spécifiques de la neurogenèse. Par ailleurs, de par la difficulté d'établir clairement, sur des coupes histologiques, ce que représentent l'HPCd et l'HPCv, le fait de diviser l'hippocampe en seulement deux divisions (comme c'est le cas dans la plupart des études) peut s'avérer relativement imprécis.

Les études qui semblent donc les plus précises dans la description de gradients éventuels de neurogenèse correspondent à celles où l'hippocampe est extrait du cerveau et coupé le long de son axe septo-temporal. Deux études ont ainsi suggéré que la neurogenèse était plus importante dans les parties septales de l'hippocampe (Snyder et al., 2009b; Jinno, 2011b). Ces différences sont cependant dépendantes des stades de maturation des nouvelles cellules, ainsi que leur localisation au sein du gyrus denté (partie infra versus supra pyramidale). En divisant l'hippocampe en 4 subdivisions, Snyder et al. (2009) ont montré des populations de neurones âgés de 4 semaines et de neurones plus immatures exprimant la PSA-NCAM plus importante dans les divisions les plus septales de l'hippocampe. Ces différences sont par ailleurs accentuées dans les parties infra-pyramidales du gyrus denté où un nombre plus important de nouveaux neurones est retrouvé dans l'HPCd comparé à l'HPCv. Des résultats similaires ont été obtenus par Shizo Jinno (2011) où une plus grande population de cellules DCX+ est observée dans l'HPCd. Cette dernière étude montre cependant que ce résultat est attribué à un plus grand nombre de cellules DCX+ dans la partie supra-pyramidale, contrairement aux résultats de l'étude précédente. Parallèlement et de façon intéressante il ne semble pas y avoir de différence dans le nombre de cellules exprimant le marqueur de NSC BLBP et dans leur activité proliférative entre l'HPCd et l'HPCv. En revanche le taux de prolifération des cellules DCX+ semble plus important dans l'HPCv (du fait d'une activité proliférative globale identique entre les deux régions mais d'une plus grande population de cellules DCX+ dans l'HPCd). D'autres marqueurs semblent aussi présenter des différences notables d'expression le long de l'axe septo-temporal. La calrétinin, marqueur de neurones immatures post-mitotiques (Brandt et al., 2003) est par exemple plus exprimé dans l'HPCd que l'HPCv (Liu et al., 1996; Jinno, 2011b)

D'autres études ont aussi bien avant suggéré des taux de neurogenèse plus importants dans l'HPCd (Dawirs et al., 1998; Ferland et al., 2002). Certains auteurs suggèrent que ces différences sont les réminiscences du gradient de développement du gyrus denté pendant le développement, la partie septale du gyrus étant formée après la partie temporale (Schlessinger et al., 1975; Piatti et al., 2006). Ces résultats sont cependant balancés par d'autres études qui montrent soit aucune différence entre les deux régions ou même des niveaux de prolifération cellulaire plus importants dans l'HPCv (Rao et

Shetty, 2004; Silva et al., 2006). Là encore les différences méthodologiques sont susceptibles de grandement influencer ces résultats.

Comme souligné par Jinno (2011a, 2011b), la possibilité que même en situation basale le pattern de développement des nouveaux neurones soit différent le long de l'axe septo-temporal peut suggérer une fonction ou un recrutement différent de la neurogenèse dans ces deux régions. En mesurant de façon complémentaire les propriétés morphologiques et électrophysiologiques des nouveaux neurones, ainsi que leur expression de marqueurs endogènes et de marqueurs d'activation précoce, une étude récente a ainsi montré que la maturation fonctionnelle des nouveaux neurones était plus lente dans l'HPCv que dans l'HPCd (Piatti et al., 2011). L'étude montre par ailleurs que la maturation des nouveaux neurones est dépendante de leur excitabilité et que l'activité physique, en stimulant l'activité intrinsèque de l'hippocampe, stimulait la maturation des nouveaux neurones spécifiquement dans l'HPCv, annulant ainsi les différences de maturation entre HPCd et HPCv. Ces résultats mettent en avant des propriétés différentes des nouveaux neurones dans l'HPCd et l'HPCv, dépendantes des configurations et l'activité de l'hippocampe, et suggérant potentiellement une implication différentielle dans l'encodage des informations et dans les comportements. Si la maturation des nouveaux de l'HPCv est plus lente, leur fenêtre temporelle d'hyperexcitabilité pendant leur développement est plus longue et ils sont peut-être plus susceptibles d'être recrutés que les nouveaux neurones de l'HPCd pendant diverses tâches comportementales. Snyder et al. (2009) ont ainsi montré un recrutement préférentiel des nouveaux neurones de l'HPCv dans une tâche d'apprentissage spatial (MWM) par rapport aux nouveaux neurones de l'HPCd, et ce même si la population de neurones matures activés était plus importante dans l'HPCd.

Les propriétés différentes ainsi que les nombreuses différences anatomiques, cellulaires et moléculaires entre les régions septales et temporales de l'hippocampe pourraient donc résulter dans la régulation différentielle par différents facteurs environnementaux et pharmacologiques le long de cet axe.

4.4.2. Régulation de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal

4.4.2.1. Régulation par les modèles de dépression

Le **tableau 6** présente une liste d'études ayant quantifié les modifications régionales dans différentes étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe suite à l'exposition à différents modèles comportementaux et génétiques de la dépression ou de résistance aux troubles anxieux/dépressifs (exercice physique, environnement enrichi).

Les études étudiant les effets d'un modèle spécifiquement dans l'HPCd ou l'HP Cv et non dans les deux régions n'ont pas été intégrés (exemple: Jayatissa et al., 2009). Au vue du tableau il apparait clairement que le nombre d'études est trop faible pour conclure et les résultats semblent, outre les différences méthodologiques, dépendre du modèle utilisé, de l'espèce, du sexe, et de l'étape de développement des nouveaux neurones étudiée.

Les résultats les moins contrastés sont peut-être ceux concernant les mesures de neurogenèse « brute » dans les modèles comportementaux de dépression, évaluée soit par le biais de marqueurs de neurones immatures (le plus souvent DCX) ou le nombre de cellules ayant incorporées le BrdU et exprimant des marqueurs neuronaux. En l'occurrence sur 6 études, 4 montrent un effet du modèle uniquement dans l'HP Cv (Brummelte et Galea, 2010; Elizalde et al., 2010; Oomen et al., 2010; Morley-Fletcher et al., 2011), une montrant des effets de l'UCMS à la fois dans l'HPCd et l'HP Cv (Nollet et al., 2012), et une montrant que dans le modèle du « learned helplessness » la neurogenèse est diminuée uniquement dans l'HPCd (Ho et Wang, 2010). Par ailleurs dans le modèle CORT, si la neurogenèse semble diminuée spécifiquement dans l'HP Cv chez des rats femelles, les mâles soumis au modèle ont une réduction dans les deux régions de l'hippocampe, montrant une éventuelle influence du sexe sur l'influence de la corticostérone sur la neurogenèse (Galea et Brummelte, 2010).

La survie des nouveaux neurones est aussi possiblement préférentiellement affectée dans l'HP Cv. Quatre études sur 6 montrant un effet négatif d'un modèle de dépression l'observent dans l'HP Cv (Zuena et al., 2008; Oomen et al., 2010; Morley-Fletcher et al., 2011; Hawley et Leasure, 2012), tandis que le « learned helplessness » affecte la survie préférentiellement dans l'HPCd (Ho et Wang, 2010) et l'UCMS indifféremment le long de l'axe septo-temporal (Nollet et al., 2012). De façon intéressante, là encore le sexe semble influencer sur l'effet du stress car la contention prénatale chez les femelles n'induit pas de modification de la neurogenèse contrairement à l'effet observé chez les mâles (Zuena et al., 2008). Il faut cependant préciser que parmi ces études des effets sur la prolifération cellulaire auraient pu interférer sur l'incorporation du BrdU et la mesure de la survie des nouveaux neurones étant donné que le BrdU est administré au milieu du protocole (Nollet et al., 2012) ou après le protocole de stress (Zuena et al., 2008 ; Morley-Fletcher et al., 2011).

Référence	Modèle	Espèce/lignée	Prolifération	Survie	Maturation	Neurogenèse nette	Différentiation	Sections	Coordonnées HPCd (/bregma)	Coordonnées HPCv (/bregma)
Modèles de dépression										
Brummelte et Galea, 2010	CORT 40mg/kg 21 jours	Sprague–Dawley femelles, 3 mois	D0 V-	NA	NA	D0 V-	NA	coronales	-1.8 mm à -5.2 mm	-5.2 mm à -6.7 mm
	CORT 40mg/kg 21 jours	Sprague–Dawley mâles, 3 mois	D0 V-	NA	NA	D- V-	NA	coronales	-1.8 mm à -5.2 mm	-5.2 mm à -6.7 mm
Rainer et al., 2011	CORT (5 mg/kg/day) 28 jours	C57BL/6Ntac mâles 7 à 8 semaines	D- V-	NA	0	0	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
Nollet et al., 2012	SCIM	souris BALB/C mâles 8 semaines	D- V-	D- V-	NA	D- V-	NA	coronales	-0.94 à -1.58 mm	-3.40 à -3.88 mm
Jayatissa et al., 2006	SCIM	rats Wistar mâles	D0 V-	NA	NA	NA	NA	horizontales	-3.10 à -4.28 mm	-4.60 à -8.82 mm
Hawley et Leasure, 2012	SCIM	Long-Evans mâles	NA	D0 V-	NA	NA	NA	coronales	-1.88 à -4.30 mm	-4.52 à -6.04 mm
Elizalde et al., 2010	SCIM	souris C57BL/6 mâles, 8 à 10 semaines	NA	NA	NA	D0 V-	NA	coronales	-1.60 à -2.70 mm	-2.70 à -3.60 mm
O'Leary et al., 2012	Immobilisation chronique 9 jours	souris BALB/C mâles, 8 semaines	0	D- V0	NA	NA	NA	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.46 à -3.80 mm
Ho et Wang, 2010	Learned helplessness	Sprague–Dawley mâles, 7 semaines	D- V0	D- V0	NA	D- V0	NA	extraction hippocampe	1er tiers	derniers tiers
Zuena et al., 2008	Contention prénatale	Sprague-Dawley femelles	0	0	NA	NA	NA	coronales	-1.8 à -3.8 mm	-4.16 à -6.3 mm
	Contention prénatale	Sprague-Dawley mâles	NA	D0 V-	NA	NA	NA	coronales	-1.8 à -3.8 mm	-4.16 à -6.3 mm
Morley-Fletcher et al., 2011	Contention prénatale	Sprague–Dawley mâles, 2 à 3 mois	NA	D0 V-	NA	D0 V-	NA	coronales? Horizontales ?	7.2 to 4.4 mm au-dessus ligne interaurale	4.3 to 2.7 mm au-dessus ligne interaurale
Oomen et al., 2010	Privation maternelle	rats Wistar mâles, 9 à 10 semaines	D- V-	D0 V-	NA	D0 V-	NA	coronales	-2.5 à -4.0 mm	-4.5 à -6.7 mm

Modèles génétiques induisant un phénotype dépressif/anxieux

Xia et al., 2012	5-HT1A/1B-/-	souris C57BL6/Sv129	0	D- V-	NA	NA	NA	coronales	-1,22 à -2,06 mm	-2,3 à -3,08 mm
Paizanis et al., 2010	GR-i	souris B6C3F1 10 semaines	D- V-	D- V-	NA	NA	0	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.30 à -3.80 mm
Llorens-Martin et al., 2011	Tg tauVLW	souris VLW femelles	D0 V-	NA	NA	D- V-	NA	sagittales	-	-
Eadie et al., 2009	Fragile X syndrome (Fmr1 KO)	background C57BL/6 males, 8 à 9 semaines	0	D0 V-	NA	0	D0 V+	coronales	- 1.34 à - 2.30	- 2.46 à - 3.40

Facteurs environnementaux

Tashiro et al., 2007	Environnement Enrichi	C57BL/6 males, 8 semaines	NA	D+V+	NA	D+V+	NA	coronales	8 sections le long de l'axe une toute les 240 µm	
Bednarczyk et al., 2009	Exercice physique	souris CD1 mâles, 2 mois	D+ V+	NA	NA	D+V+	D+V+	coronales	-1.00 à -3.50 ; 6 niveaux	
Piatti et al., 2011	Exercice physique	C57BL/6 femelles, 6-7 semaines	NA	NA	D0 V+	NA	NA	coronales	-0.9 à -1.8 mm	-2.7 à -3.88
Ambrogini et al., 2000	apprentissage spatial (MWM)	Sprague-Dawley mâles, 2 mois	NA	D+ V0	NA	NA	NA	coronales		?
Dalla et al., 2009	trace eyeblink conditioning	Sprague-Dawley mâles, 70 à 90 jours	NA	D+ V0	NA	NA	NA	coronales	-2.12 à -5.30 mm	-5.30 à -6.72 mm
	trace eyeblink conditioning	Sprague-Dawley femelles 70 à 90 jours	NA	D+ V++	NA	NA	NA	coronales	-2.12 à -5.30 mm	-5.30 à -6.72 mm

Autres

Jinno et al., 2011	vieillesse	souris C57BL/6J mâles, 2 et 10 mois	D- V- -	NA	NA	D- V- -	NA	extraction hippocampe	1er tiers	dernier tiers
Chun et al., 2006	LTP dans la voie perforante	Sprague-Dawley males 9 à 11 semaines	D+ V+	NA	NA	NA	NA	coronales	-2.6 à -4.4 mm	-5.2 à -6.6 mm
Ferland et al., 2002	Convulsions induites par flurothyl	C57BL/6J males	D+ V++	NA	NA	NA?	NA	sagittales	-	-

Tableau 6. Régulation différentielle des différentes étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe par les modèles animaux de dépression et les facteurs environnementaux. NA = donnée non étudiée ; 0 = pas d'effet ; +/- augmentation et diminution respectivement dans l'HPCd (D) ou l'HPCv (V).

: Effets spécifiques à l'HPCd ; : Effets spécifiques à l'HPCv ; : Effets observés dans les deux divisions ; : Effets observés dans les deux divisions mais avec une magnitude différente.

Les résultats concernant la prolifération cellulaire sont en revanche beaucoup plus contrastés. Ceci met en avant que ces différentes étapes ne sont pas nécessairement régulées de la même façon le long de l'axe septo-temporal. Par exemple, la même étude montre que si le modèle de contention prénatale semble diminuer la neurogenèse et la survie des nouveaux neurones spécifiquement dans l'HPCv, la prolifération cellulaire est altérée à la fois dans l'HPCd et l'HPCv (Oomen et al., 2010).

Il est tout de même important de noter que parmi toutes les études recensées une seule étude montre un effet préférentiellement dans l'HPCd (Ho et Wang, 2010). Toutes les autres, quel que soit l'étape étudiée ou le modèle utilisé observent des effets soit indifféremment le long de l'axe septo-temporal soit uniquement dans l'HPCv. Cela semble suggérer que l'HPCv est peut-être plus sensible aux effets du stress que l'HPCd. Il est possible que la durée d'exposition au stress soit un facteur important dans la régionalisation des effets sur la neurogenèse et qu'une exposition prolongée induise des changements à la fois dans l'HPCd et l'HPCv.

Finalement, hormis le modèle du « learned helplessness », toutes les autres études chez le rat semblent indiquer des effets négatifs sur différentes étapes de la neurogenèse préférentiellement dans l'HPCv, indiquant une différence potentiellement importante entre le rat et la souris chez laquelle les résultats sont moins nets. Certaines différences ont déjà été rapportées entre les propriétés des nouveaux neurones chez le rat et la souris, en particulier une maturation plus lente et une activation moins importante pendant des tâches d'apprentissage chez la souris (Snyder et al., 2009a).

Une plus grande vulnérabilité des nouveaux neurones au stress et aux glucocorticoïdes dans l'HPCv pourrait être liée à de nombreux facteurs agissant différemment le long de l'axe septo-temporal. L'activité de l'amygdale, capable de moduler l'activité de l'hippocampe (Ikegaya et al., 1996; Paz et al., 2006), participe aussi à la régulation de la neurogenèse hippocampique et le recrutement des nouveaux neurones dans un contexte évoquant la peur (Kirby et al., 2012). Les connexions réciproques entre l'amygdale et l'hippocampe étant principalement ventrales il est possible que le stress, la dépression ou les états anxieux modifient la neurogenèse préférentiellement dans l'HPCv.

De par leur participation essentielle à la régulation de la neurogenèse, la régulation différentielle par le stress de certains facteurs trophiques pourraient peut-être expliquer la modulation régionale de la neurogenèse. Une étude a par exemple montré que la séparation maternelle induisait une diminution des neurotrophines NGF et NT-3 spécifiquement dans l'HPCv, alors que les niveaux de NT-3 étaient augmentés dans l'HPCd (Marais et al., 2008). Ces résultats sont cependant contrastés par une autre étude montrant que suite à la séparation maternelle les niveaux de BDNF, NGF et NT-3 étaient augmentés à la fois dans l'HPCd et l'HPCv (Faure et al., 2007).

Un certain nombre d'autres études montrent une relation plus complexe entre les niveaux de BDNF, la neurogenèse dans l'HPCd et l'HPCv et les comportements dépressifs/anxieux. Zuena et al. (2008) ont en effet montré que si la survie des nouveaux neurones semble diminuée préférentiellement dans l'HPCv dans le modèle de contention prénatale chez les mâles, ceci est associé à une augmentation de l'expression du BDNF et du pro-BDNF dans la totalité de l'hippocampe (sans distinction dorsal/ventral). Parallèlement une autre étude a montré que le stress chronique augmentait l'expression de l'ARNm du BDNF dans le gyrus denté de l'HPCd et dans le CA3 ventral (Larsen et al., 2010). Finalement, la réduction de l'expression du BDNF spécifiquement dans le gyrus denté dorsal diminue la neurogenèse dans l'HPCd et induit un comportement dépressif dans le test de préférence au sucrose et dans le FST en plus de perturber l'apprentissage dans le MWM (Taliaz et al., 2010). Cette même étude montre aussi que la réduction de l'expression du BDNF spécifiquement dans le subiculum ventral conduit à un comportement anhédonique dans le test de préférence au sucrose mais n'induit pas d'altération dans le FST, et ne modifie pas l'acquisition dans le MWM. Il apparaît donc que des perturbations du BDNF à la fois dans l'HPCd et l'HPCv peuvent conduire à des profils dépressifs, en partie dans les mêmes tests (préférence au sucrose) mais aussi induire des altérations spécifiques (FST). Il n'est cependant pas établi si ces effets sont dépendants d'une diminution de la neurogenèse.

Outre les neurotrophines, d'autres mécanismes sont susceptibles d'influer sur une régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal. Comme vu précédemment, les récepteurs 5-HT_{1A} sont impliqués dans la régulation de la neurogenèse et dans les comportements anxieux et dépressifs. Les glucocorticoïdes régulent l'expression de ce récepteur (Burnet et al., 1992; Chalmers et al., 1994) et une diminution de la fonctionnalité du récepteur 5-HT_{1A} a été observée suite au stress prénatal spécifiquement dans l'HPCv (Van den Hove et al., 2006). Par ailleurs l'inactivation du récepteur 5-HT_{1A} induit une diminution de l'expression du BDNF spécifiquement dans l'HPCv (Wu et al., 2012). Les interactions entre le 5-HT_{1A} et le BDNF peuvent potentiellement induire des différences locales de neurogenèse dans les modèles de dépression. L'inactivation conjointe des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} induit, en plus d'un comportement anxieux/dépressif dans différents tests (Guilloux et al., 2011a), des changements importants d'expression de différents gènes dans l'HPCv, dont plusieurs, y compris le *bdnf*, directement liés à la prolifération cellulaire, migration, maturation, différenciation et survie des nouveaux neurones (Xia et al., 2012). Il n'est cependant pas mentionné si les changements transcriptionnels associés à l'inactivation sont les mêmes ou différents dans l'HPCd, et cette étude montre une diminution de la survie des nouveaux neurones à la fois dans l'HPCd et l'HPCv.

D'autres changements région-spécifique liés à la neurotransmission ont été décrits suite au stress. Zuena et al. (2008) ont montré une diminution de l'activité des récepteurs glutamatergiques

mGlu1/5 dans l'HPCv d'animaux soumis au modèle de la contention prénatale. Similairement Elizalde et al. (2010) ont montré une diminution de la transmission glutamatergique et GABAergique spécifiquement dans l'HPCv suite au stress chronique. Bien que les conséquences de tels changements spécifiques à l'HPCv ne soient pas claires, ces deux études montrent par ailleurs une diminution de la neurogenèse préférentiellement dans l'HPCv.

Devant le vaste nombre de facteurs potentiellement impliqués dans ces différences locales de neurogenèse, notre connaissance des changements induits par le stress entre les régions septales et temporales de l'hippocampe s'avère peut être trop limitée pour conclure. Les effets du stress sur la neurogenèse étant en partie liés aux récepteurs glucocorticoïdes, il est aussi vraisemblable que des changements régionaux dans l'expression et la fonction des récepteurs GR et MR influent sur la modulation de la neurogenèse dans l'HPCd et l'HPCv. Ceci est potentiellement suggéré par le rôle différentiel des GR et MR dans l'HPCd et l'HPCv dans d'autres formes de plasticité, la LTP et la LTD (Maggio et Segal, 2012).

Outre les gradients d'expression de base observés dans l'expression de ces récepteurs, Robertson et al. (2005) ont aussi montré des effets du stress différents entre ces deux régions. Plus particulièrement l'exposition à une plateforme surélevée, 1h par jour pendant 5 ou 20 jours induit une augmentation de l'expression des GR et des MR spécifiquement dans l'HPCd qui semble dépendante de la transmission 5-HT. L'effet de ce modèle pourrait cependant résulter en des changements plus spécifiques de l'habituation de l'animal au stress plutôt qu'au stress en lui-même ou à l'induction d'un profil pathologique. Qui plus est, comme vu précédemment, la régulation de la neurogenèse par les GR et les MR semble bidirectionnelle, rendant l'interprétation de ces changements délicate. La réduction de l'expression du GR chez les souris GR-i induit une diminution de la prolifération et de la survie cellulaire à la fois dans l'HPCd et l'HPCv, et ceci est accompagné par une diminution de l'expression du BDNF (sans distinction dorsal/ventral) (Paizanis et al., 2010).

Au final, si les nouveaux neurones de l'HPCv sont peut-être plus sensibles aux effets du stress, ou d'autres facteurs comme le vieillissement (Jinno et al., 2011), aussi associé à une vulnérabilité à la dépression, les mécanismes et facteurs impliqués dans une telle régulation différentielle sont vraisemblablement multiples et complexes et encore inconnus. Trop peu d'études aux résultats contradictoires ne permettent pas d'affirmer que la dépression est associée à des changements de neurogenèse spécifiquement dans l'HPCv. Cette hétérogénéité résulte probablement de différences méthodologiques importantes entre les études, comme le nombre de divisions et les coordonnées utilisées pour ségréger l'HPCd et l'HPCv, mais aussi des différences notables dans les modèles utilisés.

Une approche intéressante pour étudier si la régulation de la neurogenèse est dépendante de la dissociation fonctionnelle entre HPCd et HPCv est d'étudier l'effet régulateur de facteurs impliquant majoritairement l'HPCd. En effet, si le stress et la dépression affectent préférentiellement la neurogenèse dans l'HPCv alors il est possible que l'apprentissage, connu pour stimuler la neurogenèse, affecte cette dernière préférentiellement dans l'HPCd. Deux études ont obtenu des résultats allant dans ce sens. L'apprentissage spatial dans le MWM et un conditionnement de trace classique semblent stimuler la survie des nouveaux neurones spécifiquement dans l'HPCd (Ambrogini et al., 2000; Dalla et al., 2009). Cependant dans la première étude peu d'indications sont données quant à la méthode utilisée pour séparer les divisions dorsales et ventrales (Ambrogini et al., 2000) et dans la deuxième si l'effet est spécifique dans l'HPCd chez les mâles, il semble que chez les femelles la stimulation de la neurogenèse par l'apprentissage soit observée dans les deux régions et même de façon plus importante dans l'HPCv (Dalla et al., 2009).

Finalement, les modèles comportementaux exerçant un effet bénéfique dans des tâches cognitives mais ayant aussi des propriétés anxiolytiques et antidépressantes comme l'exercice physique et l'environnement enrichi semblent affecter indifféremment la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal (Tashiro et al., 2007; Bednarczyk et al., 2009).

Comme nous avons vu dans le chapitre précédent l'implication de la neurogenèse dans l'étiologie de la dépression n'est pas réellement confirmée. En effet la neurogenèse semble plutôt particulièrement impliquée dans certains effets des antidépresseurs, il est donc possible que la régulation de la neurogenèse par les antidépresseurs ne soit pas uniforme le long de l'axe septo-temporal, indépendamment d'effets spécifiques du stress dans l'HPCd et l'HPCv. Certains auteurs suggèrent que ce pourrait être plus particulièrement la neurogenèse dans l'HPCv qui contribue aux effets thérapeutiques des antidépresseurs (Kheirbek et Hen, 2011). Cette idée étant de plus renforcée par l'observation que chez l'homme, les SSRIs et tricycliques semblent augmenter le nombre de précurseurs neuraux et la prolifération cellulaire (pour les tricycliques) particulièrement dans la partie antérieure de l'hippocampe, qui est l'équivalent de l'HPCv chez les rongeurs (Boldrini et al., 2009, 2012). Les études chez l'animal montrent cependant que cette hypothèse n'est pas réellement supportée par des résultats expérimentaux.

4.4.2.2. Régulation par les antidépresseurs

Le **tableau 7** répertorie l'effet de différents antidépresseurs sur la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe chez des animaux naïfs ou exposés à un modèle de dépression.

Référence	Modèle	Espèce/lignée	traitement	Prolifération	Survie	Maturation	Neurogenèse nette	Differentiation	Sections	Coordonnées HPCd (/bregma)	Coordonnées HPCv (/bregma)
ISRS											
Nollet et al., 2012	0	souris BALB/C mâles 8 semaines	fluoxetine 20mg/kg per o.s 7 semaines	0	D+ V+*	NA	0	NA	coronales	-0.94 à -1.58 mm	-3.40 à -3.88 mm
	UCMS	souris BALB/C mâles 8 semaines	fluoxetine 20mg/kg per o.s 7 semaines	D+ V+	D+ V+*	NA	D+ V+	NA	coronales	-0.94 à -1.58 mm	-3.40 à -3.88 mm
Rainer et al., 2011	0	C57BL/6Ntac males 7 à 8 semaines	Fluoxetine 18 mg/kg 4 semaines	0	NA	DO V+	D+ V+	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
	CORT 5 mg/kg/day 28 jours	C57BL/6Ntac males 7 à 8 semaines	Fluoxetine 18 mg/kg 4 semaines	D+ V+	NA	D+V+	D+ V+	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
Paizanis et al., 2010	0	souris B6C3F1	Fluoxetine 10 mg/kg ip 21 jours	0	0	NA	NA	0	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.30 à -3.80 mm
	GR-i	souris B6C3F1	Fluoxetine 10 mg/kg ip 21 jours	D+V+	0	NA	NA	0	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.30 à -3.80 mm
Morley-Fletcher et al., 2011	0	Sprague–Dawley males 2 à 3 mois	Fluoxetine 5 mg/kg ip 21 jours	NA	0	NA	NA	NA	coronales? Horizontales?	7.2 to 4.4 mm au-dessus de la ligne interaurale	4.3 to 2.7 mm dessus de la ligne interaurale
	Contention prénatale	Sprague–Dawley males 2 à 3 mois	Fluoxetine 5 mg/kg ip 21 jours	NA	D+V+	NA	NA	NA	coronales? Horizontales?	7.2 to 4.4 mm au-dessus de la ligne interaurale	4.3 to 2.7 mm dessus de la ligne interaurale
Jayatissa et al., 2006	0	rats Wistar males age?	Escitalopram 5 mg/kg 4 semaines	D+ V0	NA	NA	NA	NA	horizontales	-3.10 à -4.28 mm	-4.60 à -8.82 mm
	CMS	rats Wistar males age?	Escitalopram 5 mg/kg 4 semaines	D+ V+	NA	NA	NA	NA	horizontales	-3.10 à -4.28 mm	-460 à -8.82 mm
Elizalde et al., 2010	0	souris C57BL/6 males 8 à 10 semaines	Paroxetine 10mg/kg i.p 5 semaines	NA	NA	NA	D+ V0	NA	coronales	-1.60 à -2.70 mm	-2.70 à -3.60 mm
	CMS	souris C57BL/6 males 8 à 10 semaines	Paroxetine 10mg/kg i.p 5 semaines	NA	NA	NA	0	NA	coronales	-1.60 à -2.70 mm	-2.70 à -3.60 mm

Agomelatine

Banasr et al., 2006	0	rats Wistar males 8 semaines	Agomelatine 40mg/kg ip 3 et 6 semaines (survie)	D0 V+	D+ V+*	D+?V+?	D0 V+ (BrdU+) D- V- (PSA- NCAM+)	0	coronales	-2.80 à -5.30 mm	-5.30 à -6.72 mm
Paizanis et al., 2010	0	souris B6C3F1	Agomelatine 50 mg/kg ip 21 jours	D0 V+	0	NA	NA	0	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.30 à -3.80 mm
	GR-i	souris B6C3F1	Agomelatine 50 mg/kg ip 21 jours	D+ V+	D0 V+*	NA	NA	0	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.30 à -3.80 mm
Soumier et al., 2009	0	rats Wistar males 7 semaines	Agomelatine 40 mg/kg i.p 21 jours	D0 V+	D+ V+	NA	NA	0	coronales	-2.80 à -5.30 mm	-5.30 à -6.72 mm
Rainer et al., 2011	0	C57BL/6Ntac males 7 à 8 semaines	Agomelatine 10 mg/kg ip 4 semaines	0	NA	D+ V+	D+ V0	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
	0	C57BL/6Ntac males 7 à 8 semaines	Agomelatine 40 mg/kg ip 4 semaines	0	NA	D+ V+	D+ V+	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
	CORT 5 mg/kg/day 28 jours	C57BL/6Ntac males 7 à 8 semaines	Agomelatine 10 mg/kg ip 4 semaines	D+ V+	NA	D0 V+	D0 V+	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
	CORT 5 mg/kg/day 28 jours	C57BL/6Ntac males 7 à 8 semaines	Agomelatine 40 mg/kg ip 4 semaines	D+ V+	NA	D+ V+	D0 V+	NA	coronales	-1.20 à -3.00 mm	-3.00 à -3.80 mm
Morley-Fletcher et al., 2011	0	Sprague–Dawley males 2 à 3 mois	Agomelatine 40-50 mg/kg, i.p., 3-6 semaines	NA	NA	NA	0	NA	coronales? Horizontales?	7.2 to 4.4 mm above the interaural line	4.3 to 2.7 mm above the interaural line
	Contention prénatale	Sprague–Dawley males 2 à 3 mois	Agomelatine 40-50 mg/kg, i.p., 3-6 semaines	NA	NA	NA	D0 V+ (BrdU+) D+V+ (BrdU+/PSA- NCAM+)	NA	coronales? Horizontales?	7.2 to 4.4 mm above the interaural line	4.3 to 2.7 mm above the interaural line

Autres

Felice et al., 2012	0	souris BALB/C mâles 8 semaines	antagoniste GABAB (CGP 52432) 3 mg/kg ip 21 jours	D0 V+	0	NA	NA	NA	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.46 à -3.80 mm
Nollet et al., 2012	0	souris BALB/C mâles 8 semaines	almorexant 100mg/kg per o.s 7 semaines	D0 V-	D0 V-*	NA	D0 V-	NA	coronales	-0.94 à -1.58 mm	-3.40 à -3.88 mm
	UCMS	souris BALB/C mâles 8 semaines	almorexant 100mg/kg per o.s 7 semaines	0	0	NA	0	NA	coronales	-0.94 à -1.58 mm	-3.40 à -3.88 mm
O'Leary et al., 2012	0	souris BALB/C mâles 8 semaines	Lithium 0,2% diet, 21 jours	0	D- V0	NA	NA	NA	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.46 à -3.80 mm
	chronic immobilisation 9 jours	souris BALB/C mâles 8 semaines	Lithium 0,2% diet, 21 jours	D0 V+	D- V-	NA	NA	NA	coronales	-0.94 à -2.30 mm	-2.46 à -3.80 mm
Mahar et al., 2011	0	souris C57BL/6 males mice	NRG1β s.c 10 µg/d 2-4 jours	D0 V+	NA	NA	D0 V+	0	coronales	-1.46 à -2.54 mm	-2.55 à -3.80 mm
Soumier et al., 2009	0	rats Wistar males 7 semaines	antagonistes 5-HT2C (SB243,213 et S32006), 10 mg/kg i.p 3 semaines	D0 V+	0	NA	NA	NA	coronales	-2.80 à -5.30 mm	-5.30 à -6.72 mm
Dawirs et al., 1998	0	male gerbils 90 jours	haloperidol 5mg/kg x4 en deux jours	D++ V+	NA	NA	NA	NA	horizontales	38 sections, une toute les 48 um	

Tableau 7. Régulation différentielle des différentes étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe par les antidépresseurs. NA = donnée non étudiée ; 0 = pas d'effet ; +/- augmentation et diminution respectivement dans l'HPCd (D) ou l'HPCv (V).

■ : Effets spécifiques à l'HPCd ; ■ : Effets spécifiques à l'HPCv ; ■ : Effets observés dans les deux divisions ; ■ : Effets observés dans les deux divisions mais avec une magnitude différente. * : indique que la mesure de survie par le marquage au BrdU dans l'étude peut refléter des différences d'incorporation du BrdU dues à des changements d'activité proliférative dans la mesure où le BrdU est administré au milieu ou après le traitement.

De façon nette le type d'antidépresseur utilisé semble beaucoup influencer sur les résultats. La totalité des études utilisant les ISRSs (fluoxétine et escitalopram) montrent des effets pro-neurogéniques aussi bien dans l'HPCd que l'HPCv, et ce à la fois sur le nombre de nouveaux neurones et sur les différentes étapes de leur développement (prolifération, survie et maturation) (Nollet et al., 2012 ; Rainer et al., 2011 ; Païzanis et al., 2010 ; Morley-Fletcher et al., 2011 ; Jayatissa et al., 2006). Une seule étude montre des résultats différents avec une augmentation du nombre de nouveaux neurones spécifiquement dans l'HPCd induite par un traitement à la paroxétine (Elizalde et al., 2010).

Ces effets semblent cependant nuancés à la fois par l'état de l'animal (naïf versus stressé), l'étape étudiée et possiblement une interaction entre les deux facteurs. Par exemple dans la même étude, chez des animaux naïfs la fluoxétine stimule la maturation des nouveaux neurones spécifiquement dans l'HPCv alors que le nombre de nouveaux neurones est augmenté à la fois dans l'HPCd et l'HPCv. Par contre chez les animaux soumis au modèle CORT la maturation comme la neurogenèse sont augmentées à la fois dans l'HPCd et l'HPCv, sans pour autant que cela soit lié à une diminution spécifique de la maturation dans l'HPCd induite par la CORT (Rainer et al., 2011). Parallèlement Jayatissa et al. (2006) observent que l'escitalopram stimule la prolifération cellulaire spécifiquement dans l'HPCd d'animaux naïfs mais indifféremment le long de l'axe septo-temporal chez les animaux soumis au modèle de stress chronique. Ces effets différents entre animaux témoins et animaux stressés ne sont de plus vraisemblablement pas uniquement lié à un effet compensatoire du traitement qui contrecarre les effets du modèle car Elizalde et al. (2010) observent un effet de la paroxétine spécifiquement dans l'HPCd des animaux contrôles et aucun effet chez des animaux stressés, alors que le stress dans leur modèle diminuait la neurogenèse spécifiquement dans l'HPCv.

En résumé il semble donc que les ISRSs stimulent la neurogenèse uniformément le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. Les résultats obtenus avec l'agomelatine sont beaucoup plus contrastés et cet antidépresseur semble affecter différenciellement les multiples étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal. En effet, parmi les 5 études référencées toutes montrent un effet à la fois dans l'HPCd et dans l'HPCv ou uniquement dans l'HPCv en fonction du stade étudié. Deux études montrent par exemple que l'agomelatine stimule la prolifération cellulaire chez des animaux naïfs spécifiquement dans l'HPCv alors que la survie neuronale est augmentée dans l'HPCd et l'HPCv (Banar et al., 2006; Soumier et al., 2009). Inversement dans le modèle CORT l'agomelatine stimule la neurogenèse et la maturation uniquement dans l'HPCv mais la prolifération cellulaire dans l'HPCd et l'HPCv (Rainer et al., 2011).

Un facteur potentiel pouvant expliquer des résultats différents entre études pourrait être la durée de traitement et la dose utilisée. En effet, alors que chez des animaux naïfs une faible dose (10 mg/kg)

d'agomelatine stimule la neurogenèse spécifiquement dans l'HPCd, une dose plus importante (40mg/kg) stimule la neurogenèse à la fois dans l'HPCd et l'HPCv. Chez les animaux CORT en revanche alors qu'une faible dose affecte la maturation uniquement dans l'HPCv, une dose plus élevée stimule la maturation dans les deux régions de l'hippocampe (Rainer et al., 2011).

Par ailleurs les différents mécanismes d'actions de l'agomelatine pourraient affecter différenciellement certaines étapes de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. Les effets de l'agomelatine sur la prolifération cellulaire dans l'HPCv semblent en particulier médiés par son action antagoniste sur les récepteurs 5-HT_{2C}. En effet l'administration chronique d'un antagoniste de ces récepteurs stimule la prolifération cellulaire spécifiquement dans l'HPCv mais n'a pas d'effet sur la survie cellulaire. Les effets de l'agomelatine sur la survie et la maturation pourraient par contre être médiés par l'action conjointe sur les récepteurs 5-HT_{2C} et mélatoninergiques car l'antagonisme des récepteurs mélatoninergiques empêche les effets de l'agomelatine sur la survie et la maturation observés à la fois dans l'HPCd et l'HPCv, alors qu'indépendamment la mélatonine et les antagonistes 5-HT_{2C} n'ont pas d'effet sur la survie et sur la maturation des nouveaux neurones (Soumier et al., 2009). De façon intéressante, les récepteurs 5-HT_{2C} semblent plus exprimés dans l'HPCv (Holmes et al., 1995) et l'infusion intra-hippocampique d'un agoniste 5-HT_{2C} induit une augmentation des comportements anxieux spécifiquement après infusion dans l'HPCv et non l'HPCd (Alves et al., 2004). En définitive, il est donc possible que les effets de l'agomelatine sur la prolifération cellulaire soient spécifiques à l'HPCv via l'antagonisme des récepteurs 5-HT_{2C}, tandis que les effets uniformes de l'agomelatine sur la survie et la maturation seraient médiés par d'autres facteurs. Le BDNF a là encore été proposé comme médiateur potentiel étant donné que l'agomelatine stimule l'expression du BDNF à la fois dans l'HPCd et l'HPCv (Soumier et al., 2009). Si le BDNF et d'autres facteurs neurotrophiques sont potentiellement impliqués dans l'action comportementale et pro-neurogénique des antidépresseurs, cette implication ne s'avère vraisemblablement pas limitée à l'HPCv. Une autre étude a en effet montré une augmentation du BDNF spécifiquement dans le gyrus denté de l'HPCd suite au traitement chronique avec le tricyclique imipramine et l'ISRN venlafaxine (Larsen et al., 2010).

Les différences de neurotransmission existant entre l'HPCd et l'HPCv ont aussi été proposées pour expliquer une éventuelle régulation différentielle des antidépresseurs sur la neurogenèse, en particulier la transmission 5-HTergique et NAergique qui sont plus importantes dans l'HPCv (Gage et Thompson, 1980). En outre, l'HPCd est principalement innervé par le noyau médian du raphé, tandis que l'HPCv est innervé principalement par le noyau dorsal du raphé (Azmitia et Segal, 1978; Köhler et Steinbusch, 1982; Vertes, 1991). Cette innervation différentielle ainsi que la densité accrue de certains récepteurs 5-HT dans l'HPCv (Tanaka et al., 2012) pourraient en effet suggérer un effet des

antidépresseurs sur la neurogenèse plus important dans l'HPCv, cependant comme nous l'avons vu cela ne semble pas être le cas pour les ISRSs.

Ces résultats sont donc très hétérogènes et il est difficile de tirer une conclusion quant à un effet région-spécifique des antidépresseurs sur la neurogenèse. Un autre facteur méthodologique qui peut influencer sur ces résultats est le fait que la mesure de la survie neuronale ou de la neurogenèse par le BrdU peut être parasitée par des effets du traitement sur la prolifération cellulaire. Par exemple un traitement de 6 semaines à l'agomelatine reverse la diminution du nombre de cellules BrdU+ âgées de 3 semaines (le BrdU étant administré au milieu du traitement) observé spécifiquement dans l'HPCv dans le modèle de contention prénatale sans affecter le nombre de cellules BrdU+ dans l'HPCd (Morley-Fletcher et al., 2011). Cette mesure, décrite comme une mesure de survie cellulaire dans cette étude, peut être influencée par des changements d'incorporation du BrdU induits par les 3 semaines de traitement avant l'administration du BrdU. Par ailleurs, la même étude montre que les 6 semaines de traitement induisent une augmentation du nombre de cellules BrdU+ exprimant aussi PSA-NCAM à la fois dans l'HPCd et l'HPCv. Il est donc possible que, si le nombre de cellules BrdU+ n'augmente pas dans l'HPCd mais que le nombre de BrdU+/PSA-NCAM+ augmente, soit 1) l'expression du PSA-NCAM est prolongée par le traitement dans l'HPCd et que donc le traitement diminue en fait la maturation des nouveaux neurones (c'est-à-dire l'expression de marqueurs plus tardifs) 2) soit la survie des cellules PSA-NCAM+ en particulier est augmentée, 3) soit la différenciation neuronale est augmentée par le traitement de sorte que plus de cellules BrdU+ se soient différenciées en neurones exprimant PSA-NCAM. Il est donc particulièrement difficile de conclure sur la régulation induite par le traitement dans de telles études. L'utilisation de marqueurs endogènes supplémentaires pourrait vraisemblablement permettre de mieux décrire les différences potentielles de régulation de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal.

En définitive, le relatif manque d'études et la diversité des protocoles utilisés ne permettent pas d'affirmer que la neurogenèse dans l'HPCd et l'HPCv puisse contribuer différenciellement aux effets des antidépresseurs. Cette problématique est cependant émergente et de plus en plus d'études prennent en considérations la dissociation fonctionnelle de l'hippocampe dans l'étude de la neurogenèse. L'utilisation d'agents pharmacologiques plus variés peut aussi permettre de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu et conduisant à des différences locales dans la production de nouveaux neurones. Des études très récentes utilisant des composés différents exerçant une action antidépressante comme un antagoniste du récepteur GABA_B (Felice et al., 2012), un antagoniste des récepteurs orexinergiques (Nollet et al., 2012), le facteur neurotrophique neuroregulin-1 (NRB1) (Mahar et al., 2011) ou le lithium (O'Leary et al., 2012) montrent des effets sur la neurogenèse qui sont spécifiques à l'HPCv. Si la compréhension des mécanismes potentiels impliqués dans ces effets

est limitée, il est vraisemblable que des modifications locales de neurogenèse et les propriétés différentes entre les nouveaux neurones de l'HPCd et de l'HPV aient des conséquences fonctionnelles permettant peut être de mieux élucider leur participation dans les effets des antidépresseurs

5. Objectifs

L'objectif général de cette thèse a été de tenter de préciser la contribution des nouveaux neurones hippocampiques dans la pathophysiologie de la dépression et dans les effets thérapeutiques des antidépresseurs. Bien que la fonction de la neurogenèse hippocampique ne soit pas clairement élucidée, les nouveaux neurones établissent des connexions fonctionnelles et disposent de propriétés électrophysiologiques uniques permettant d'influencer l'activité de l'hippocampe et participent sans doute à diverses fonctions hippocampiques. Les antidépresseurs en stimulant la neurogenèse pourraient donc renforcer certaines fonctions de l'hippocampe altérées dans la dépression et ainsi faciliter la rémission. Une des altérations les plus récurrentes dans la dépression est l'hyperactivité de l'axe neuroendocrinien du stress. La normalisation de l'activité de l'axe HPA, en particulier le rétablissement d'un rétrocontrôle inhibiteur fonctionnel semble notamment important pour une rémission durable. L'hippocampe est une des structures qui participe à cette régulation et exerce une influence inhibitrice sur l'activité de l'axe corticotrope. Cette fonction hippocampique est de plus altérée dans les modèles animaux de dépression. Il est donc possible que les nouveaux neurones contribuent à l'action inhibitrice de l'hippocampe sur le système HPA, et qu'en stimulant la neurogenèse, les antidépresseurs permettent ainsi la normalisation de cette fonction. Cette hypothèse est à la base du premier objectif expérimental de cette thèse qui a visé, via une approche fonctionnelle, à étudier la contribution de la neurogenèse dans l'influence inhibitrice de l'hippocampe sur l'axe HPA.

Objectif 1 : Contribution de la neurogenèse hippocampique dans l'influence inhibitrice de l'hippocampe sur l'axe HPA.

Afin de préciser l'implication des nouveaux neurones dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression, des souris chez lesquelles la neurogenèse a été abolie par irradiation ont été soumises au modèle murin de dépression SCIM, en concomitance avec un traitement antidépresseur chronique. Les conséquences de la suppression de la neurogenèse, du SCIM et du traitement sur le comportement dépressif-like ainsi que sur l'activité de l'axe corticotrope et le contrôle inhibiteur hippocampique ont été évaluées. Cette première série d'expérience dont les résultats ont fait l'objet d'une publication (**Article 1**, Surget et al., 2011) nous a permis de tester directement le rôle des nouveaux neurones dans la régulation de l'axe HPA et dans la capacité d'un traitement antidépresseur à contrecarrer les altérations de l'axe corticotrope induites par le SCIM.

Dans une deuxième expérience nous avons souhaité davantage préciser le lien fonctionnel entre la neurogenèse et la régulation hippocampique de l'axe HPA. En particulier, la nature de cette régulation est indirecte et implique le recrutement par l'hippocampe d'un certain nombre de structures relais établissant des connexions inhibitrices directes avec les neurones du PVN. Nous avons donc cherché à mesurer les conséquences de la suppression de la neurogenèse et du SCIM sur l'activation neuronale dans ces structures suite à l'initiation du rétrocontrôle hippocampique. Cette deuxième série d'expériences nous a permis d'étudier le rôle des nouveaux neurones dans la modulation par l'hippocampe de l'activité neuronale des régions impliquées dans l'inhibition de la réponse au stress. Les données étant toujours en cours d'analyse les résultats de cette expérience sont présentés sous la forme d'un article en préparation (**article 2**).

Parallèlement, si des perturbations de la neurogenèse hippocampique peuvent être impliquées dans certains aspects de la pathologie, et que les antidépresseurs agissent en partie à travers leurs effets pro-neurogéniques pour stimuler ou normaliser certaines fonctions de l'hippocampe, il est possible que la dissociation fonctionnelle observée le long de l'axe septo-temporal puisse permettre de mieux apprécier la nature de cette contribution. En effet tandis que la partie septale de l'hippocampe sous-tend préférentiellement l'encodage contextuel, la mémoire et l'apprentissage, la partie temporale est plus particulièrement connectée au système limbique et préférentiellement impliquée dans la régulation des émotions et du stress. Si cette dichotomie fonctionnelle peut s'avérer une simplification, elle est corrélée à d'importantes différences entre ces deux régions, notamment dans leurs profils génétiques, leur connectivité, leur neurotransmission et dans leurs propriétés électrophysiologiques. Devant ces différences, il est possible que la régulation et la fonction des nouveaux neurones ne soient pas les mêmes le long de l'axe septo-temporal et que leur contribution dans la pathophysiologie de la dépression et l'action des antidépresseurs ne soit pas identique. Cette hypothèse est à la base du second objectif de cette thèse qui a visé à étudier la régulation de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe.

Objectif 2 : Régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe.

Une approche, bien que corrélative, visant à préciser le rôle des nouveaux neurones dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression consiste à étudier la régulation de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal par différents facteurs environnementaux, plus particulièrement les facteurs étiologiques de la dépression et les facteurs exerçant une action antidépressante. En

utilisant divers marqueurs cellulaires endogènes et le BrdU, nous avons donc étudié les effets du SCIM et d'un traitement chronique à la fluoxétine sur différentes étapes du développement des nouveaux neurones hippocampiques le long de l'axe septo-temporal de la souris. Afin de comparer ces effets avec un autre facteur environnemental connu pour exercer des effets antidépresseurs potentiellement dépendants de la neurogenèse, les effets de l'enrichissement du milieu d'hébergement ont aussi été mesurés.

Les résultats de ces expériences ont donné lieu à une publication (**article 3**, Tanti et al., 2012) et un article soumis (article 4, soumis dans la revue *Hippocampus*).

RESULTATS

1. Contribution fonctionnelle des nouveaux neurones la régulation de l'axe HPA

Article 1 - Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation

Surget A, Tanti A, Leonardo ED, Laugeray A, Rainer Q, Touma C, Palme R, Griebel G, Ibarguen-Vargas Y, Hen R, Belzung C.

Molecular Psychiatry. (2011) 16:1177-88

Afin de préciser le rôle des nouveaux neurones dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression une première série d'expériences a été réalisée. Des souris BALB/c chez lesquelles la neurogenèse a été abolie par irradiation ont été soumises au SCIM, en concomitance avec un traitement antidépresseur chronique. Deux composés agissant sur des mécanismes différents, un SSRI (fluoxétine) et un antagoniste des récepteurs CRF1 (SSR125543) ont été utilisés. Les conséquences du SCIM, de la suppression de la neurogenèse et des traitements antidépresseurs ont été évaluées à travers des mesures physiques et comportementales. L'efficacité du rétrocontrôle inhibiteur sur l'axe HPA a été étudiée à travers 1) la suppression des niveaux de corticostérone induite par l'injection systémique ou intra-hippocampique de dexaméthasone (DEX) et 2) les changements d'expression du marqueur d'activation neuronale FOS dans différentes structures servant de relais pour l'influence inhibitrice de l'hippocampe sur l'axe HPA (seulement pour les souris non-irradiées pour cette dernière mesure).

Les résultats principaux de cette étude sont :

- Le SCIM, outre l'induction d'un phénotype dépressif-like et la diminution de la neurogenèse hippocampique, perturbe le fonctionnement basal de l'axe corticotrope et abolit presque totalement la capacité de l'hippocampe à exercer un contrôle inhibiteur sur l'axe HPA. Cet effet est associé à une diminution de la sensibilité des cellules granulaires matures à répondre à la DEX et l'incapacité de l'hippocampe à moduler l'activation neuronale des structures relais exerçant une inhibition directe sur le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus.
- Bien que la suppression de la neurogenèse en soit n'induit pas de profil dépressif-like dans les tests comportementaux utilisés, elle empêche la fluoxétine, mais pas l'antagoniste CRH1, de contrecarrer les effets comportementaux induits par le SCIM, confirmant que les nouveaux neurones contribuent aux effets thérapeutiques de la fluoxétine.
- Similairement alors que l'irradiation en soit ne perturbe pas le fonctionnement de l'axe HPA et l'influence inhibitrice de l'hippocampe, l'intégrité des nouveaux neurones est nécessaire pour

que la fluoxétine puisse contrecarrer les altérations de l'axe corticotrope induite par le SCIM et normaliser le rétrocontrôle inhibiteur initié par l'hippocampe.

Ces résultats suggèrent que les nouveaux neurones hippocampiques ne semblent pas directement impliqués dans le contrôle de l'humeur et la réponse au stress, mais que c'est en stimulant la neurogenèse ou le recrutement des nouveaux neurones que la fluoxétine normalise le contrôle hippocampique de l'axe HPA et induit ses effets comportementaux. Parallèlement des molécules agissant directement sur le système de réponse au stress, comme les antagonistes CRH1 ne semblent pas nécessiter la neurogenèse pour exercer leurs effets comportementaux, suggérant un lien étroit entre l'intégrité fonctionnelle de l'axe corticotrope et la rémission, cela de façon indépendante ou non de la neurogenèse.

Dans cet article ma contribution a principalement porté sur l'étude du FOS dans les différentes structures connues pour exercer une influence directe inhibitrice sur le PVN et agissant comme médiateurs de la régulation hippocampique de l'axe HPA. J'ai mis en place un protocole de SCIM, effectué les implantations stéréotaxiques de canules, les infusions intra-hippocampiques, le marquage immunohistochimique et la quantification du marquage. Les résultats de cette expérience conduite à part ont ensuite été intégrés dans le projet initié par Alexandre Surget.

ORIGINAL ARTICLE

Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation

A Surget^{1,2,3}, A Tanti^{1,2}, ED Leonardo⁴, A Laugeray^{1,2}, Q Rainer^{1,2}, C Touma⁵, R Palme⁶, G Griebel⁷, Y Ibarguen-Vargas^{1,2,3}, R Hen⁴ and C Belzung^{1,2}

¹U930 Imaging and Brain, Inserm, Tours, France; ²Université François Rabelais, Tours, France; ³Kavli Institute for Systems Neuroscience & Centre for the Biology of Memory, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norway; ⁴Departments of Psychiatry and Neuroscience, Columbia University, New York, NY, USA; ⁵Research Group of Psychoneuroendocrinology, Max Planck Institute of Psychiatry, Munich, Germany; ⁶Department of Biomedical Sciences/Biochemistry, University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria and ⁷Exploratory Unit, Sanofi-Aventis, Chilly-Mazarin, France

Recent research suggests an involvement of hippocampal neurogenesis in behavioral effects of antidepressants. However, the precise mechanisms through which newborn granule neurons might influence the antidepressant response remain elusive. Here, we demonstrate that unpredictable chronic mild stress in mice not only reduces hippocampal neurogenesis, but also dampens the relationship between hippocampus and the main stress hormone system, the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. Moreover, this relationship is restored by treatment with the antidepressant fluoxetine, in a neurogenesis-dependent manner. Specifically, chronic stress severely impairs HPA axis activity, the ability of hippocampus to modulate downstream brain areas involved in the stress response, the sensitivity of the hippocampal granule cell network to novelty/glucocorticoid effects and the hippocampus-dependent negative feedback of the HPA axis. Remarkably, we revealed that, although ablation of hippocampal neurogenesis alone does not impair HPA axis activity, the ability of fluoxetine to restore hippocampal regulation of the HPA axis under chronic stress conditions, occurs only in the presence of an intact neurogenic niche. These findings provide a mechanistic framework for understanding how adult-generated new neurons influence the response to antidepressants. We suggest that newly generated neurons may facilitate stress integration and that, during chronic stress or depression, enhancing neurogenesis enables a dysfunctional hippocampus to restore the central control on stress response systems, then allowing recovery.

Molecular Psychiatry (2011) 16, 1177–1188; doi:10.1038/mp.2011.48; published online 3 May 2011

Keywords: antidepressant; hippocampal neurogenesis; stress; depression; hypothalamo-pituitary-adrenal axis; immediate early gene

Introduction

In mammals, the hippocampus continues to generate new neurons in the dentate gyrus (DG) throughout adult life.^{1,2} Efforts directed at understanding the function of adult-generated neurons in the hippocampus have focused primarily on their role in cognitive processes such as contextual and spatial memory. There is also evidence linking adult neurogenesis to chronic stress, affective disorders and the response to antidepressant treatment.^{3–8} Indeed, stress, a major etiological factor for anxiety/depressive disorders, decreases the production and the survival of the

new hippocampal neurons,^{9,10} whereas treatments with antidepressants increase them⁴ and blocking hippocampal neurogenesis prevents the behavioral effects of antidepressants in several paradigms in rodents.^{3,11–15} However, although there has been progress in elucidating the mechanisms through which stress reduces neurogenesis, little is known about either the function of these new neurons in triggering stress-related disorders or in the mechanisms through which they could exert some antidepressant effects.

The hippocampal formation is able to influence the activity of several cortical and subcortical structures involved in endocrine, motor, affective and cognitive functions.^{16–18} In addition to its role in strictly mnemonic processes, the hippocampus is therefore well positioned to modulate motivational behaviors, emotional states and stress responses. Particularly, the hippocampus is a regulator of the main neuroendocrine stress system, the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis.^{19,20} It can modulate the activity

Correspondence: Dr A Surget, Kavli Institute for Systems Neuroscience & Centre for the Biology of Memory, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), MTFS (3rd Floor, Room 1314), Olav Kyrres Gate 9, Trondheim 7489, Norway.
E-mail: alexandre.surget@ntnu.no
Received 5 July 2010; revised 28 February 2011; accepted 22 March 2011; published online 3 May 2011

of the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus (starter of HPA axis) through two- or three-neuron circuits. Indeed, hippocampal glutamatergic outputs project toward PVN-connected GABAergic neuron populations of stress-integrative subcortical regions such as lateral septum, anteromedial and posteromedial bed nucleus of stria terminalis (amBST and pmBST), medial and ventrolateral preoptic areas, dorsomedial and lateral hypothalamic nuclei (DMH and LH).^{21,22}

Affective disorders have been frequently associated with abnormalities in HPA axis activity,^{23–25} including glucocorticoid hypersecretion and alterations of its negative feedback.^{26,27} These changes are probably important as it has been shown that the normalization of HPA axis activity parallels remission and reduces the risk of relapse in depressed patients with HPA axis abnormalities.^{28–31}

The DG is exquisitely sensitive to glucocorticoid levels and may be damaged under conditions of high glucocorticoid levels and chronic stress.^{15,32,33} Within this framework, we hypothesized that the pro-neurogenic effect of the antidepressant fluoxetine (a selective serotonin reuptake inhibitor—SSRI) provides a fresh source of DG granule neurons highly responsive to environmental cues. As such, they are well positioned to initiate the improvement of hippocampal function in stress integration and perhaps, as a result, contribute to the antidepressant response when stress systems have been disturbed. For this purpose, we exposed mice with inhibited hippocampal neurogenesis to the unpredictable chronic mild stress (UCMS), an informative model to study stress-related disorders in animals,^{34,35} as it mimics the role of socio-environmental stressors in precipitating anxiety/depressive disorders, induces a syndrome reminiscent of the human neuropathology and reproduces the timeframe of the therapeutic response to antidepressants.^{33,34,36} Here, we found that chronic stress exposure induces severe abnormalities in the hippocampus-dependent regulation of stress systems and that antidepressant treatment with fluoxetine reverses such effects through a neurogenesis-dependent mechanism.

Materials and methods

A brief description of the materials and methods is presented in this section. For a full and detailed description, please refer to the Supplementary Information.

Animals

Male BALB/c mice were purchased from Taconic (Germantown, NY, USA) or from Centre d'Élevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France) and were aged between 3 and 4 months at the time of the beginning of the UCMS exposure.

UCMS

The stress regimen used was previously described³³ and is a variant of the chronic mild stress procedures described by Willner in rats.³⁴ UCMS mice were

repeatedly subjected to various socio-environmental stressors according to an unpredictable schedule for a total period of 6–8 weeks. From the third week of UCMS onward, mice were administered intraperitoneal (ip), once a day, with either vehicle, fluoxetine (20 mg kg^{−1} per day) or SSR125543 (20 mg kg^{−1} per day). Treatment was always maintained until the end of the experiments. Body weight and coat state were assessed weekly, as markers of the progression of the UCMS-evoked syndrome.^{33,37}

Cookie test

This test required a device containing three aligned compartments with the same dimension (20 × 20 × 20 cm). Only the colors of the walls and the floor were different between the compartments (Figure 2a). Mice were first familiarized with a chocolate cookie (Pepito, Lu, France) 4.5 weeks before the first testing. One hour before testing, the regular food was removed from the cage lid. At the time of testing, a small amount (2 ± 1 g) of chocolate cookie (or regular food in a control experiment) was placed at the center of the black compartment. The mouse was initially placed in the white compartment of the apparatus. Each session of the test lasted five minutes. The cookie consumption (# bites) was recorded within the 5 min test period. Four sessions of testing were performed within 10 days (inter-test interval: 2 days).

X-ray irradiation procedure

Five weeks before UCMS, subsets of experimental animals were exposed to three targeted X-irradiations specifically above the hippocampus sparing the major part of the brain according to the procedure previously described.^{3,11}

Immunohistochemistry

Immunohistochemistry for subgranular zone (SGZ) proliferation was performed as previously described.¹¹ Rat anti-BrdU antibody (1:500, Oxford Biotechnology, Oxfordshire, UK) was used as primary antibody followed by rabbit anti-rat biotinylated antibody (1:200, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA). To label Fos, immunohistochemistry was performed with a rabbit anti-Fos antibody (1:5000, PC38, Calbiochem, San Diego, CA, USA) followed by a donkey anti-rabbit biotinylated antibody (1:500, Jackson Immuno-research Laboratories, West Grove, PA, USA). The staining was amplified with an avidin-biotin complex (Elite ABC kit, Vector Laboratories) and visualized with DAB (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA).

For immunohistochemistry based on fluorescence labeling, the different primary antibodies used were as follows: mouse anti-NeuN monoclonal antibody (1:1000, Chemicon International, Billerica, MA, USA), rat anti-BrdU monoclonal antibody (1:500 Oxford Biotechnology) and a rabbit anti-Fos monoclonal antibody (1:1000 Oxford Biotechnology); the secondary antibodies used were as follows: Alexa-488 nm anti-mouse, Alexa-546 nm anti-rabbit and Alexa-633 nm anti-rat antibodies (1:200, Molecular Probe, Eugene, OR, USA).

Image analysis and cell quantification

When staining was visualized with DAB, the number of positive cells was counted using $\times 20$ and $\times 40$ objective lens with a conventional light microscope. For Fos-labeled cell counting of subcortical regions, the nomenclature and nuclei boundaries used were those defined by Paxinos and Franklin's mouse brain atlas.³⁸ Fos+ cells within each region were counted bilaterally in consecutive sections starting from bregma 0.62 to bregma -1.58 . For each animal and region, the same number of sections was used and the volume of each area was controlled. Regions included and corresponding coordinates were as follows: lateral septum (bregma (0.62–0.14)), amBST (0.62–0.02), pmBST (-0.10 to -0.34), anteroventral BST (0.62–0.02), ventrolateral preoptic area (0.26 to -0.10), medial preoptic area (0.14 to -0.46), DMH (-1.34 to -1.58), LH (-0.34 to -0.70) and PVN (-0.58 to -1.22).

When staining was visualized with fluorochrome-labeled secondary antibodies, the number of positive cells was counted using a $\times 40$ objective lens with a confocal or an epifluorescence microscope. Eight sections (16 hippocampus) along the rostro-caudal extent of the hippocampus were examined; $\sim$ bregma: -1.46 , -1.82 , -2.18 , -2.54 , -2.80 , -3.08 , -3.28 , -3.52 .³⁸ We also counted the number of NeuN+ / Fos+ cells in the inner part of the GCL containing the SGZ (the two deepest rows of the GCL plus cells touching the last row at the interface with the hilus).^{39,40} Indeed, granule cells are produced throughout an outside-in gradient in the GCL, which results in a high proportion of young newborn neurons in the deepest rows bordering the hilus.^{41–44}

Quantification of corticosterone levels

Fecal samples were analyzed for immunoreactive corticosterone metabolites using a 5α -pregnane- $3\beta,11\beta,21$ -triol-20-one enzyme-immunoassay as previously described.⁴⁵ Details regarding development, biochemical characteristics and physiological validation of this assay have previously been described.^{46,47} Plasma corticosterone levels was analyzed using a ^{125}I -labeled corticosterone double-antibody radioimmunoassay kit (MP Biomedicals, Solon, OH, USA) according to the manufacturer's protocol.

Dexamethasone (DEX) administration procedures

DEX suppression test: mice were i.p. injected with either DEX-P (0.1 mg kg^{-1} , five mice per group) or saline (0.9% NaCl, five mice per group). All fecalthe boli that were voided between 8 and 10 h after the injection were collected to measure the level of fecal corticosterone metabolites.

Sensitivity of granule cells to novelty and glucocorticoid effects: mice were i.p. injected with either DEX-P (0.1 mg kg^{-1} , five mice per group) or saline (0.9% NaCl, five mice per group). Thirty minutes later, mice were placed in a circular open-field (diameter 35 cm) for 5 min. Then, 90 min later (120 min after injection), mice were anesthetized with ketamine/xylazine (120 and 10 mg kg^{-1} , respectively),

transcardially perfused and their brains were collected for immunohistochemistry.

Intrahippocampal DEX infusion: the infusion procedure was derived from the method previously described.²⁰ Mice were stereotactically and bilaterally implanted with guide cannulas (6 mm long, 0.6 mm outer diameter, 0.36 mm inner diameter). The following coordinates were used for the guide cannula implantation: bregma = -3.08 , lateral = ± 2.3 , vertical = -1.4 .³⁸ After 1-week recovery period from the surgery, infusion cannulas (7 mm long, 0.3 mm outer diameter, 0.17 mm inner diameter) were placed and extended 1 mm below the guide cannulas. The animals received bilateral infusions during 1.5 min of either vehicle (0.9% NaCl/ 0.2% ethanol) or DEX (50 ng in $0.6\mu\text{l}$). In one experiment, the brain was collected 2 h following the infusion to assess DEX-induced Fos changes in downstream brain structures and the PVN (Figure 3). In another experiment, the animals were killed by CO_2 asphyxiation 4 h following infusion and trunk blood was collected to measure plasma corticosterone levels (Figure 6).

Statistics

Considering that relatively small sample sizes were used and that assumptions for parametric statistics could not be ensured (normality and homoscedasticity), data were analyzed using the non-parametric Kruskal–Wallis 'analysis of variance by ranks' H-test. Significant effects (that is, $P < 0.05$) were followed-up with *post-hoc* tests (Holm–Bonferroni method) when appropriate. *P*-values that are indicated in the 'Results' section always derived from the between-groups comparisons using the Kruskal–Wallis H-test, whereas *P*-values resulting from *post-hoc* comparisons are indicated in the figures.

Results

Hippocampal neurogenesis is required for chronic stress reversal by fluoxetine

We first assessed the involvement of hippocampal neurogenesis in the emergence and the recovery of behavioral and physical changes in the UCMS. For this purpose, mice were initially exposed to X-irradiations 5 weeks before UCMS procedure to ablate cell proliferation in the SGZ of the DG without affecting other neurogenic niches (Figure 1a).^{3,11} Mice were then subjected to a 6- to 8-week UCMS procedure or maintained under non-stressful conditions (control mice). Two weeks after initiating UCMS, mice were daily treated with either fluoxetine (20 mg kg^{-1} per day, ip) or a vehicle solution (NaCl 0.9% , ip). X-irradiation induced a strong depletion of SGZ cell proliferation ($\sim 92\%$, Figure 1b) independently of the environment (control/UCMS) or the treatment (vehicle/fluoxetine). UCMS exposure resulted in significant decreases of SGZ cell proliferation ($\sim 27\%$, Figure 1b) and 4-week-old newborn neurons ($\sim 34\%$, Supplementary Figure S1); these effects

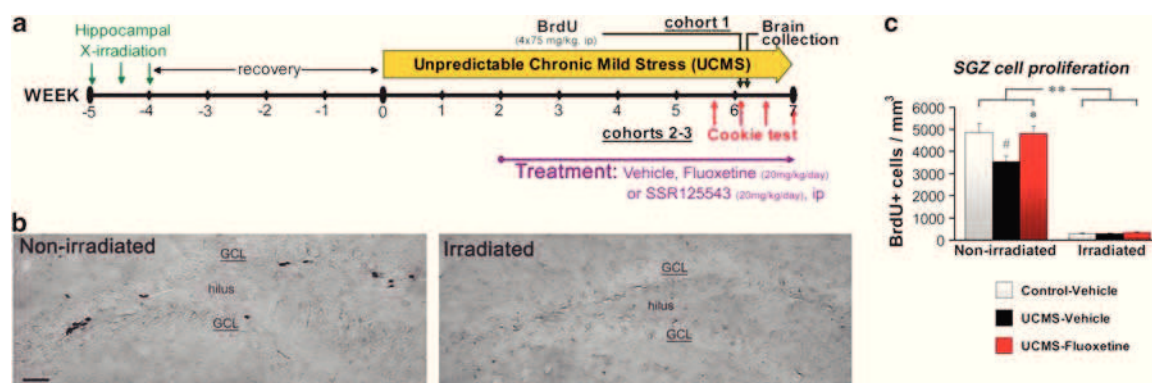


Figure 1 Focal hippocampal X-irradiation ablates cell proliferation in the subgranular zone (SGZ). (a) Schematic representation of the experimental design. A first cohort of mice was used to assess SGZ cell proliferation, see (b) and (c). Two other cohorts of mice were used for behavioral measures, see Figure 2. (b) Representative images of BrdU+ cells ('black cells') in the SGZ (scale bar, 50 μ m). (c) The cell proliferation assessed by the number of BrdU-positive cells per mm³ of the granule cell layer (GCL), $n=5-7$ per group. * $P<0.05$ UCMS mice vs control-vehicle mice; * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ UCMS-fluoxetine mice vs UCMS-vehicle mice, or between line-connected groups. Data represent mean $\pm$ s.e.m.

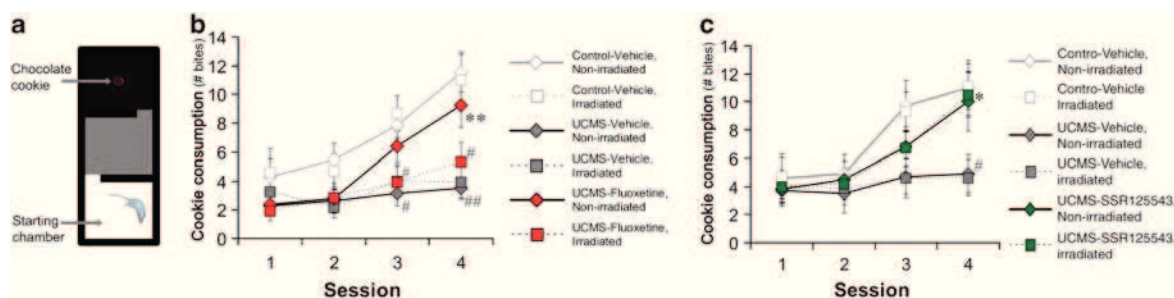


Figure 2 Hippocampal neurogenesis is required for the behavioral effects of fluoxetine but not of the corticotropin-releasing factor 1 antagonist SSR125543. (a) Schematic representation of the apparatus used for the Cookie test (CT). (b, c) The consumption of the cookie (number of bites) in the CT, $n=13-14$ per group for (b) and $n=10$ per group for (c). * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ UCMS mice vs control-vehicle mice; * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ UCMS-fluoxetine/SSR125543 mice vs UCMS-vehicle mice. Data represent mean $\pm$ s.e.m.

were counteracted by chronic fluoxetine treatment (SGZ proliferation: $P<0.0001$; neurogenesis, $P=0.0082$).

Considering that anhedonia is one of the major symptoms of depression, we developed a behavioral paradigm based on the motivation for consuming a palatable stimulus (a chocolate cookie): the Cookie test. This test is based on the conflict between the drive for the stimulus and the neophobic behavior of the mouse. A reduction of the cookie consumption may therefore be interpreted as anhedonia, a habituation deficit or a combination of both effects. We found that session repetition resulted in a progressive increase of the cookie consumption in control mice (session 1, $P=0.8149$; session 2, $P=0.1387$; session 3, $P=0.0013$; session 4, $P=0.0001$; Figure 2b). UCMS exposure suppressed the consumption increase, an effect, which was reversed by fluoxetine treatment. Interestingly, although irradiated mice did not display any behavioral alterations in control or UCMS conditions, they were insensitive to the fluoxetine reversal. As a control experiment, the substitution of the cookie by a regular food pellet produced a quasi-null consumption during the four sessions for all the groups (data not shown), underlining the importance

of the 'hedonic' feature of the stimulus. Our results indicate that the ablation of hippocampal neurogenesis on its own has no effect in the Cookie test but prevents the fluoxetine reversal in UCMS mice. Strikingly, similar results were also obtained when examining body weight change (another main symptom in major depression) and the coat state (Supplementary Figures S2a,b).

However, we found that 'antidepressant-like' effects can be obtained even in irradiated mice when using non-monoaminergic compounds such as the corticotropin-releasing factor 1 receptor (CRF₁) antagonist SSR125543. In a protocol similar to the previous experiment, SSR125543 (20 mg kg⁻¹ per day, ip) also reversed neurogenesis reduction induced by UCMS ($P=0.018$; Supplementary Figure S1c). This compound counteracted UCMS effects in the Cookie test (session 1, $P=0.9998$; session 2, $P=0.8644$; session 3, $P=0.0714$; session 4, $P=0.0108$; Figure 2c), on body weight and coat state (Supplementary Figure S2c,d) in non-irradiated mice but also in irradiated mice.

To summarize, hippocampal neurogenesis, although not directly involved in the emergence of a

depression-like state or the vulnerability to stress, was required for the recovery effects of the monoaminergic antidepressant fluoxetine. On the other hand, alternative mechanisms, independent of neurogenesis, may be used to induce similar effects by the CRF₁ antagonist, which directly target stress systems.

Chronic stress impairs hippocampal modulation of brain areas involved in stress response

Our previous results raise the possibility that stimulating neurogenesis by fluoxetine may facilitate the regulation of stress systems. We therefore assessed whether UCMS and fluoxetine affect the ability of the hippocampus to modulate the downstream subcortical relay sites regulating PVN activity (Figure 3a). For this purpose, mice were subjected to an intrahippocampal infusion with either the glucocorticoid receptor agonist DEX (50 ng) or vehicle (NaCl 0.9%, ethanol 0.2%) (Figures 3b and c). We then evaluated the neuronal activation in the subcortical sites by immunodetection of Fos, product of an immediate early gene (Figure 3d). As a control, Fos expression was also quantified in the anteroventral BST, which regulates PVN activity but is devoid of direct hippocampal inputs. Intrahippocampal DEX infusion in control-vehicle mice was able to increase the number of Fos-labeled (Fos+) cells in several of these subcortical relay sites: lateral septum ($P=0.0043$), amBST ($P=0.0067$), pmBST ($P=0.0014$), medial preoptic area ($P=0.0275$), DMH

($P=0.0304$) but not ventrolateral preoptic area ($P=0.124$) and LH ($P=0.174$) (Figure 3e, Supplementary Figure S3). UCMS impaired the DEX-induced increase of Fos+ cells in the latter regions, whereas fluoxetine treatment counteracted the UCMS effects except in DMH. No effect of UCMS or treatment was found in the anteroventral BST ($P=0.157$). We then tested if these effects can be reflected in the activation of the PVN itself. Indeed, intrahippocampal DEX infusion resulted in a significant increase of Fos expression in the PVN of UCMS-vehicle but not control-vehicle and UCMS-fluoxetine mice ($P=0.0391$).

In summary, UCMS exposure greatly lessened the hippocampal regulation of the stress-integrative subcortical sites, an effect mainly counteracted by antidepressant treatment.

Chronic stress disrupts the sensitivity of the granule cell network to novelty/glucocorticoid effects

We then directly tested the ability of the DG granule neurons to react to glucocorticoids. These cells can be activated and express immediate early genes when individuals are exposed to a new environment.^{48–50} We took advantage of this property to examine the sensitivity of new and older granule cells to a new environment exposure following a single injection of DEX-P or vehicle (Figure 4a). For this purpose, we concurrently labeled cells for the neuronal marker NeuN, the immediate early gene product Fos

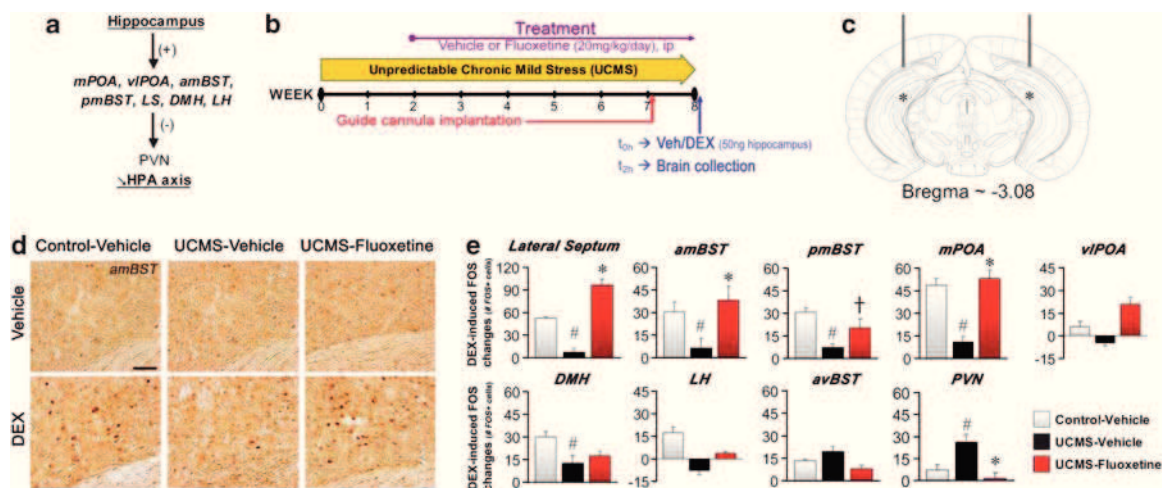


Figure 3 Chronic stress impairs hippocampal modulation of brain areas involved in the stress response, an effect reversed by fluoxetine. (a) Schematic representation of the neurocircuitry underlying hippocampal regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. Hippocampal CA1 and subiculum subregions send glutamatergic outputs (+) toward subcortical relay sites, such as medial preoptic area (mPOA) and ventrolateral preoptic area (vlPOA), anteromedial and posteromedial bed nucleus of stria terminalis (amBST and pmBST), lateral septum (LS), dorsomedial and lateral hypothalamic nuclei (DMH and LH). These sites contain GABAergic neuron population (-) underlying inhibitory influences on the paraventricular nucleus (PVN). (b) Schematic representation of the experimental design. Veh and dexamethasone (DEX) mean vehicle and DEX, respectively. (c) Schematic representation of the guide-cannula implantation (bar: bregma = -3.08, lateral = ± 2.3, vertical = -1.4) and of the DEX infusion sites, one millimeter lower (asterisk). The figure is adapted from Paxinos and Franklin (2001).³⁸ (d) Representative images of Fos+ cells from the amBST (scale bar, 50 μm). (e) Changes induced by intrahippocampal DEX infusion on the number of Fos+ cells in LS amBST, pmBST, mPOA, vlPOA, DMH, LH, anteroventral BST (avBST) and PVN, $n=4$ per group. * $P<0.05$ UCMS-vehicle mice vs control-vehicle mice; † $P<0.1$ and * $P<0.05$ UCMS-fluoxetine mice vs UCMS-vehicle mice. Data represent mean ± s.e.m.

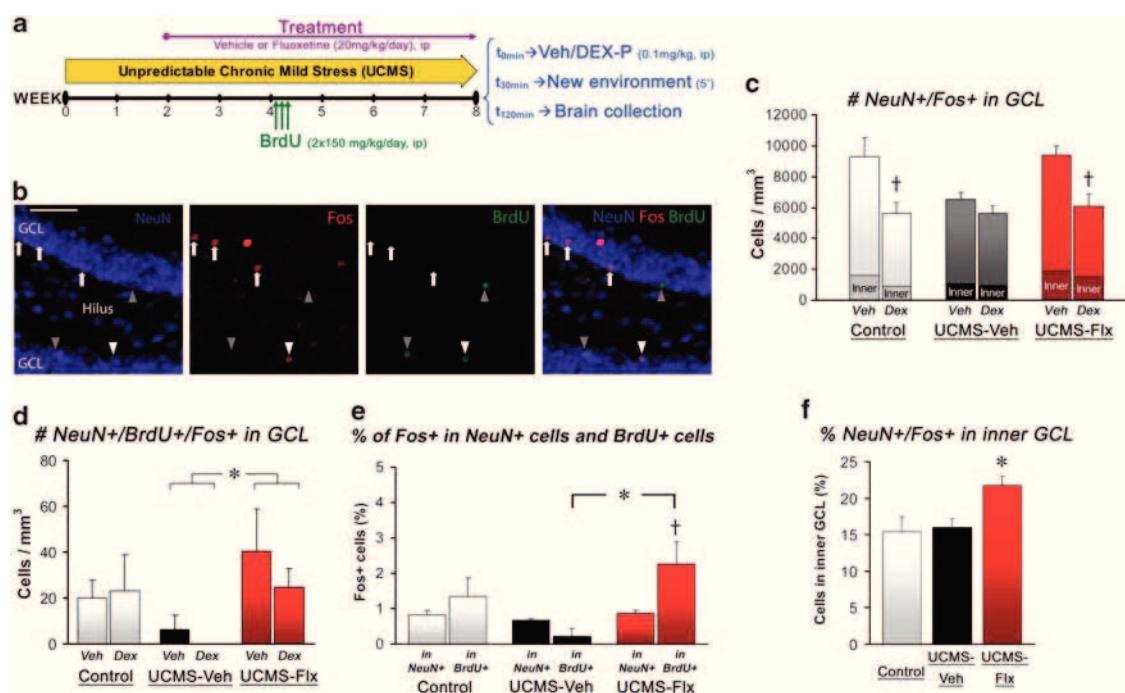


Figure 4 Chronic stress and fluoxetine alters the sensitivity of newborn and older hippocampal granule cells to novelty/glucocorticoid effects. **(a)** Schematic representation of the experimental design. **(b)** Representative images of NeuN+ (blue), Fos+ (red), BrdU+ (green) cells and colocalization (merged) in the granular cell layer (GCL) of the dentate gyrus (scale bar, 50 μ m). Arrowheads show NeuN+/BrdU+ newborn neurons. NeuN+/Fos+ cells listed among cells belonging to the inner part of the GCL (including the SGZ) are indicated by white arrows (NeuN+/Fos+/BrdU- cells) or arrowhead (NeuN+/Fos+/BrdU+ cells). **(c)** The figure shows the effects of novelty and dexamethasone on the recruitment of granule cells (NeuN+/Fos+ cells per GCL mm³), $n=4-5$ per group. The dark part at the basis of each bar represents the proportion of NeuN+/Fos+ cells listed in the inner part of the GCL. **(d)** The figure shows the effects of novelty and DEX on the recruitment of newborn granule cells (NeuN+/Fos+/BrdU+ cells per GCL mm³), $n=4-5$ per group. **(e)** Proportion of Fos+ cells (%) in NeuN+/BrdU- cells and NeuN+/BrdU+ cells of the GCL, $n=8-10$ per group. **(f)** Proportion of the NeuN+/Fos+ cells listed in the inner part of the GCL, $n=8-10$ per group. * $P<0.05$ UCMS-vehicle mice vs control-vehicle mice; * $P<0.05$ UCMS-fluoxetine mice vs UCMS-vehicle mice. † $P<0.1$ Veh-treated mice vs DEX-treated mice or NeuN+/BrdU- cells vs NeuN+/BrdU+ cells. DEX-P, dexamethasone-phosphate; Flx, fluoxetine; Veh, vehicle. Data represent mean $\pm$ s.e.m.

(‘activated’ granule cells) and the proliferation marker BrdU (4 week-old newborn cells) (Figure 4b).

We first assessed the effects on the whole granule cell population (Figure 4c, $P=0.0209$). Although UCMS-vehicle mice exhibited an apparent lower NeuN+/Fos+ cell density than the other mice, we did not obtain any significant difference of neuronal activation in response to novelty between the three groups. On the other hand, a single DEX administration produced a trend to reduce the density of NeuN+/Fos+ cells in the GCL of the control mice ($\sim 39\%$). Such a reduction was not found in UCMS-vehicle mice ($\sim 11\%$), in contrast to UCMS-fluoxetine mice ($\sim 35\%$).

We then focused on the newborn 4-week-old neurons by assessing the density of NeuN+/BrdU+/Fos+ cells in the GCL (Figure 4d, $P=0.0198$). No effect of DEX was found in any group. Although no difference appeared between control-vehicle and UCMS-vehicle mice, fluoxetine significantly increased the density of NeuN+/BrdU+/Fos+ cells in UCMS mice. However, it cannot be excluded that this effect reflects only the difference in neurogenesis levels between UCMS-vehicle and

UCMS-fluoxetine (Supplementary Figure 1b). We therefore aimed to validate the latter result by calculating the rate of Fos+ in both NeuN+ cells and NeuN+/BrdU+ cells (Figure 4e, $P=0.0226$). Again, fluoxetine significantly increased the rate of NeuN+/BrdU+ cells expressing Fos in UCMS mice (2.26 ± 0.62 in UCMS-fluoxetine vs 0.22 ± 0.22 in UCMS-vehicle) and even yielded to a trend for higher proportions of Fos+ cells in young newborn neurons (0.86 ± 0.1 for NeuN+ cells), contrasting with both control-vehicle and UCMS-vehicle mice.

However, the low frequency of Fos expression throughout the GCL, along with the lower neurogenesis level in UCMS-vehicle mice, might prevent reliable statistical comparisons by decreasing the chance to meet triple labeling cells in these mice. As a result, it is possible that differences between UCMS-vehicle and UCMS-fluoxetine mice have been artificially overstated (although it should also occur with control mice, which was not the case). To obtain data from a broader population of newborn neurons, we analyzed the proportion of NeuN+/Fos+ in the inner part of the GCL containing the SGZ and high proportion of young neurons (Figure 4b). This

analysis showed that UCMS-fluoxetine mice hold a greater proportion of Fos+ cells (~21%) than control-vehicle (~15%) and UCMS-vehicle mice (~16%) (Figures 4c–f; $P=0.0186$), confirming our previous results with the BrdU labeling.

In summary, UCMS exposure decreased the sensitivity of the GCL network to the combined novelty/glucocorticoid effects. Fluoxetine was able to counteract this effect by recruiting higher proportions of newborn granule cells.

Fluoxetine restores HPA axis negative feedback via a neurogenesis-dependent mechanism

To examine more deeply the link between hippocampal neurogenesis and stress response, we investigated whether ablation of neurogenesis and UCMS induce abnormalities in the HPA axis similar to those found in anxiety/depressive disorders. A repeated collection of fecal samples across 33 h was performed on mice previously exposed to a 7-week UCMS (Figure 5a and b). Slight but significant effects of UCMS were reported on the circadian activity of the HPA axis, and fluoxetine partially reverse these effects in non-irradiated mice (Supplementary Figure S4). We then examined the integrity of the negative feedback of the HPA axis through the DEX suppression test. In this test, the administration of the glucocorticoid receptor agonist DEX-P (0.1 mg kg⁻¹, ip) is known to suppress the subsequent release of endogenous glucocorticoids in the plasma when negative feedback integrity is undamaged. UCMS dampened the effectiveness of the negative feedback (control ~61% vs UCMS ~38%) whereas fluoxetine restored DEX-induced suppression to control levels (~66%) (Figure 5c, $P=0.016$). However, although ablation of hippocampal neurogenesis did not significantly affect the negative feedback integrity in control (~60%) and UCMS (~30%) vehicle-treated mice, it significantly attenuated the improvement of the HPA axis negative feedback in UCMS mice by fluoxetine treatment (~42%).

New neurons contribute to the hippocampal inhibition of the stress response

Our latter results support the idea that neurogenesis may subserve some stress integration roles of the hippocampus. To precisely determine the role of the new neurons on hippocampus-dependent regulation of the stress response, we examined the ability of the hippocampus to regulate HPA axis activity under UCMS conditions and assessed how antidepressant treatment and neurogenesis can affect this function. Following UCMS exposure, mice were bilaterally implanted with guide cannulas above the DG (Figures 6a and b) and injected with either DEX (50 ng) or vehicle (NaCl 0.9%, ethanol 0.2%). The results demonstrated that the intrahippocampal DEX infusion induced 51.2% plasmatic corticosterone suppression in non-irradiated control mice ($P=0.0034$; Figure 6c, Supplementary Figure S5). The neurogenesis ablation did not alter on its own the ability of the hippocampus to inhibit the HPA axis, as suggested by the 50.9% DEX-induced corticosterone suppression in irradiated control mice. However, UCMS disrupted hippocampal inhibition with low suppression in both non-irradiated and irradiated mice (5.1 and 3.7%, respectively). Finally, fluoxetine was able to restore hippocampus-dependent negative feedback on the HPA axis in non-irradiated UCMS mice to control levels (56.1%), but not in irradiated UCMS mice (12.4%). This latter result indicates that fluoxetine requires new hippocampal neurons to re-establish the hippocampal inhibition of the HPA axis under chronic stress conditions.

Discussion

Since the first reports linking the behavioral effects of antidepressants to hippocampal neurogenesis, there has been little progress in understanding the specific role of neurogenesis in antidepressant response. Accordingly, it was necessary to identify hippocampal functions that could be affected by adding supplemental new neurons and then contribute to

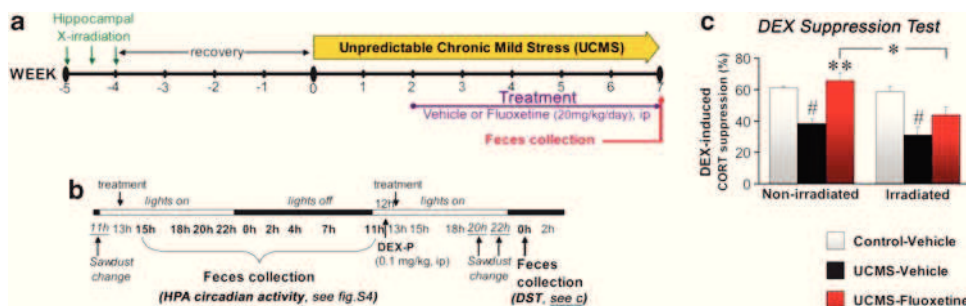


Figure 5 Fluoxetine-induced improvement of the HPA axis negative feedback under chronic stress conditions involves hippocampal neurogenesis. (a) Schematic representation of the experimental design. (b) Schedule of the fecal sample collection and of the dexamethasone-phosphate (DEX-P) administration. (c) The DEX suppression test allowed assessing the integrity of the HPA axis negative feedback. The figure shows the DEX-induced suppression of fecal corticosterone metabolites (CORT), $n=8-11$ per group. * $P<0.05$ UCMS-vehicle mice vs control-vehicle mice; * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ UCMS-fluoxetine mice vs UCMS-vehicle mice, or between line-connected groups. Data represent mean $\pm$ s.e.m.

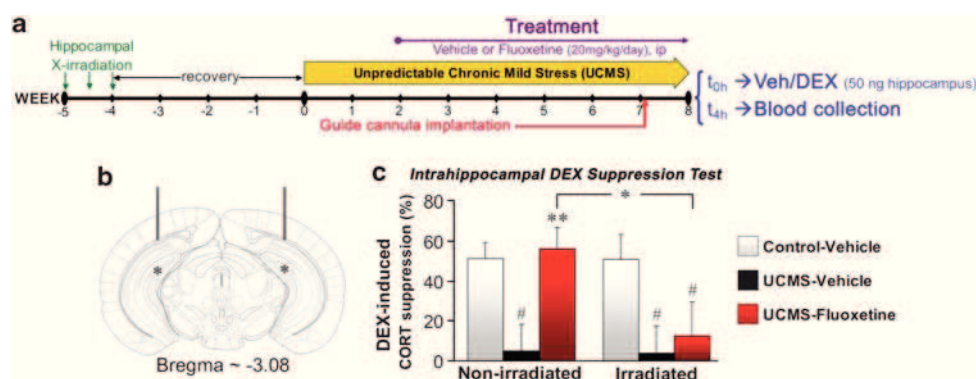


Figure 6 Adult-generated granule neurons are required to restore the hippocampal inhibition of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis under chronic stress conditions. (a) Schematic representation of the experimental design. (b) Schematic representation of the guide-cannula implantation (bar: bregma = -3.08, lateral = ± 2.3 , vertical = -1.4) and of the dexamethasone (DEX) infusion sites, one millimeter lower (asterisk). The figure is adapted from Paxinos and Franklin (2001).³⁸ (c) An intrahippocampal DEX suppression test has been used to test the ability of hippocampus to inhibit the HPA axis. The figure shows the corticosterone (CORT) suppression induced by intrahippocampal DEX infusion, $n = 7-8$ per group. $^{\#}P < 0.05$ UCMS mice vs control-vehicle mice; $^*P < 0.05$ and $^{**}P < 0.01$ UCMS-fluoxetine mice vs UCMS-vehicle mice, or between line-connected groups. Veh, vehicle; DEX, dexamethasone. Data represent mean $\pm$ s.e.m.

recovery following chronic stress and anxiety/depression-like states. We have identified such functions in this study. Our findings reveal that chronic stress exposure severely disrupts HPA axis activity, hippocampal regulation of subcortical stress-integrative structures, sensitivity of the granule cell network to combined novelty/glucocorticoid effects and hippocampus-dependent negative feedback of the HPA axis. Furthermore, we demonstrate that the SSRI fluoxetine uses neurogenesis-dependent mechanisms to restore hippocampal control over stress systems as well as to reverse the behavioral and physical effects of UCMS. Taken together, these results provide direct evidence for a neurobiological process through which neurogenesis participates to antidepressant response: new neurons are recruited by antidepressant drugs to reestablish hippocampal regulation of stress systems, which in turn could initiate recovery.

There has been much discussion about a possible causative role for adult neurogenesis in anxiety/depression.⁵¹⁻⁵⁴ Our results do not support such a possibility. First, in line with previous studies, the ablation of adult-generated hippocampal neurons does not cause any anxiety/depression-like states (but see ref. 7),^{3,12-15,55-58} or increases vulnerability to chronic stress.¹¹ Second, enhancing neurogenesis is unlikely to be the final process through which recovery becomes possible. Indeed, although we confirmed that hippocampal neurogenesis is required for the reversal of the behavioral and physical effects of UCMS by monoaminergic antidepressants (fluoxetine and imipramine),¹¹ we also established that a similar reversal can be elicited even in animals with ablated neurogenesis by compounds targeting directly stress response circuits (CRF₁ or vasopressin 1b antagonists).¹¹ As a consequence, elevations of hippocampal neurogenesis may be a crucial but indirect pathway through which monoaminergic antidepressants

exert effects on downstream structures and then underlie recovery.

We previously showed that fluoxetine required hippocampal neurogenesis to reverse UCMS effects in standard behavioral tests, such as the Novelty-Suppressed Feeding (NSF) test.¹¹ It is noteworthy that we extend here such results to alterations more relevant for depressive disorders, such as anhedonia or body weight changes.⁵⁹ This is critical as it has recently been shown that not all tests sensitive to the behavioral effects of antidepressants might involve neurogenesis-dependent mechanisms.¹⁵ Moreover, the neurogenesis-dependence seems to emerge only under chronic stress or corticosterone treatment for mouse strains such as C57BL/6 or BALB/c.^{11,15} In contrast to chronically stressed mice,^{11,37} fluoxetine may induce some behavioral effects independent of neurogenesis and fail to alter neurogenesis in unstressed BALB/c mice.^{58,60} Considering that antidepressants are mainly devoid of mood-changing effects in non-depressed healthy humans⁶¹⁻⁶³ and that fluoxetine effects on behavior and large-scale gene expression greatly differ depending if the mice are under control or UCMS conditions,³³ paradigms elaborated in 'non-depressed' mice may engage different neurobiological mechanisms that are perhaps irrelevant to clinical remission. Rather, it is likely that relevant antidepressant effects are conditional on the presence of a disorder-related neuropathology.³⁶ In the same vein, antidepressant effects that arise during treatment shorter than 14 days are obviously assumed to be neurogenesis-independent.^{56,58,64} Indeed, antidepressants require more than 1 week to significantly increase SGZ cell proliferation^{3,4} and it takes 1-2 weeks for new cells to start to integrate into the network.⁶⁵ This timeframe suggests that at least 2-3 weeks should be expected before the neurogenic effects of antidepressants can significantly impact the DG network if so. It is noteworthy that this delay parallels

the course of the physical and behavioral effects of fluoxetine in the UCMS model.^{11,33,45} This temporal correlation strengthens the idea that neurogenesis may be required for fluoxetine to reverse UCMS-induced effects. Interestingly, this timeframe also parallels the delay before the first beneficial effects in patients with major depression,⁶⁶ suggesting that neurogenesis could also be involved in antidepressant effects in humans. The two first studies investigating the relationship between hippocampal neurogenesis and antidepressant drugs in depressed patients have yielded mixed results: an increase of the SGZ neural progenitors was found after antidepressant treatment in adult, but not elderly patients.^{5,6}

One meaningful finding of our study is that, without hippocampal neurogenesis, fluoxetine becomes unable to restore under chronic stress conditions the hippocampus-dependent inhibition of the HPA axis as well as to reverse the behavioral and physical alterations. This suggests that the improvement of stress system regulation is a critical process in the therapeutic action of antidepressants, at least in the substantial subset of patients with altered HPA axis reactivity. This is consistent with clinical data which demonstrate that, in most patients with altered HPA axis negative feedback, remission and decreased risk of relapse are associated with the improvement of HPA axis functioning.^{28–31} Overall, this finding reveals that the hippocampus not only regulates brain systems involved in the stress response at baseline but is also critical in mediating the ability of monoaminergic antidepressants to modulate stress response, probably through newly generated neurons. This possibility is in agreement with a brief report indicating that neurogenesis inhibition may yield higher corticosterone secretion in mice following exposure to a new bright-light condition, suggesting that even under conditions when the negative feedback is not fully desensitized, newborn neurons may have a more subtle role in dampening the response to stress.⁶⁷

As a consequence, we aimed to scrutinize precisely the relationships between the hippocampus and stress response systems. Specifically a single pre-administration of the synthetic glucocorticoid DEX decreased Fos expression in the GCL of control-vehicle mice exposed to a new context. These differences in granule cell activation could potentially influence the activity of the next hippocampal cell layer (CA3)⁶⁸ and then enable the hippocampal network to couple stress and contextual information.⁶⁹ Hence, a possible interpretation is to consider this reduction as a manner for the granule cell population to take into account, at the network level, glucocorticoid releases during new contextual inputs. On the other hand, this Fos-induction produced by novelty is disrupted under chronic stress with no additional effect of exogenous glucocorticoids. It is therefore conceivable that the alteration of the GCL sensitivity leads to disturbances in information processing and stress integration. We tested this possibility by probing the neurocircuitry connecting

the hippocampus to the HPA axis.^{21,22} Our results demonstrate that chronic stress profoundly moderates the hippocampal influence on subcortical structures involved in the stress response such as lateral septum, BST, preoptic area and DMH. Taken together, these results suggest that chronic stress, by decreasing inhibitory regulation from the hippocampus, may bias the net input balance toward greater excitatory influences into the PVN leading to its overactivation and perhaps underlying the impairments of the hippocampus-dependent negative feedback on the HPA axis.

Strikingly, the Fos induction in the GCL and the response to exogenous glucocorticoids are preserved in fluoxetine-treated UCMS mice. Antidepressant treatment is therefore able to restore under chronic stress conditions the sensitivity of the granule cell network to novelty/glucocorticoid effects. As adult-generated granule cells are continuously added to the network, they are a potential source of new sensitive neurons with enhanced plasticity and excitability.^{57,70–74} Considering that fluoxetine treatment increased neurogenesis levels in UCMS mice, it was then conceivable that such compounds compensate the chronic stress effects on GCL network activity by recruiting higher proportions of adult newborn neurons among the granule cells expressing Fos. Indeed, this hypothesis was confirmed in UCMS-fluoxetine mice with a greater density of 4-week-old newborn cells expressing Fos and a higher rate of Fos+ neurons in the inner GCL (containing high levels of newborn young neurons).^{41–44} Enhancing neurogenesis may thus be a way for antidepressant drugs to add a fresh source of new sensitive neurons that may affect hippocampal functioning and then improve stress integration.

Interestingly, the proportion of Fos expression in the inner GCL of UCMS-fluoxetine mice are even greater than in control-vehicle mice, which also exhibited high levels of SGZ cell proliferation and neurogenesis. A potential explanation is that fluoxetine does not only enhance neurogenesis but also accelerates maturation and synaptic integration of the newborn neurons, as already shown.¹⁴ This effect may promote their recruitment and thus contribute to counteract the effects induced by chronic stress. As a matter of fact, the higher proportion of Fos expression in the BrdU+ cells, which was found exclusively in UCMS-fluoxetine mice appears to strengthen this interpretation. Another important question is whether or not the effects of newborn neurons during such processes are direct. The fact that Fos expression has been found in BrdU+ cells supports this idea. Moreover, newborn granule cells in mice can begin to express glucocorticoid receptor early: 66% 1 week after BrdU integration and almost 100% four weeks after BrdU integration (as high as older mature neurons).⁷⁵ These data suggest that newborn neurons may potentially be sensitive to glucocorticoid release during their development. However, we did not report any significant change induced by DEX indicating that newborn neurons could actually be

less sensitive to glucocorticoids than mature neurons. These results are surprising because taken together they indicate that the reduction of the GCL network activation induced by DEX can paradoxically be improved by increasing a population of young neurons though less sensitive to DEX. This apparent discrepancy can be enlightened by a recent study,⁷⁶ where the authors demonstrated that a limited amount of newborn granule cells is able to negatively modulate the activity in the larger population of mature granule cells, maybe by preferentially activating inhibitory interneurons. Accordingly, it is conceivable that, in our context, DEX biases the balance of activity toward young granule cells (if less sensitive to DEX), then potentiating the DEX-induced reduction of the activation of older granule cells. Within this framework, fluoxetine, by enhancing neurogenesis and perhaps improving maturation, might re-establish the sensitivity of the GCL network to novelty/glucocorticoid effects.

The hippocampus is also highly interconnected with various corticolimbic structures, which control the stress response, emotion and motivation such as the amygdala, cingulate gyrus, prefrontal cortex and ventral striatum.^{16–18} These structures are thought to be involved in an integrated stress response and underlie the main pathological manifestations of anxiety/depressive disorders.^{77–79} It is therefore conceivable that the UCMS-induced HPA axis abnormalities represent only a measurable fraction of larger changes in the stress integration system and that elevation of hippocampal neurogenesis might enable monoaminergic antidepressants to strengthen hippocampal influences on these brain regions.

Another important finding of our study is that inhibition of hippocampal neurogenesis does not cause any alteration of the HPA axis functioning or regulation in both control- and UCMS-vehicle mice. The hippocampus is known to contribute to HPA axis regulation: its stimulation can reduce glucocorticoid secretion^{80,81} whereas hippocampal damages can increase stress-induced glucocorticoid release.^{82,83} In spite of this, none of our previous and current results suggest that neurogenesis disruption alone substantially disrupts either the circadian rhythm of HPA axis activity or the stress response.³ Defects in hippocampal functioning should therefore require larger alterations in the intrinsic biology of the hippocampus than a neurogenesis decline alone. Accordingly, these results reveal that neurogenesis may not be the driver of the hippocampal regulation on the HPA axis, at least without greater environmental challenges.

Taken together, our data suggest that, while hippocampal neurogenesis would contribute to the improvement of stress integration by antidepressants during chronic stress exposure, its role could be less important in the absence of previous deficiencies or pathological situations. This result parallels the Kempermann's hypothesis of the neurogenic reserve.⁸⁴ He suggests that adult newborn hippocampal neurons would constitute a reserve, inessential in normal conditions, but which could become decisive

when the organism is confronted with novelty or complex situations. In our context, new hippocampal neurons might thus be critical for antidepressant effects only when the hippocampus-dependent regulation of the stress system is deficient.

In conclusion, this study demonstrates how hippocampal neurogenesis can contribute to regulate the stress hormone system. This function may explain why adult-generated granule cells are required for several behavioral effects of monoaminergic antidepressants. However, not all the patients with anxiety/depression display HPA axis abnormalities,⁸⁵ as well as not all the mouse strains exhibit HPA axis disturbances following UCMS exposure.⁴⁵ It is therefore likely that the extent of neurogenesis involvement in antidepressant effects can depend on the degree of stress system alterations for each subject or mouse strain. Interestingly, the previous conflicting results can be enlightened by this hypothesis. Indeed, the utilization of control non-stressed mice or stressed mice without any significant alterations of stress systems would be less appropriate to highlight the role of adult-generated hippocampal neurons in antidepressant effects.^{56,58} In the same vein, not all the patients respond to antidepressant therapies; accordingly, extending this work to the mechanisms of what is happening in anxious/depressed patients might be limited to some subtypes of stress-related disorders or subgroups of patients. Future studies will therefore have to examine whether stress system alterations are clearly a condition for the neurogenesis involvement in antidepressant effects and whether adult-generated hippocampal neurons can influence stress integration in other relevant brain regions such as the prefrontal cortex, cingulate cortex or amygdala.

Conflict of interest

AS, AT, AL, QR, CT, RP and YIV, report no biomedical financial interests or potential conflicts of interests. GG is an employee of Sanofi-Aventis. EDL receives compensation as a consultant to PGxHealth. RH receives compensation as a consultant for BrainCells, PsychoGenics, Servier, Astra Zeneca and Lundbeck in relation to the generation of novel antidepressants. CB receives compensation as a consultant for Takeda.

Acknowledgments

We thank Dr Sylvie Chalon (Inserm), Dr Samuel Leman (Université F. Rabelais) for help and comments, Dr Ayumu Tashiro (NTNU) for support as well as Anne-Marie Leguisquet, Séverine Devers, Maryse Pingaud, Dominique Le Glaunec, Lucette Garreau, Edith Klobetz-Rassam, Navieta Ramasami and the PPF 'Analyse des systèmes biologiques' for assistance. AS received research grants from Région Centre, FRM and IBRO, funds from the Bettencourt-Schueller Foundation and is currently supported by the 7th framework program of the European Commission. EDL is supported by NIH grant K08 MH076083.

References

- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA *et al*. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; **4**: 1313–1317.
- Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 2005; **28**: 223–250.
- 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.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000; **20**: 9104–9110.
- Boldrini M, Underwood MD, Hen R, Rosoklija GB, Dwork AJ, John Mann J *et al*. Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 2009; **34**: 2376–2389.
- Lucassen PJ, Stumpel MW, Wang Q, Aronica E. Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. *Neuropharmacology* 2010; **58**: 940–949.
- Revest JM, Dupret D, Koehl M, Funk-Reiter C, Grosjean N, Piazza PV *et al*. Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol Psychiatry* 2009; **14**: 959–967.
- Czeh B, Welt T, Fischer AK, Erhardt A, Schmitt W, Muller MB *et al*. Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 2002; **52**: 1057–1065.
- Cameron HA, Gould E. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 1994; **61**: 203–209.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 3168–3171.
- Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Chalon S, Griebel G *et al*. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry* 2008; **64**: 293–301.
- Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, Chen H, Deisseroth K. High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 2007; **317**: 819–823.
- Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van Cleemput J, Ji SP, Bai G *et al*. Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 2005; **115**: 3104–3116.
- Wang JW, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, Hen R. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J Neurosci* 2008; **28**: 1374–1384.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, 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.
- Floresco SB, Todd CL, Grace AA. Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *J Neurosci* 2001; **21**: 4915–4922.
- Naber PA, Witter MP. Subicular efferents are organized mostly as parallel projections: a double-labeling, retrograde-tracing study in the rat. *J Comp Neurol* 1998; **393**: 284–297.
- Amaral DG, Witter MP. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 1995; **31**: 571–591.
- Herman JP, Schafer MK, Young EA, Thompson R, Douglass J, Akil H *et al*. Evidence for hippocampal regulation of neuroendocrine neurons of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J Neurosci* 1989; **9**: 3072–3082.
- Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T. Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* 2003; **119**: 887–897.
- Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2005; **29**: 1201–1213.
- Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* 2009; **10**: 397–409.
- Rubin RT, Poland RE, Lesser IM, Winston RA, Blodgett AL. Neuroendocrine aspects of primary endogenous depression. I. Cortisol secretory dynamics in patients and matched controls. *Arch Gen Psychiatry* 1987; **44**: 328–336.
- Nemeroff CB, Widerlov E, Bissette G, Walleus H, Karlsson I, Eklund K *et al*. Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* 1984; **226**: 1342–1344.
- Holsboer F, von Bardeleben U, Wiedemann K, Muller OA, Stalla GK. Serial assessment of corticotropin-releasing hormone response after dexamethasone in depression. Implications for pathophysiology of DST nonsuppression. *Biol Psychiatry* 1987; **22**: 228–234.
- Heuser I, Yassouridis A, Holsboer F. The combined dexamethasone/CRH test: a refined laboratory test for psychiatric disorders. *J Psychiatr Res* 1994; **28**: 341–356.
- Lopez-Duran NL, Kovacs M, George CJ. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation in depressed children and adolescents: a meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 2009; **34**: 1272–1283.
- Holsboer-Trachsler E, Stohler R, Hatzinger M. Repeated administration of the combined dexamethasone-human corticotropin releasing hormone stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Res* 1991; **38**: 163–171.
- Appelhof BC, Huyser J, Verweij M, Brouwer JP, van Dyck R, Fliers E *et al*. Glucocorticoids and relapse of major depression (dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in relation to relapse of major depression). *Biol Psychiatry* 2006; **59**: 696–701.
- Kunugi H, Ida I, Owashi T, Kimura M, Inoue Y, Nakagawa S *et al*. Assessment of the dexamethasone/CRH test as a state-dependent marker for hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis abnormalities in major depressive episode: a Multicenter Study. *Neuropsychopharmacology* 2006; **31**: 212–220.
- Ising M, Horstmann S, Kloiber S, Lucae S, Binder EB, Kern N *et al*. Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression—a potential biomarker? *Biol Psychiatry* 2007; **62**: 47–54.
- Datson NA, Speksnijder N, Mayer JL, Steenbergen PJ, Korobko O, Goeman J *et al*. The transcriptional response to chronic stress and glucocorticoid receptor blockade in the hippocampal dentate gyrus. *Hippocampus*; doi: 10.1002/hipo.20905 (e-pub ahead of print).
- Surget A, Wang Y, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Edgar N, Griebel G *et al*. Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal. *Neuropsychopharmacology* 2009; **34**: 1363–1380.
- Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)* 1997; **134**: 319–329.
- Cryan JF, Holmes A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov* 2005; **4**: 775–790.
- Sibille E, Wang Y, Joeyen-Waldorf J, Gaiteri C, Surget A, Oh S *et al*. A molecular signature of depression in the amygdala. *Am J Psychiatry* 2009; **166**: 1011–1024.
- Alonso R, Griebel G, Pavone G, Stemmelin J, Le Fur G, Soubrie P. Blockade of CRF or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol Psychiatry* 2004; **9**: 278–286, 224.
- Paxinos G, Franklin KBJ. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press: San Diego, CA, 2001, 124pp.
- Snyder JS, Ramchand P, Rabbett S, Radik R, Wojtowicz JM, Cameron HA. Septo-temporal gradients of neurogenesis and activity in 13-month-old rats. *Neurobiol Aging*; doi:10.1016/j.neurobiolaging.2009.05.022 (e-pub ahead of print).
- Snyder JS, Radik R, Wojtowicz JM, Cameron HA. Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 2009; **19**: 360–370.
- Seri B, Garcia-Verdugo JM, Collado-Morente L, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J Comp Neurol* 2004; **478**: 359–378.

- 42 Kempermann G, Gast D, Kronenberg G, Yamaguchi M, Gage FH. Early determination and long-term persistence of adult-generated new neurons in the hippocampus of mice. *Development* 2003; **130**: 391–399.
- 43 Dayer AG, Ford AA, Cleaver KM, Yassae M, Cameron HA. Short-term and long-term survival of new neurons in the rat dentate gyrus. *J Comp Neurol* 2003; **460**: 563–572.
- 44 Crespo D, Stanfield BB, Cowan WM. Evidence that late-generated granule cells do not simply replace earlier formed neurons in the rat dentate gyrus. *Exp Brain Res* 1986; **62**: 541–548.
- 45 Ibarguen-Vargas Y, Surget A, Touma C, Palme R, Belzung C. Multifaceted strain-specific effects in a mouse model of depression and of antidepressant reversal. *Psychoneuroendocrinology* 2008; **33**: 1357–1368.
- 46 Touma C, Palme R, Sachser N. Analyzing corticosterone metabolites in fecal samples of mice: a noninvasive technique to monitor stress hormones. *Horm Behav* 2004; **45**: 10–22.
- 47 Touma C, Sachser N, Mostl E, Palme R. Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *Gen Comp Endocrinol* 2003; **130**: 267–278.
- 48 Tashiro A, Makino H, Gage FH. Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J Neurosci* 2007; **27**: 3252–3259.
- 49 Kee N, Teixeira CM, Wang AH, Frankland PW. Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat Neurosci* 2007; **10**: 355–362.
- 50 Ramirez-Amaya V, Marrone DF, Gage FH, Worley PF, Barnes CA. Integration of new neurons into functional neural networks. *J Neurosci* 2006; **26**: 12237–12241.
- 51 Henn FA, Vollmayr B. Neurogenesis and depression: etiology or epiphenomenon? *Biol Psychiatry* 2004; **56**: 146–150.
- 52 Sapolsky RM. Is impaired neurogenesis relevant to the affective symptoms of depression? *Biol Psychiatry* 2004; **56**: 137–139.
- 53 Eisch AJ, Cameron HA, Encinas JM, Meltzer LA, Ming GL, Overstreet-Wadiche LS. Adult neurogenesis, mental health, and mental illness: hope or hype? *J Neurosci* 2008; **28**: 11785–11791.
- 54 Duman RS. Depression: a case of neuronal life and death? *Biol Psychiatry* 2004; **56**: 140–145.
- 55 Meshi D, Drew MR, Saxe M, Ansorge MS, David D, Santarelli L et al. Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat Neurosci* 2006; **9**: 729–731.
- 56 Bessa JM, Ferreira D, Melo I, Marques F, Cerqueira JJ, Palha JA et al. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 2009; **14**: 764–773, 739.
- 57 Saxe MD, Battaglia F, Wang JW, Malleret G, David DJ, Monckton JE et al. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; **103**: 17501–17506.
- 58 Holick KA, Lee DC, Hen R, Dulawa SC. Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/c mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 2008; **33**: 406–417.
- 59 American Psychiatric Association. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edn American Psychiatric Press: Washington DC, 1994.
- 60 Huang GJ, Bannerman D, Flint J. Chronic fluoxetine treatment alters behavior, but not adult hippocampal neurogenesis, in BALB/c mice. *Mol Psychiatry* 2008; **13**: 119–121.
- 61 Yeragani VK, Pohl R, Mallavarapu M, Balon R. Approximate entropy of symptoms of mood: an effective technique to quantify regularity of mood. *Bipolar Disord* 2003; **5**: 279–286.
- 62 Gelfin Y, Gorfine M, Lerer B. Effect of clinical doses of fluoxetine on psychological variables in healthy volunteers. *Am J Psychiatry* 1998; **155**: 290–292.
- 63 Barr LC, Heninger GR, Goodman W, Charney DS, Price LH. Effects of fluoxetine administration on mood response to tryptophan depletion in healthy subjects. *Biol Psychiatry* 1997; **41**: 949–954.
- 64 Vollmayr B, Simonis C, Weber S, Gass P, Henn F. Reduced cell proliferation in the dentate gyrus is not correlated with the development of learned helplessness. *Biol Psychiatry* 2003; **54**: 1035–1040.
- 65 Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 2008; **132**: 645–660.
- 66 Wong ML, Licinio J. Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci* 2001; **2**: 343–351.
- 67 Schloesser RJ, Manji HK, Martinowich K. Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport* 2009; **20**: 553–557.
- 68 Treves A, Tashiro A, Witter ME, Moser EI. What is the mammalian dentate gyrus good for? *Neuroscience* 2008; **154**: 1155–1172.
- 69 Becker S, Wojtowicz JM. A model of hippocampal neurogenesis in memory and mood disorders. *Trends Cogn Sci* 2007; **11**: 70–76.
- 70 Wang S, Scott BW, Wojtowicz JM. Heterogenous properties of dentate granule neurons in the adult rat. *J Neurobiol* 2000; **42**: 248–257.
- 71 Snyder JS, Kee N, Wojtowicz JM. Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. *J Neurophysiol* 2001; **85**: 2423–2431.
- 72 Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song H. A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron* 2007; **54**: 559–566.
- 73 Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 2004; **429**: 184–187.
- 74 Laplagne DA, Esposito MS, Piatti VC, Morgenstern NA, Zhao C, van Praag H et al. Functional convergence of neurons generated in the developing and adult hippocampus. *PLoS Biol* 2006; **4**: e409.
- 75 Garcia A, Steiner B, Kronenberg G, Bick-Sander A, Kempermann G. Age-dependent expression of glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors on neural precursor cell populations in the adult murine hippocampus. *Aging Cell* 2004; **3**: 363–371.
- 76 Lacefield CO, Itskov V, Reardon T, Hen R, Gordon JA. Effects of adult-generated granule cells on coordinated network activity in the dentate gyrus. *Hippocampus*; doi: 10.1002/hipo.20860 (e-pub ahead of print).
- 77 Seminowicz DA, Mayberg HS, McIntosh AR, Goldapple K, Kennedy S, Segal Z et al. Limbic-frontal circuitry in major depression: a path modeling metanalysis. *Neuroimage* 2004; **22**: 409–418.
- 78 Drevets WC, Price JL, Furey ML. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Struct Funct* 2008; **213**: 93–118.
- 79 Carlson PJ, Singh JB, Zarate Jr CA, Drevets WC, Manji HK. Neural circuitry and neuroplasticity in mood disorders: insights for novel therapeutic targets. *NeuroRx* 2006; **3**: 22–41.
- 80 Rubin RT, Mandell AJ, Crandall PH. Corticosteroid responses to limbic stimulation in man: localization of stimulus sites. *Science* 1966; **153**: 767–768.
- 81 Dunn JD, Orr SE. Differential plasma corticosterone responses to hippocampal stimulation. *Exp Brain Res* 1984; **54**: 1–6.
- 82 Herman JP, Cullinan WE, Morano MI, Akil H, Watson SJ. Contribution of the ventral subiculum to inhibitory regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J Neuroendocrinol* 1995; **7**: 475–482.
- 83 Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984; **81**: 6174–6177.
- 84 Kempermann G. The neurogenic reserve hypothesis: what is adult hippocampal neurogenesis good for? *Trends Neurosci* 2008; **31**: 163–169.
- 85 Holsboer F. The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 2000; **23**: 477–501.



This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-Share Alike 3.0 Unported License. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>

Supplementary Information accompanies the paper on the Molecular Psychiatry website (<http://www.nature.com/mp>)

Supplementary Information

Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation

Alexandre Surget, Arnaud Tanti, E. David Leonardo, Anthony Laugeray, Quentin Rainer, Chadi Touma, Rupert Palme, Guy Griebel, Yadira Ibarguen-Vargas, René Hen, Catherine Belzung.

✓	<i>Supplementary Materials and Methods</i>	<i>(p2)</i>
✓	<i>Supplementary Figure S1</i>	<i>(p12)</i>
✓	<i>Supplementary Figure S2</i>	<i>(p13)</i>
✓	<i>Supplementary Figure S3</i>	<i>(p14)</i>
✓	<i>Supplementary Figure S4</i>	<i>(p15)</i>
✓	<i>Supplementary Figure S5</i>	<i>(p16)</i>

SUPPLEMENTARY MATERIALS AND METHODS

Animals

Male BALB/c mice were purchased from Taconic (Germantown, NY, USA) or from Centre d'Elevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France), and were aged between 3 and 4 months at the time of the beginning of the UCMS exposure. Animals were group-housed (n = 4-5 per cage) until the onset of the UCMS regimen and maintained under standard laboratory conditions (12/12h light-dark cycle –on at 11:00/off at 23:00–, 22±2°C, food and water were provided ad libitum). All animal care and treatment were in accordance with the European Community Council directive 86/609/EEC and with the Guide and Use of Laboratory Animals established by the US National Institute of Health.

Drugs

The SSRI Fluoxetine-HCl (Eli Lilly, Indianapolis, IN) and the corticotropin-releasing factor receptor 1 (CRF₁) receptor antagonist SSR125543 (Sanofi-Aventis, Bagneux, France) were dissolved in a saline solution (0.9% NaCl) or suspended in a saline solution (0.9% NaCl) containing 5% dimethyl sulphoxide (DMSO) and 5% Cremophor EL respectively. To assess the HPA axis negative feedback and the sensitivity of DG granule cells to glucocorticoid effects, the glucocorticoid receptor agonist dexamethasone-phosphate (DEX-P, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) was prepared for a single intraperitoneal (i.p.) administration (0.1 mg/kg) in a saline solution (0.9% NaCl). To assess the ability of the hippocampus to inhibit the HPA axis, dexamethasone (DEX, Sigma-Aldrich) was prepared for a single intrahippocampal infusion (50 ng in 0.6 µl) in a saline solution (0.9% NaCl) containing 0.2% ethanol. To assess cell proliferation and to label new adult-born cells in the DG, the thymidine analogous 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU, Sigma-Aldrich) was used as it can incorporate into DNA of proliferating cells. BrdU was dissolved in 0.9% NaCl. For the cell proliferation analysis, mice received four administrations of BrdU (4 x 75 mg/kg, i.p.), one injection every 2hr; mice were perfused 24hr after the last BrdU administration. For the neurogenesis analysis, mice were administered with BrdU during 3 days (twice daily, 150 mg/kg, i.p.), 8hr between the 2 injections each day; mice were perfused 4 weeks later. When

immunohistochemistry was performed, mice were anaesthetized with a mixture of ketamine/xylazine dissolved in 0.9% NaCl before perfusion.

Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS)

The stress regimen has been previously presented in detail¹ and is a variant of the chronic mild stress procedures described by Willner in rats.² Mice were repeatedly subjected to various socio-environmental stressors according to an unpredictable schedule for a total period of 6-8 weeks.¹ UCMS-exposed mice were maintained under the same standard laboratory conditions but were single housed in small individual cages (24x11x12 cm), while non-stressed control mice were also single housed but in larger cages (42x28x18 cm) with plastic tunnel and shelter. From the third week of UCMS onward, mice were administered ip, once a day, with either vehicle, either fluoxetine (20 mg/kg/day) or SSR125543 (20 mg/kg/day). Doses have been based on our previous experiment showing activity at these concentrations.¹

Body weight and coat state assessment

Body weight and coat state were assessed weekly, as markers of the progression of the UCMS-evoked syndrome.^{1, 3} The total score of the state of the coat resulted from the sum of scores obtained from seven different body parts: head, neck, dorsal coat, ventral coat, tail, forepaws and hindpaws. For each body area, a score of 0 was given for a well-groomed coat and 1 for an unkempt coat.

Cookie Test (CT)

This test required a device containing three aligned compartments with the same dimension (20x20x20 cm). Only the colors of the walls and the floor were different between the compartments: white for the first one, grey for the second one and black for the third one (Figure 2a). The three compartments communicated by two openings controlled by the experimenters. The apparatus was illuminated with 200-lux white light. Starting four weeks and a half before the first session, a small portion ($2 \text{ g} \pm 1$) of a chocolate cookie (Pepito, Lu, France) was placed in the home cage twice daily during 2.5 weeks in order to familiarize the mice with the palatable stimulus. The last two weeks before the first session were cookie-free. One hour before testing, food was removed in order to avoid inter-individual differences in the drive for feeding (hunger). At the time of testing, a small amount ($2 \text{ g} \pm 1$) of chocolate

cookie (or of regular food in a supplemental control experiment) was positioned at the center of the black compartment. The white compartment was the start compartment, where the mouse was placed with the head facing the opposite side to the opening. Each session of the test lasted five minutes; the door of the first opening was closed after the transition of the mouse within a maximum time of 2 minutes (the mouse was gently guided to the second room if required). The number of bites from the cookie was recorded within the 5min test period. Four sessions of testing were performed within 10 days, each session being separated from the previous one by 3 days. All the sessions were performed during the light phase (from 15:00).

X-ray irradiation procedure

For some experiments, mice were exposed to three targeted X-irradiations focusing on the hippocampus. All mice were anesthetized with ketamine/xylazine (100 mg/kg and 7 mg/kg respectively), placed in a stereotaxic frame and then, only for irradiated mice, exposed to cranial irradiation using a Siemens Stabilopan X-ray system (Hamburg, Germany) as previously described.^{4, 5} Animals were protected with a lead shield that covered the body but left unshielded for a 3.22 x 11 mm treatment field above the hippocampus (interaural 3.00 to .00). The corrected dose rate was approximately 1.8 Gy/min at a source to skin distance of 30 cm. The procedure lasted 2 min 47 sec, delivering a total of 5 Gy. Three 5 Gy doses were given over the course of one week (day 0, 4, and 8). This procedure was performed at Columbia University in New York. Mice were then shipped for the UCMS procedure at the U930 of the Inserm and Université F. Rabelais in Tours. Because irradiation induces transient inflammation, mice were allowed to recover for 4 weeks before initiating the UCMS regimen and between 10 and 12 weeks before testing, a period after which the inflammatory effects of hippocampal irradiation are largely completed.⁶ Thanks to the lead shield, our procedure let the major part of the brain free of radiation. It has been shown that the number of proliferating cells in other neurogenic areas like the subventricular zone remains unaltered and that no consequence on the anatomy, physiology and behavioral functions of the other hippocampal subregions and underlying brain structures such as amygdala or hypothalamus was found from one month after irradiation.⁴

Immunohistochemistry

After anesthesia with ketamine/xylazine (100 mg/kg and 7 mg/kg respectively), mice were transcardially perfused: phosphate-buffered saline (PBS, pH=7.4) for 3min and 4% paraformaldehyde (PFA) for 5min. Brains were then collected, post-fixed overnight in 4% PFA and stored in 30% sucrose 0.1% sodium azide at least 24h before being processed.

Immunohistochemistry for subgranular zone (SGZ) proliferation was performed as previously described.⁵ Serial coronal sections through the rostro-caudal brain extent were cut (45µm), every third section from each brain was collected. Free-floating sections were treated with 3% H₂O₂ / 50% ethanol for 20min, denatured in 2N HCl (30min). Sections were then incubated with rat anti-BrdU antibody (1:500, Oxford Biotechnology, Oxfordshire, UK) for 40h at 4°C followed by rabbit anti-rat biotinylated antibody (1:200, Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) for 2.5h at room temperature. The staining was amplified with an avidin-biotin complex (Elite ABC kit, Vector Laboratories) and visualized with DAB (Sigma-Aldrich).

To label the immediate early gene (IEG) Fos in several subcortical areas after intrahippocampal injection of dexamethasone (figure 3), immunohistochemistry was performed as below except that sections were not denatured with 2N HCl and were incubated with a rabbit anti-Fos antibody (1:5000, PC38, Calbiochem, San Diego, CA, USA) for 48h at 4°C followed by a donkey anti-rabbit biotinylated antibody (1:500, Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA, USA) for 2h at room temperature.

To assess the effects of chronic stress and fluoxetine on neurogenesis, we labeled 4-week old new neurons by means of immunodetection of the neuronal-specific nuclear protein (NeuN) and BrdU. Serial coronal sections through the rostro-caudal brain extent were cut (30µm). Free-floating sections were denatured with 2N HCl (30min), incubated with primary antibodies for 20h at 4°C followed by fluorochrome-labelled secondary antibodies for 2.5h at room temperature and then mounted on slides with the mounting medium Hard-Set Vectashield (Vector Laboratories). The primary antibodies used were: a mouse anti-NeuN monoclonal antibody (1:1000, Chemicon International, Billerica, MA, USA) and a rat anti-BrdU monoclonal antibody (1:500 Oxford Biotechnology). The secondary antibodies used were: Alexa-488nm anti-mouse and Alexa-633nm anti-rat antibodies (1:200, Molecular Probe, Eugene, OR, USA).

In order to assess the sensitivity of 4-week-old new neurons and of the whole granule cell population to novelty and glucocorticoid effect, we labeled cells simultaneously for the neuronal-specific nuclear protein (NeuN), Fos and BrdU. Immunohistochemistry was similar to the one described above, with the addition of a rabbit anti-Fos monoclonal antibody (1:1000 Oxford Biotechnology) as primary antibody and an Alexa-546nm anti-rabbit (1:200, Molecular Probe) as secondary antibody.

Image analysis and cell quantification

When staining was visualized with DAB, the number of positive cells was counted using x20 and x40 objective lens with a conventional light microscope. For SGZ cell proliferation, we counted all BrdU-labeled cells in the granule cell layer (GCL) including the SGZ, where the neural progenitors are located. The SGZ was defined as the deepest row of cells in the GCL bordering the hilus, although it does not strictly represent a well-differentiated cell layer. A cell was counted as being in the SGZ if it was touching or in the deepest row of the GCL. The cells that were located two cells or more away from the SGZ were considered as hilar cells and were not counted. This counting was performed on every third 45µm-section throughout the entire hippocampus. This spacing ensured that the same neurons were not counted in two sections.

For Fos-labeled cell counting of regions of interest and data analysis, the nomenclature and nuclei boundaries used were those defined by Paxinos and Franklin's mouse brain atlas.⁷ Fos+ cells within each region were counted bilaterally in consecutive sections starting from bregma 0.62 to bregma -1.58. For every animals and regions, the same number of sections was used and the volume of each area controlled. Regions included and corresponding coordinates were the lateral septum (LS - bregma [0.62 to 0.14]), anteromedial bed nucleus of the stria terminalis (amBST - bregma [0.62 to 0.02]), posteromedial bed nucleus of the stria terminalis (pmBST - bregma [-0.10 to -0.34]), anteroventral bed nucleus of the stria terminalis (avBST - bregma [0.62 to 0.02]), ventrolateral preoptic area (vlPOA -bregma [0.26 to -0.10]), medial preoptic area (mPOA - bregma [0.14 to -0.46]), dorsomedial hypothalamic nucleus (DMH - bregma [-1.34 to -1.58]), lateral hypothalamic nucleus (LH - bregma [-0.34 to -0.70]), and the paraventricular nucleus (PVN) of the hypothalamus (bregma [-0.58 to -1.22]).

When staining was visualized with fluorochrome-labeled secondary antibodies, the number of positive cells was counted using a x40 objective lens with a confocal microscope and Fluoview Software, v5.0 (Olympus) for NeuN/BrdU/Fos labeling and with an epifluorescence

microscope for DCX/Fos labeling. Eight sections (16 hippocampus) along the rostro-caudal extent of the hippocampus were examined, approximately bregma: -1.46, -1.82, -2.18, -2.54, -2.80, -3.08, -3.28, -3.52 according to Paxinos and Franklin (2001).⁷ We counted all the cells double- or triple-labeled for NeuN/BrdU, NeuN/Fos, NeuN/BrdU/Fos within the entire GCL of the eight sections for each mouse.

However, these BrdU+ cells represent only a small part of the neurons born during the last weeks. We therefore aimed to determine activity in a broader population of young adult-born neurons. For this purpose, we counted the number of NeuN+/Fos+ cells in the inner part of the GCL containing the SGZ, a reliable method previously used.^{8,9} All the NeuN+/Fos+ cells touching or in the SGZ (i.e. the two deepest rows of the GCL plus cells touching the last row at the interface with the hilus) was considered to belong to the inner part of the GCL.

Cells were counted as positive when the signal stood out clearly when compared with the surrounding tissue – at least 20% higher than the background intensity, confirmed with ImageJ software (NIH) when required. Colocalization was examined carefully by checking the shape of the signal (particularly when several antibodies stained the nuclei such as NeuN, BrdU and Fos) and by taking z-stacks with 10 focal plans.

The GCL area was measured with ImageJ software from pictures at x20 objective lens. To obtain the GCL volume, the area was multiplied by the section thickness for images or by the total z-series thickness for images from the confocal microscope. It is noteworthy that cell quantification was performed by experimenters unaware of the slide codes.

Fecal sample collection

Feces were collected according to the schedule represented in Figure 5b. For each fecal collection, the litter of the cage was collected and substituted by new sawdust. The feces were then extracted from the litter in another room, this procedure allowed a minimal disturbance of the animals during collection. Each sample contained therefore the feces emitted between two collection time points. It is noteworthy that the animals were handled several times each day in order to familiarize them to be manipulated. Moreover, two weeks before the feces collection, the animals from this experiment were subjected to a similar schedule of sawdust changes in order to familiarize them to this procedure.

Extraction and analysis of fecal corticosterone metabolites

Fecal samples were analyzed for immunoreactive corticosterone metabolites using a 5 α -pregnane-3 β ,11 β ,21-triol-20-one enzyme-immunoassay (EIA) as previously described.¹⁰ Details regarding development, biochemical characteristics and physiological validation of this assay have previously been described.^{11, 12} Before EIA analysis, the fecal samples were dried and homogenized. Aliquots of 0.05 g were extracted with 1 ml of 80% methanol. A detailed description of the extraction procedure and the assay performance has been published elsewhere.¹¹ The intra- and inter-assay coefficients of variation were 9.1% and 14.0%, respectively. As a caveat, fecal corticosterone metabolite levels cannot provide a temporal resolution as precise as plasma corticosterone levels. However, this method is largely noninvasive compared with multiple blood collections or indwelling catheters and avoids examining multiple groups of animals at different time points. Accordingly, although fecal corticosterone metabolite measures may slightly lessen temporal resolution, this method has the major advantage to circumvent important methodological bias induced by invasive procedures, and to comply with higher ethical standards.

DEX administration procedures

To test the effects of irradiation, UCMS and fluoxetine on the negative feedback of the HPA axis, we carried out a DEX suppression test. For this purpose, mice were i.p. injected with either DEX-P (0.1mg/kg, 5 mice per group) or saline (0.9% NaCl, 5 mice per group). All fecal boli that were voided between 8h and 10h after injection were collected in order to measure the level of fecal corticosterone metabolites.

To assess the sensitivity of granule cells to novelty and glucocorticoid effects, mice were i.p. injected with either DEX-P (0.1mg/kg, 5 mice per group) or saline (0.9% NaCl, 5 mice per group). Thirty minutes later, mice were placed in a circular open-field (diameter 35 cm) for 5min. Then, 90 min later (120 min after injection), mice were anesthetized with ketamine/xylazine (120 mg/kg and 10 mg/kg respectively), transcardially perfused and brains collected for immunohistochemistry.

To determine the ability of the hippocampus to regulate subcortical relay sites toward the PVN and to inhibit directly HPA axis activity, we administered the glucocorticoid receptor agonist DEX directly into the hippocampus. The infusion procedure was derived from the method previously described.¹³ Mice were stereotactically and bilaterally implanted with guide cannulas (6mm long, 0.6mm outer diameter, 0.36mm inner diameter). The following coordinates were used for the guide cannula implantation according to Paxinos and Franklin's

atlas: bregma = -3.08, lateral = ± 2.3 , vertical = -1.4.⁷ The next days, mice were familiarized to a mock infusion protocol to minimize any stress associated with the procedure before the start of the infusion experiments. After a 1-week recovery period from the surgery, infusion cannulas (7 mm long, 0.3 mm outer diameter, 0.17 mm inner diameter) were inserted and extended 1 mm below the guide cannula. Infusion was carried out directly in the home cage where a small portion of a chocolate cookie was placed in the cage in order to decrease locomotor activity during infusion. The animals received bilateral infusions during 1.5 min of either vehicle (0.9% NaCl / 0.2% ethanol) or DEX (50 ng in 0.6 μ l). The dose of DEX was determined earlier by preliminary experiments using doses of DEX ranging from 1 to 500 ng. We also attested earlier by methylene blue infusions that such volume of solution is confined close to the infusion site and does not diffuse toward other brain structures. The cannulas remained in place for 2.25 min after injection. In one experiment, brains were collected 2 h following the infusion to assess DEX-induced c-fos changes in downstream brain structures and PVN (figure 3). In another experiment, we aimed to assess intrahippocampal DEX-induced changes in plasma corticosterone levels. For this purpose, the animals were killed by CO₂ asphyxiation 4 h following infusion and then decapitated (figure 6). The trunk blood was collected, plasma separated and stored at -20°C until corticosterone radioimmunoassay. Plasma was analyzed for total corticosterone levels using a ¹²⁵I-labeled corticosterone double-antibody radioimmunoassay kit (MP Biomedicals, NY) according to the manufacturer's protocol. To avoid inter-assay variability, all the samples were run in a single assay (the intra-assay variability was 4.5%). According to the manufacturer, the assay sensitivity is 7.7 ng/ml and the percentage of cross-reactivity with steroids was corticosterone 100%, desoxycorticosterone 0.34%, testosterone 0.1%, cortisol 0.05%, aldosterone 0.03%, progesterone 0.02%, androstenedione 0.01%, 5 α -dihydrotestosterone 0.01%, others <0.01%. For histological verification of the cannula position, 30- μ m brain sections were cut in a cryostat. We included only those animals in which the correct position of the cannula was demonstrated.

Statistics

Considering that relatively small sample sizes ($n \leq 14$ /group) were used and that assumptions for parametric statistics could not be ensured (normality and homoscedasticity), data were analyzed using the non-parametric Kruskal–Wallis “ANOVA by ranks” H-test. Significant effects (i.e., $P < 0.05$) were followed up with post-hoc tests (Holm-Bonferroni method) when appropriate. P-values that are indicated in the Results section always derived from the

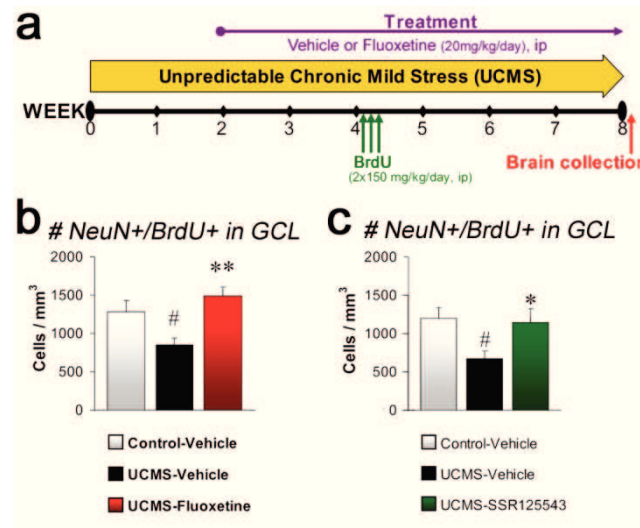
between-groups comparisons using the Kruskal-Wallis H-test, while P-values resulting from post-hoc comparisons are indicated in the figures. The sample sizes are provided in the figure legends.

REFERENCES

1. Surget A, Wang Y, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Edgar N, Griebel G *et al.* Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal. *Neuropsychopharmacology* 2009; **34**(6): 1363-1380.
2. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl)* 1997; **134**(4): 319-329.
3. Alonso R, Griebel G, Pavone G, Stemmelin J, Le Fur G, Soubrie P. Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol Psychiatry* 2004; **9**(3): 278-286, 224.
4. 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**(5634): 805-809.
5. Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Chalon S, Griebel G *et al.* Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry* 2008; **64**(4): 293-301.
6. Meshi D, Drew MR, Saxe M, Ansorge MS, David D, Santarelli L *et al.* Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat Neurosci* 2006; **9**(6): 729-731.
7. Paxinos G, Franklin KBJ. *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press: San Diego, CA, 2001, 124pp.
8. Snyder JS, Ramchand P, Rabbett S, Radik R, Wojtowicz JM, Cameron HA. Septo-temporal gradients of neurogenesis and activity in 13-month-old rats. *Neurobiol Aging* 2009.
9. Snyder JS, Radik R, Wojtowicz JM, Cameron HA. Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 2009; **19**(4): 360-370.

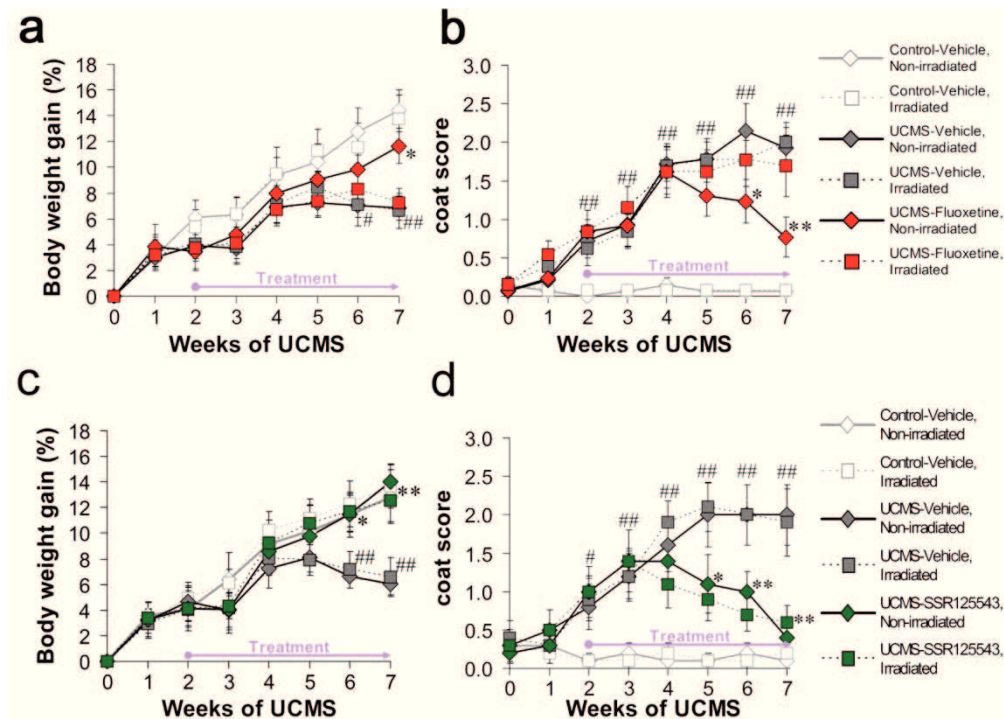
10. Ibarguen-Vargas Y, Surget A, Touma C, Palme R, Belzung C. Multifaceted strain-specific effects in a mouse model of depression and of antidepressant reversal. *Psychoneuroendocrinology* 2008; **33**(10): 1357-1368.
11. Touma C, Palme R, Sachser N. Analyzing corticosterone metabolites in fecal samples of mice: a noninvasive technique to monitor stress hormones. *Horm Behav* 2004; **45**(1): 10-22.
12. Touma C, Sachser N, Mostl E, Palme R. Effects of sex and time of day on metabolism and excretion of corticosterone in urine and feces of mice. *Gen Comp Endocrinol* 2003; **130**(3): 267-278.
13. Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T. Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* 2003; **119**(3): 887-897.

SUPPLEMENTARY FIGURE S1



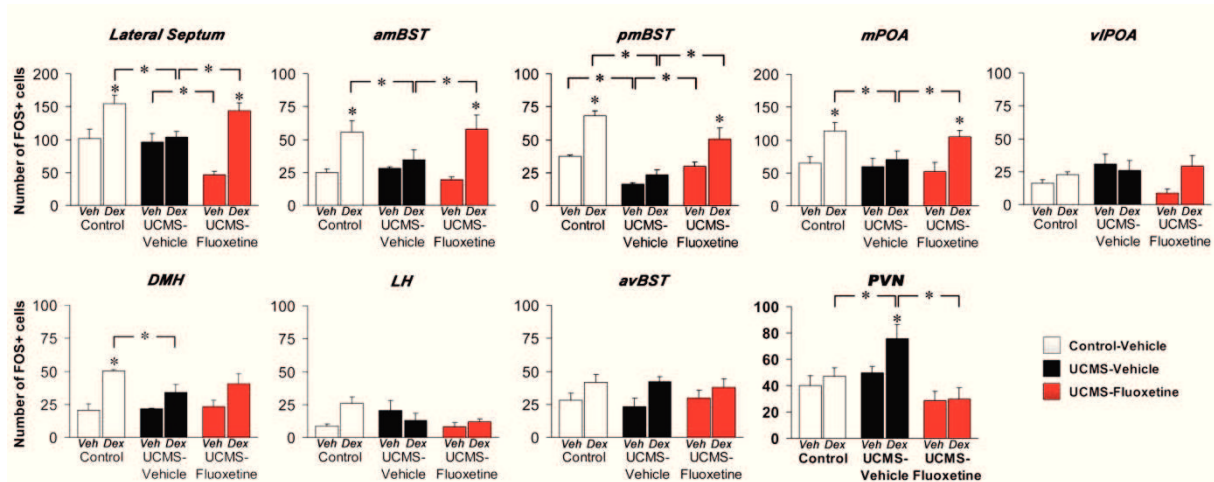
Supplementary figure S1. Fluoxetine and the CRF₁ antagonist SSR125543 reverse the UCMS-induced decrease of neurogenesis in the dentate gyrus. (a) Schematic representation of the experimental design. (b) Neurogenesis in the dentate gyrus assessed by the number of NeuN+/BrdU+ cells per mm³ of GCL, n = 8-10 per group. (c) Neurogenesis in the dentate gyrus (BrdU+/NeuN+ cells) is reduced by the UCMS exposure. This effect is reversed by SSR125543 (20 mg/kg/day, ip; n = 10 per group). #, p<0.05 UCMS-vehicle mice vs. control-vehicle mice; *, p<0.05 and **, p<0.01 UCMS-fluoxetine/SSR125543 mice vs. UCMS-vehicle mice. Data represent mean±sem.

SUPPLEMENTARY FIGURE S2



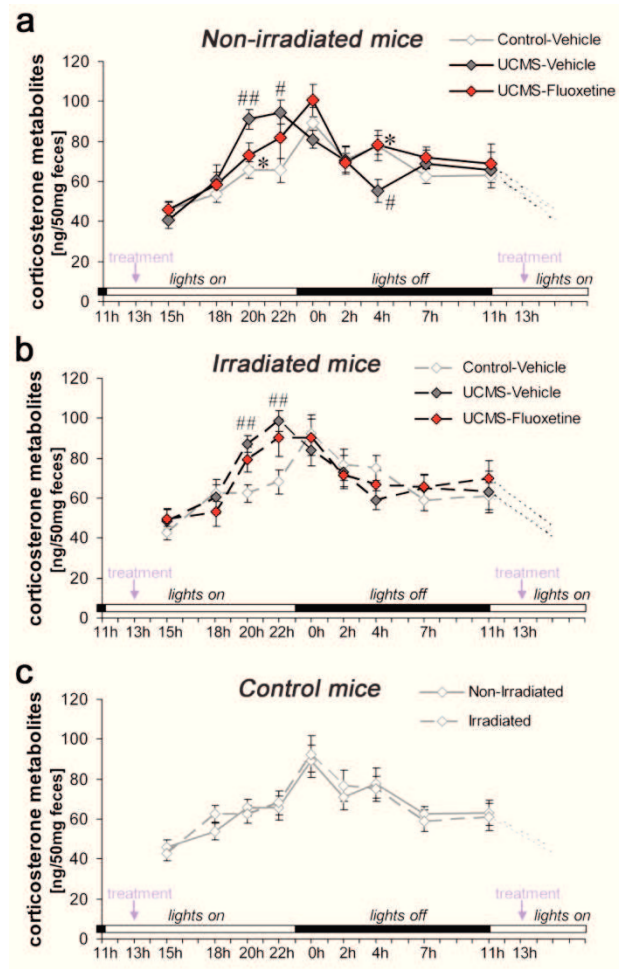
Supplementary figure S2. Fluoxetine, but not SSR125543, requires hippocampal neurogenesis to reverse the detrimental effects of UCMS on body weight gain and coat state. (a) A significant reduction of the body weight gain was observed in UCMS-exposed mice. Fluoxetine treatment (20 mg/kg/day, ip) was able to reverse this UCMS effect only in non-irradiated mice, $n = 13-14$ per group. (b) The weekly coat state evaluation revealed a UCMS-induced degradation of the coat which was reversed by fluoxetine treatment only in non-irradiated mice, $n = 13-14$ per group. (c) A significant reduction of the body weight gain was observed in UCMS-exposed mice. SSR125543 treatment (20 mg/kg/day, ip) was able to reverse this effect in both non-irradiated and irradiated mice, $n = 10$ per group. (d) UCMS provoked a deterioration of the coat which was improved by SSR125543 in both non-irradiated and irradiated mice, $n = 10$ per group. #, $p < 0.05$ and ##, $p < 0.01$ UCMS-vehicle mice vs. control-vehicle mice; *, $p < 0.05$ and **, $p < 0.01$ UCMS-fluoxetine/SSR125543 mice vs. UCMS-vehicle mice. Data represent mean $\pm$ sem.

SUPPLEMENTARY FIGURE S3



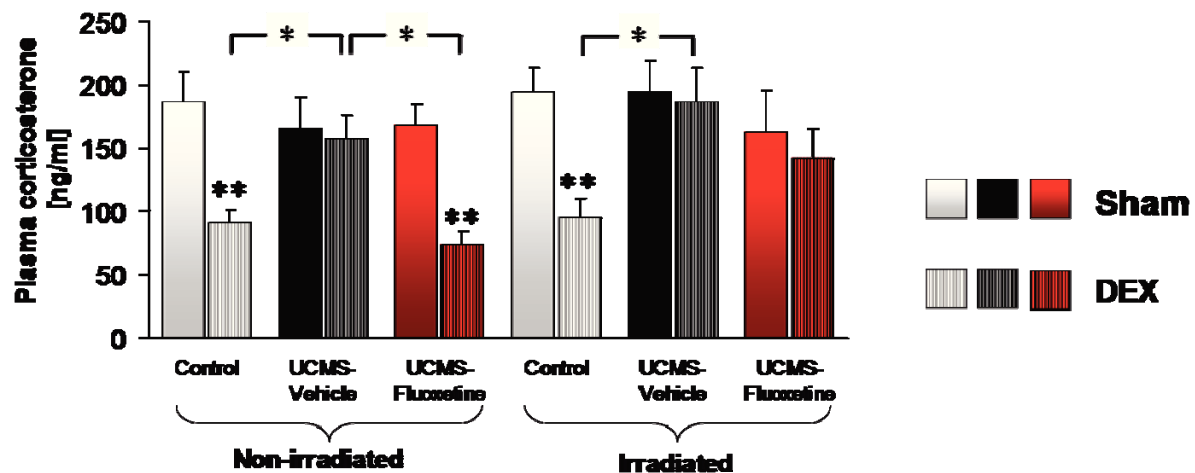
Supplementary figure S3. UCMS and fluoxetine affect the number of Fos+ cells in different brain areas regulating the HPA axis after intrahippocampal dexamethasone (DEX) infusion. For the experimental design see figure 3b. Detailed results of the changes induced by intrahippocampal DEX infusion on the number of Fos+ cells in medial preoptic area (mPOA), ventrolateralpreoptic areas (vlPOA), anteromedial bed nucleus of striaterminalis (amBST), posteromedial bed nucleus of striaterminalis (pmBST), lateral septum, dorsomedial hypothalamic nuclei (DMH), lateral hypothalamic nuclei (LH), anteroventral BST (avBST), arcuate nucleus and paraventricular nucleus (PVN) in control, UCMS-vehicle and UCMS-fluoxetine (20 mg/kg/day, ip) mice, n = 4 per group. *, p < 0.05 sham (veh) mice vs. DEX mice in each treatment group, or between line-connected groups. Data represent mean ± sem.

SUPPLEMENTARY FIGURE S4



Supplementary figure S4. Chronic stress induces some changes in the circadian activity of the HPA axis. The 24h baseline circadian HPA activity was determined using the level of fecal corticosterone metabolites (CORT). Fluoxetine reversed two of these changes in non-irradiated mice. (a): non-irradiated mice, $n = 9-11$ per group. (b): irradiated mice, $n = 8-10$ per group. (c) in control mice, $n = 10-11$ per group. #, $p < 0.05$ and ##, $p < 0.01$ UCMS-vehicle mice vs. control-vehicle mice; *, $p < 0.05$ UCMS-fluoxetine mice vs. UCMS-vehicle mice. Data represent mean $\pm$ sem.

SUPPLEMENTARY FIGURE S5



Supplementary figure S5. Plasma corticosterone (CORT) concentration following intrahippocampal dexamethasone (DEX) infusion is affected by chronic stress, fluoxetine and neurogenesis. For the experimental design see figure 5a. Detailed results of the plasma CORT concentration following intrahippocampal (DEX) infusion 4h before. The intrahippocampal DEX infusion caused a significant decrease of the plasmatic corticosterone (CORT) concentrations in control mice. The ability of the hippocampus to reduce CORT levels following DEX was not altered by irradiation. In contrast, the UCMS exposure abolished the hippocampus-induced CORT suppression. Fluoxetine treatment (20 mg/kg/day, ip) was able to restore the CORT suppression to a level similar to the control mice in non-irradiated mice but not in irradiated mice (n = 7-8 per group). *, $p < 0.05$ and **, $p < 0.01$ sham mice vs. DEX mice, or between line-connected groups. Data represent mean $\pm$ sem.

Article 2 - Loss of neurogenesis impairs the ability of the hippocampus to modulate downstream brain areas involved in the termination of the stress response

Arnaud Tanti, Anthony Laugeray, Melody Wu, Mathieu Nollet, Bruno Brizard, Severine Devers, Anne-Marie Leguisquet, René Hen, Catherine Belzung

En preparation

Comme nous l'avons montré dans l'**article 1** l'influence de l'hippocampe sur l'axe HPA est multi-synaptique et fait intervenir différentes structures établissant des connexions inhibitrices directes avec les neurones du PVN. L'activation neuronale dans ces structures est accrue suite à l'initiation du rétrocontrôle hippocampique par l'infusion de DEX. Cette activation, altérée chez les souris soumises au SCIM, est normalisée par la fluoxétine, suggérant que la normalisation du contrôle inhibiteur de l'hippocampe soit associée au recrutement par l'hippocampe et de ces différentes structures. Dans la mesure où les nouveaux neurones semblent contribuer au rétablissement d'un contrôle inhibiteur hippocampique fonctionnel, nous avons donc cherché à déterminer si les nouveaux neurones pourraient contribuer à moduler l'activité dans ces différentes structures, en nous focalisant sur la division antéromédiane du noyau du lit de la strie terminale (ambST).

Suivant le même protocole expérimental que précédemment, des souris BALB/c chez lesquelles la neurogenèse a été abolie par irradiation ont été soumises au SCIM. Après évaluation comportementale le rétrocontrôle inhibiteur de l'hippocampe sur l'axe HPA a été évalué ainsi que les effets de l'irradiation et du SCIM sur l'activité neuronale induite dans l'ambST par l'infusion intra-hippocampique de DEX.

Les résultats principaux sont :

- Similairement à l'étude précédente la suppression de la neurogenèse en soit n'affecte pas le rétrocontrôle inhibiteur hippocampique ni le fonctionnement basal de l'axe corticotrope.
- Cependant l'irradiation au même titre que le SCIM abolit l'augmentation d'expression du FOS dans l'ambST à la suite de l'infusion intra-hippocampique de DEX. Cet effet est par ailleurs amplifié en faveur d'une diminution d'expression du FOS induite par la DEX chez les souris soumises au SCIM et dont la neurogenèse a été supprimée, suggérant des effets cumulatifs de la suppression de neurogenèse avec le stress.

- Ces effets de l'irradiation sur l'activité neuronale dans l'amBST sont par ailleurs associés à un comportement anxieux et une vulnérabilité accrue aux effets comportementaux du SCIM.

Ces résultats suggèrent que même si la neurogenèse en soi n'est pas directement impliquée dans la régulation de l'axe HPA, les nouveaux neurones pourraient contribuer à maintenir une communication fonctionnelle entre l'hippocampe et différentes structures essentielles à l'inhibition de la réponse au stress et la régulation des états affectifs. La suppression de la neurogenèse, en fragilisant cette communication, pourrait vulnérabiliser l'individu aux effets du stress et précipiter l'apparition d'un phénotype dépressif-like. Par ailleurs les effets cumulatifs de l'irradiation et du stress pourraient en partie expliquer pourquoi la capacité des antidépresseurs à contrecarrer les altérations observées chez les animaux SCIM soit diminuée chez les souris dont la neurogenèse a été supprimée.

Ces résultats, qui ne semblent pas totalement en accord avec l'étude précédemment décrite, sont néanmoins incomplets et en cours d'analyse. L'étude doit être complétée avec la quantification des effets du SCIM sur la neurogenèse, la quantification du FOS dans d'autres régions intégratrices et pour lesquelles nous avons précédemment observé un effet du SCIM et de la fluoxétine, mais aussi dans le subiculum, principal voie de sortie de l'hippocampe, et le PVN. Afin d'augmenter la pertinence des comparaisons et corrélérer les données physiologiques, immunohistochimiques et comportementales entre elles il est aussi nécessaire de compléter les mesures du FOS avec plus d'effectif par groupe.

Loss of neurogenesis impairs the ability of the hippocampus to modulate downstream brain areas involved in the termination of the stress response

Arnaud Tanti^{1,2*}, Anthony Laugeray^{1,2}, Melody Wu³, Mathieu Nollet, Bruno Brizard^{1,2}, Severine Devers^{1,2}, Anne-Marie Leguisquet^{1,2}, René Hen³, Catherine Belzung^{1,2}

¹ U930, Inserm, Tours, F-37200, France.

² Université François Rabelais, Tours, F-37200, France.

³ Department of Neuroscience, Columbia University, New York, New York 10032, USA

*Corresponding author:

INSERM U 930

Université François Rabelais

Faculté des Sciences et Techniques

Parc Grandmont

F-37200 Tours

Tel.: + 33 2 47 36 70 01

e-mail: arnaud.tanti@gmail.com

ABSTRACT

Stress-related disorders are linked to impairments in hippocampal neurogenesis and newborn neurons may contribute to some extent to the therapeutic effects of antidepressants. While the mechanisms involved in such effects remain unknown, it is suggested that enhancement of neurogenesis by antidepressants may facilitate the ability of the hippocampus to initiate a proper inhibitory control over the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis. This regulatory function is however multi-synaptic and mediated by other stress integrative structures, in particular the anteromedial division of the bed nucleus of the stria terminalis (amBST), acting as relay and sending direct inhibitory projections to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. The aim of this experiment was therefore to investigate whether ablation of neurogenesis and chronic exposure to stress would lead to impaired neuronal activation within the amBST following initiation of the hippocampal inhibitory feedback, and if loss of newborn neurons was associated to behavioral impairments and changes in vulnerability to stress. We found that despite having no effect on the HPA axis activity, ablation of neurogenesis abolished the increase in fos expression within the amBST following intra-hippocampal dexamethasone infusion. This effect was associated with increased anxiety and higher vulnerability to the behavioral effects of UCMS. These results suggest that newborn neurons may contribute to maintain a proper communication between the hippocampus and stress-integrative structures involved in the regulation of the stress response and affective states. Disruption of neurogenesis may therefore lead to increased anxiety-like behavior and precipitate the onset of a depressive-like phenotype following chronic exposure to stress.

INTRODUCTION

Major depressive disorder is associated with abnormal functioning of the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis characterized by hypersecretion of glucocorticoids (Burke et al., 2005; Vreeburg et al., 2009). This hyperactivity may result in part from a dampened inhibitory feedback as demonstrated by the impaired ability of exogenous glucocorticoid receptor (GR) agonists such as dexamethasone (DEX) to suppress the levels of cortisol in depressed patients (Carroll et al., 1981; Holsboer, 2000). These dysfunctions are of particular relevance to the pathophysiology of depressive disorders as normalization of HPA axis functioning and proper GR-mediated inhibitory control of the stress response is thought to be critical for remission following antidepressant treatment in humans and animal models of depression (Pariante, 2003; Appelhof et al., 2006; Kunugi et al., 2006; Ising et al., 2007; Raone et al., 2007).

The GR-mediated inhibitory feedback is exerted at the level of the pituitary and hypothalamus but also in several limbic structures involved in the regulation of the stress response, in particular the hippocampus (Sapolsky et al., 1984; Herman et al., 1989, 2005; Feldman and Weidenfeld, 2001). The ability of the hippocampus to regulate the HPA axis has been showed to be impaired in animal models of depression (Mizoguchi et al., 2003; Surget et al., 2011) and several studies indicate morphological and functional abnormalities in the hippocampus of depressed patients and in animal models of depression (Sheline et al., 1996; MacQueen et al., 2008; Pittenger and Duman, 2008). Among these alterations decreased neurogenesis in the adult dentate gyrus has been consistently reported following exposure to stress and glucocorticoids (Gould et al., 1992; Cameron and Gould, 1994; Rodriguez et al., 1998; Alonso et al., 2004; Wong and Herbert, 2006). On the contrary chronic antidepressant treatment stimulates the production of new neurons in the hippocampus (Malberg et al., 2000) and these pro-neurogenic effects seem important for their therapeutic effects (Petrik et al., 2012). Newborn neurons become functionally integrated and seem involved in various hippocampal functions; in particular neurogenesis seems important for a proper termination of the stress response (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011). By stimulating the production of newborn neurons antidepressants might therefore act by improving the ability of the hippocampus to appropriately regulate the HPA

axis (Surget et al., 2011). If neurogenesis seems therefore important for the regulation of the stress response, the mechanisms by which this occurs are not clear.

The hippocampus-driven regulation of the stress response is multi-synaptic and involves several stress-integrative structures in which GABAergic neurons send projections toward the paraventricular nucleus of the hypothalamus (PVN) (Herman and Mueller, 2006). Most notably, the anteromedial division of the bed nucleus of the stria terminalis (amBST) has a critical role in mediating the hippocampal regulation of the HPA axis (Cullinan et al., 1993; Choi et al., 2007, 2008). Impaired hippocampal modulation of PVN-projecting neurons in the amBST could therefore result in or reflect an altered regulation of the HPA axis following chronic stress exposure or ablation of neurogenesis. Accordingly we previously showed that chronic stress reduced the neuronal activation within the amBST induced by intra-hippocampal DEX infusion (Surget et al., 2011). However no study to date investigated the effects of suppressing adult neurogenesis on this activation.

This study was therefore aimed at investigating whether ablation of neurogenesis would impair the ability of the hippocampus to regulate the HPA axis and to modulate the neuronal activation within the amBST following initiation of the hippocampus-driven inhibitory feedback by intra-hippocampal DEX infusion. Consequences of irradiation on behavioral sensitivity to stress were addressed by using the Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) model of depression.

METHODS

Animals

Male BALB/c mice aged 3 to 4 months at the start of the UCMS procedure were obtained from Taconic (Germantown, NY, USA). All animals were group-housed (4–5 per cage) and kept under standard conditions (12/12 h light–dark cycle –lights on at 9:00/off at 21:00–, 22 ± 1 °C, food and water ad libitum) in standard cages (42 cm × 27 cm × 16 cm) with shelter for one week prior to the start of the experiment. Animal care and treatment were all in accordance with the European Community Council directive 86/609/EEC and the Guide and Use of Laboratory Animals established by the US National Institute of Health.

X-ray irradiation procedure

The irradiation procedure was conducted as previously described (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008, 2011) when mice were aged 8 weeks and performed in Columbia University (New York). All animals were anesthetized with ketamine/xylazine (100 mg/kg and 7 mg/kg respectively) and placed in a stereotaxic frame. A lead shield covered the entire body of the animals except for a 3.22×11mm window above the hippocampus (interaural 3.00 to 0.00) in order to abolish neurogenesis specifically in the hippocampus without affecting the other neurogenic niches, in particular the subventricular zone. Cranial irradiation was delivered with a ~1.8 Gy/min dose rate 30 cm from the skin and received a total of 5 Gy per day during 3 days over the course of one week. Sham animals did not receive x-radiation but were anesthetized and transported with irradiated mice throughout the procedure. Mice were allowed to recover for 3 weeks after the irradiation procedure and shipped to our facility for the UCMS experiment which started two weeks after their arrival. This delay has been showed to be sufficient for inflammatory effects of irradiation to fade (Meshi et al., 2006).

Experimental design

Five weeks after the irradiation procedure sham and irradiated mice were either exposed to eight weeks of UCMS or kept in standard housing. At the beginning of the eighth week mice were all

bilaterally implanted with guide cannulas targeting the hippocampus. After one week during which mice were habituated to three mock infusions all groups received bilateral intra-hippocampal infusions of either vehicle or DEX. Two hours after infusion blood was collected to assess plasma corticosterone levels, and animals were transcardially perfused and brains collected for c-fos immunohistochemistry.

UCMS

The UCMS procedure was carried out as previously described (Tanti et al., 2012) UCMS-exposed mice were isolated in smaller cages (24 cm × 11 cm × 12 cm) while control mice remained group housed in standard conditions and repeatedly submitted to a variety of socio-environmental stressors according to an unpredictable semi-random schedule for 8 weeks. Stressors included successive sawdust changes, removal of sawdust, damping the sawdust, substitution of sawdust with water (21 °C), tilting the cages by 45°, placing a mouse into a cage that has been previously occupied by another mouse and restraint stress in small tubes for 1 h.

Coat state

At the beginning of each week until the end of the procedure the fur state of the animals was assessed weekly to monitor the UCMS-induced changes in grooming behavior. This measure has been pharmacologically validated as a reliable index of depressive-like behavior and antidepressant efficacy (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008) as it is highly sensitive to stress and a major component of the rodents behavioral repertoire (Spruijt et al., 1992). Scores were given to seven body parts: head, neck, dorsal coat, ventral coat, tail, forepaws and hindpaws and summed to yield the coat state index. A score of 0 was given for a well-groomed body part and 1 if the coat was unkempt (fluffy and greasy with slight staining of the fur).

Open field

Animals were placed into a circular open field (38x30cm) under white light illumination (150 lux) for 5 minutes. Center of the arena was defined as the most inner circle with a diameter of 7 cm. Total distance traveled, the time spent and the number of entries into the center of the apparatus were

tracked and analyzed with a video camera and Ethovision XT 7.1 software (Noldus). The time spent and the number of entries into the center of the open field were used as indexes of anxiety-like behavior as rodents tend to avoid open spaces when placed in a novel environment.

Novelty-suppressed feeding test

After being food deprived for 12 hours mice were placed in the corner of a squared arena (30x30x20cm) under dim red light in which a food pellet had been placed in its center. The latency to start feeding was noted and animals returned to their home cage as soon as they started to feed or after a cut-off time of 180 seconds. Home cage consumption during 5 minutes was then measured to control for appetite. This version of the paradigm has been reliably used to assess UCMS-induced depression/anxiety-like behavior (Surget et al., 2008; Nollet et al., 2012; Tanti et al., 2012).

Intra-hippocampal DEX infusions

Seven weeks after the start of the UCMS procedure all animals were stereotactically implanted with bilateral guide cannulas (6mm long, 0.6mm outer diameter, 0.36mm inner diameter) under inhalational anesthesia with isoflurane. The following coordinates were used to target the dentate gyrus: anteroposterior = -3.08 from bregma, lateral = ± 2.3 mm, vertical = -1.4 mm (Franklin and Paxinos, 2008). During the course of the week mice were habituated with 3 mock infusions to minimize the stress induced by the infusion procedure. One week after the implantation infusion cannulas extending 1 mm below the guides (7 mm long, 0.3 mm outer diameter, 0.17 mm inner diameter) were positioned and animals received bilateral infusions of either vehicle (VEH; 0.9% NaCl / 0.2% ethanol) or the glucocorticoid receptor agonist dexamethasone (DEX; 50ng in 0.6 μ l; Sigma-Aldrich) during 1.5 min. The dose of DEX was chosen based on its efficacy in suppressing corticosterone levels following intra-hippocampal administration (Surget et al., 2011). Infusion cannulas remained in the guides for 2 minutes to allow for proper diffusion and animals were returned to their home cage. Preliminary infusions with methylene blue were performed to verify that using this procedure the volume of infusion properly remained within the target structure boundaries and did not diffuse to other brain areas. Two hours after the infusion sub-mandibular blood collection was performed for the

measurement of plasma corticosterone levels and thereafter mice were immediately transcardially perfused for immunohistochemistry.

Corticosterone radioimmunoassay

Plasma corticosterone was assessed according to the manufacturer's protocol using a ¹²⁵I-labeled corticosterone double-antibody radioimmunoassay kit (MP Biomedicals). Within each group corticosterone levels were compared between DEX and VEH-infused animals to assess the ability of intra-hippocampal DEX to suppress corticosterone levels. Between groups comparisons were performed on the percentages of DEX-induced suppression, obtained for each DEX-infused animal by calculating his percentage of suppression compared to the mean corticosterone levels of the corresponding VEH-infused animals.

Immunohistochemistry and cell counting

Two hours after the intra-hippocampal infusion mice were transcardially perfused following deep anesthesia (Sodium pentobarbital, 40 mg/kg) with heparinized saline (0.9% sodium chloride, 1000 UI heparin) for 2 min followed by 4% paraformaldehyde (PFA)/0.1 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) for 5 min. Brains were collected and post-fixed 2 h in 4%PFA/0.1 M PBS at 4 °C, and then cryoprotected in 20% sucrose/0.1 PBS at 4 °C. Serial coronal sections (40 µm) were cut with a cryostat (Leica CM 3050S) and every fourth section collected and stored in PBS at 4 °C. Immunohistochemistry for the immediate early gene product Fos was performed in free floating sections as follows: sections were treated in 3% H₂O₂/50% ethanol for 20 min, rinsed in PBS and incubated with a rabbit anti-Fos antibody (Calbiochem, 1:5000) in blocking solution (0.1M PBS/0.2% Triton/3% horse serum) for 36 hours at room temperature. Following successive rinses in PBS sections were then incubated 2 hours with a biotinylated donkey anti-rabbit antibody (Jackson Immunoresearch, 1:500) at room temperature. The staining was amplified with an avidin-biotin complex (Elite ABC kit, Vector Laboratories) and visualized with DAB (Sigma-Aldrich).

Cell counting for fos⁺ cells was performed using a light microscope (Imager Z2, Zeiss) under x10 and x20 magnification. Coordinates used to define the boundaries of the amBST (+0.62 mm to +0.02 mm

from bregma) were chosen according to Franklin and Paxinos's mouse brain atlas (Franklin and Paxinos, 2008) and fos⁺ cells were counted bilaterally in three consecutive equivalent sections for every animal.

Immunofluorescent labeling for doublecortin was performed to verify that irradiation effectively suppressed neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus (Figure 1). Sections were incubated overnight with a goat anti-doublecortin (Santa Cruz, 1:500) and a rabbit anti-Prox-1 (Abcam, 1:1500) antibody in PBH at room temperature, rinsed in PBS, incubated with secondary Alexa-488 donkey anti-goat and Alexa-555 donkey anti-rabbit antibodies (Invitrogen, 1:500), rinsed, mounted on gelatin coated slides and coverslipped under Vectashield mounting medium (Vector Laboratories).

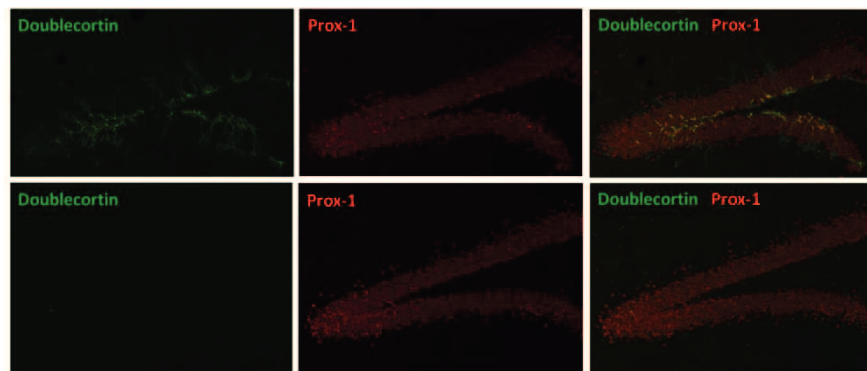


Figure 1. Representative photograph of the doublecortin and prox-1 double labeling. Irradiation (lower lane) efficiently suppressed neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus.

Statistics

Given that the assumptions for parametric analyses were not ensured (normality and homoscedasticity) non-parametric statistical tests were performed. Coat state degradation within each group was assessed by Friedman's repeated measures ANOVA by ranks followed by Wilcoxon's signed rank test for two-by-two comparisons. Between groups effects were assessed by the Kruskal-Wallis one-way ANOVA by ranks followed by the Mann-Whitney U test for two-by-two comparisons. Significance threshold was set at $p < 0.05$. All data are expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM).

RESULTS

Disruption of hippocampal neurogenesis increases the sensitivity to UCMS and increases anxiety-like behavior

Coat state

The UCMS procedure induced a significant deterioration of the coat state (Figure 3A; Friedman test: $p < 0.001$ for both sham and irradiated mice). Kruskal–Wallis H-test for each week revealed differences between groups starting from week 1 until the end of the procedure ($p < 0.001$ for weeks 1-7). UCMS-induced deterioration of the coat state reached significance 3 weeks after the start of the procedure for Sham-UCMS mice and until the end of the experiment (week 3: $p < .05$, week 4-7, $p < .001$, Sham-UCMS versus sham-Control, Figure 3A). Irradiation had no effect in control mice ($p > .05$ for all weeks; Sham-Control versus X-Control) but precipitated and increased the effects of UCMS. The onset of coat state deterioration was earlier in irradiated mice and started one week after the start of the UCMS until the end of the procedure (weeks 1 and 2: $p < .01$; weeks 4-7: $p < .001$; X-UCMS versus X-Control, Figure 3A). Additionally UCMS-induced deterioration of the coat state was more pronounced in irradiated mice (week 2: $p < .01$; week 7: $p < .05$; X-UCMS versus Sham-UCMS).

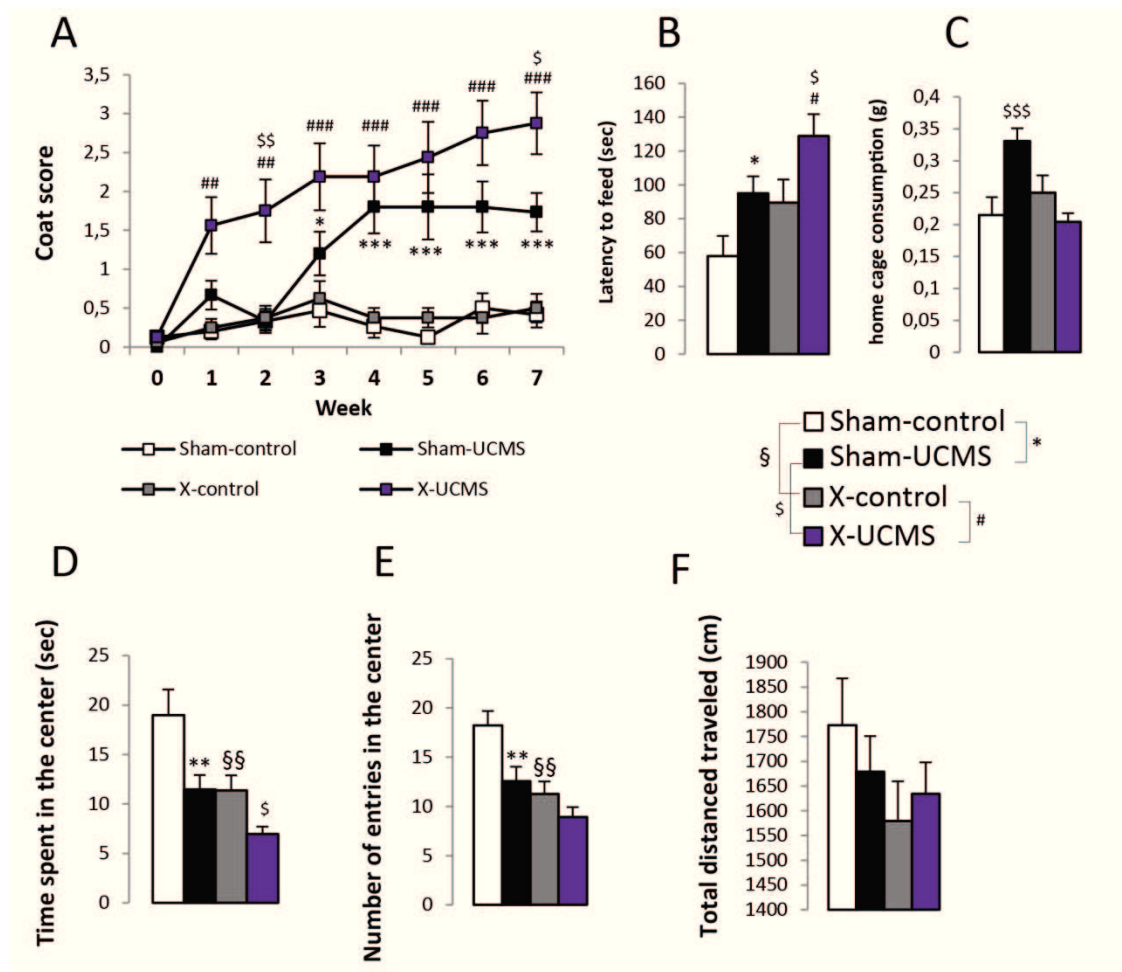


Figure 2. Behavioral effects of UCMS and irradiation. (A) UCMS induced a significant deterioration of the coat state starting from week 3 until the end of the procedure. While ablation of neurogenesis by irradiation had no effect in control mice it precipitated the onset of the UCMS effects which started one week after the start of the procedure and were increased by the end of the procedure. (B) UCMS increased the latency to feed in the NSF test which was associated with an increase in home food consumption compared to X-UCMS mice (C). Irradiation in itself had no effect in control animals but increased the effects of UCMS on the latency to feed. (D-F) Both UCMS and irradiation increased anxiety-like behavior in the open field as assessed by decreased time spent and number of entries in the center of the open field (D and E). Ablation of neurogenesis further increased the effects of UCMS in the time spent in the center (D). These changes were not associated to changes in locomotor activity as no difference was found in the total distance traveled within the apparatus (F). Data represent mean $\pm$ SEM, $n=14-16$ per group. Kruskal Wallis followed by Mann Whitney U test: *: $p<.05$, **: $p<.01$, ***: $p<.001$ for Sham-control versus Sham-UCMS; #: $p<.05$, ##: $p<.01$, ###: $p<.001$ for X-control versus X-UCMS; §§: $p<.01$ for Sham-control versus X-control; \$: $p<.05$, \$\$: $p<.01$, \$\$\$: $p<.001$ for Sham-UCMS versus X-UCMS.

Novelty suppressed feeding test

Differences were found between groups in the latency to eat the food pellet in the NSF test (Kruskal Wallis, $p<.01$; Figure 3B). UCMS induced a decrease in the latency to eat for both sham ($p<.05$; Sham-UCMS versus Sham-Control mice; Figure 3B) and irradiated mice ($p<.05$; X-UCMS versus X-Control mice, Figure 3B). This effect was however amplified in irradiated mice ($p<.05$; Sham-UCMS

versus X-UCMS; Figure 3B). While disruption of neurogenesis in control mice was not sufficient to increase the latency to feed ($p > .05$; Sham-Control versus X-Control, Figure 3B), no difference was found between Sham-UCMS and X-Control mice, maybe indicating a slight effect of irradiation on anxiety/depressive-like behavior in the NSF.

Food consumption was also measured during the 5 min following the test to control for changes in appetite (Figure 3C). Differences between groups were found (Kruskal Wallis, $p < .01$) which were accountable solely on an increased food consumption in Sham-UCMS mice compared to X-UCMS mice ($p < .001$). Since increased appetite is likely to result in a decreased latency to feed in the NSF and we found opposite results in Sham-UCMS mice and no changes in food consumption in X-Control mice or X-UCMS mice, our results indicate that UCMS-induced changes are more likely to result from changes in anxiety/depressive like behavior rather than changes in feeding drive.

Open Field

Differences between groups were found in the time spent (KW $p < .01$; Figure 3D) and number of entries (KW $p < .01$; Figure 3E) into the center of the apparatus. UCMS exposure in control mice decreased both the time spent ($p < .01$; Sham-UCMS versus Sham-Control; Figure 3D) and the number of entries ($p < .01$; Sham-UCMS versus Sham-Control, Figure 3E) into the center of the open field. No effect of UCMS was found in irradiated mice ($p > .05$; X-UCMS versus X-Control mice; Figure 3D and Figure 3E) however disruption of neurogenesis decreased both the time spent and number of entries into the center ($p < .01$; Sham-Control versus X-Control mice; Figure 3D and 3E), and further decreased the time spent in the center in UCMS mice ($p < .05$; X-UCMS versus Sham-UCMS; Figure 3D) indicating that ablation of neurogenesis per se increases anxiety-like behavior and amplifies the effects of UCMS in the open field.

These effects were not accountable on changes in locomotion as no difference between groups were found in the total distance traveled within the apparatus (KW: $p > .05$; Figure 3F).

Disruption of neurogenesis impairs neuronal activation in the amBST following DEX-induced hippocampal inhibitory feedback over the HPA axis

The hippocampus-driven regulation of the stress response is multisynaptic and involves downstream brain areas sending GABAergic projections toward the PVN, in particular the amBST. We therefore tested whether UCMS and loss of neurogenesis would impair the ability of the hippocampus to modulate neuronal activation in the amBST following initiation of the hippocampus-driven negative feedback by directly infusing DEX into the hippocampus.

Intra-hippocampal DEX infusion significantly decreased basal corticosterone levels in non-irradiated control mice ($p < .05$; DEX versus VEH in Sham-Control mice, Figure 2A). This was associated with an increase in the number of fos⁺ cells in the amBST two hours following infusion ($p < .05$; DEX versus VEH in Sham-Control mice Figure 2C).

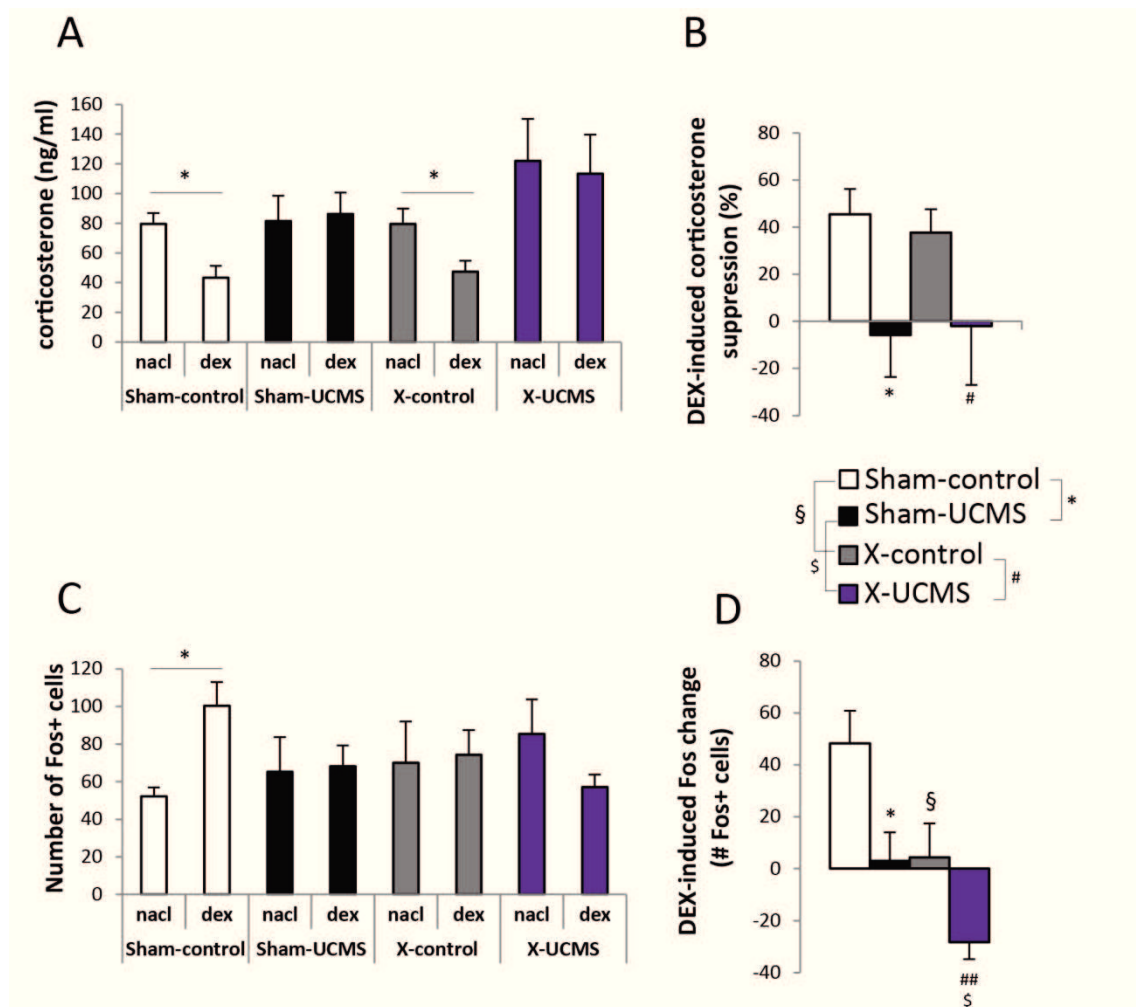


Figure 3. DEX-induced changes in blood corticosterone levels and the number of Fos+ cells in the amBST. (A and B) Intra-hippocampal DEX infusion efficiently suppressed corticosterone levels in both sham and irradiated control mice. This effect was abolished by UCMS in both sham and irradiated mice (n=8-10 per group). **(C and D)** Intra-hippocampal DEX infusion increased the number of Fos+ cells in the amBST of sham-control mice. This effect was abolished by both UCMS and irradiation; however irradiation amplified the effects of UCMS **(D)** and induced a shift toward a diminution of Fos+ cells following DEX infusion (n= 4 per group). Data represent mean $\pm$ SEM. Kruskal Wallis followed by Mann Whitney U test: *: p<.05 for Sham-control versus Sham-UCMS or as indicated; #: p<.05, ##: p<.01 for X-control versus X-UCMS; §: p<.05 for Sham-control versus X-control; \$: p<.05 for Sham-UCMS versus X-UCMS.

Both these effects were abolished by UCMS as no difference in corticosterone levels and the number of fos+ cells ($p > .05$; DEX versus VEH in Sham-UCMS mice, Figure 2A and Figure 2C) was found following intra-hippocampal DEX infusion, thus confirming that initiation of the hippocampus-driven negative feedback involves activation of amBST neurons and is impaired by UCMS ($p < .05$; Sham-Control versus Sham-UCMS, Figure 2B and Figure 2D). UCMS however specifically affected the DEX-induced hippocampus-driven inhibitory feedback as no difference between sham-UCMS and

sham-control mice in the basal corticosterone levels following VEH infusion, indicating normal basal HPA functioning (Figure 2A).

No effect of irradiation was found on basal corticosterone levels (Figure 2A). Disruption of neurogenesis by irradiation in itself had no effect on the hippocampus-driven inhibition of the HPA axis as intra-hippocampal DEX infusion efficiently suppressed corticosterone levels in irradiated-Control mice (Figure 2A) and there was no difference in the percentage of DEX-induced suppression of corticosterone levels between sham-control and X-control mice (Figure 2B). However no significant increase was found in the number of fos⁺ cells within the amBST following intra-hippocampal DEX infusion (Figure 2C and 2D) in irradiated mice, indicating an impaired functional connectivity between the hippocampus and the amBST despite a functional hippocampus-driven inhibitory feedback. Additionally irradiation amplified the effects of UCMS as the DEX-induced changes in Fos⁺ cells in X-UCMS mice were significantly different from all other groups (Figure 2D), indicating that the effects of irradiation and UCMS on DEX-induced neuronal activation in the amBST may be cumulative.

DISCUSSION

Our results indicate that ablation of hippocampal neurogenesis severely impairs the ability of the hippocampus to modulate the neuronal activation within the amBST following initiation of the hippocampus-driven inhibitory feedback. While this does not result in blunted hippocampus-driven inhibitory control of the HPA axis, this effect was associated with an increased vulnerability to the behavioral effects of UCMS and increased anxiety-like behavior.

Disruption of neurogenesis impairs the DEX-induced hippocampal modulation of amBST neuronal activity

In our experiment mice lacking neurogenesis had similar DEX-induced suppression of corticosterone levels compared to controls, suggesting that newborn neurons in unchallenged condition do not contribute to the hippocampal regulation of the HPA axis. While this is coherent with our previous report showing no effect of irradiation on both basal and DEX-induced corticosterone levels (Surget et al., 2011) our results contrast with two studies showing higher acute stress-induced elevation of corticosterone levels in mice lacking neurogenesis (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011) and less efficient systemic DEX-induced suppression of corticosterone levels following acute stress (Snyder et al., 2011). Together these reports point toward a role of newborn neurons in the regulation of the stress response. It is however noteworthy that these two studies do not address the specific implication of the hippocampus. To bypass the influence of other regulatory structures we directly infused DEX into the hippocampus, therefore investigating a direct link between neurogenesis and hippocampal regulation of the HPA axis. It is also possible that the contribution of newborn neurons to the regulation of the HPA axis may be different during an acute stress situation and in control condition, thus explaining why we do not observe similar effects.

On the contrary we found that UCMS exposure completely abolished the hippocampus-driven inhibitory feedback, similarly to what has already been reported (Mizoguchi et al., 2003; Surget et al., 2011). Considering that this paradigm is known to decrease the production of new hippocampal neurons (Nollet et al., 2012; Tanti et al., 2012) and that no effect of irradiation was found on the DEX-

induced inhibitory feedback it seems therefore that the effects of UCMS on the hippocampal regulation of the stress axis is not likely to be mediated by decreased levels of neurogenesis.

Whereas neurogenesis in basal condition may not be involved in inhibition of the stress response, we previously showed that newborn neurons might however be involved in the ability of antidepressants to normalize the UCMS-induced dampening of the hippocampus-driven negative feedback (Surget et al., 2011). Newborn neurons start expressing GRs at an early age (Garcia et al., 2004) and these receptors seem functional as few studies show that manipulation of GRs in newborn neurons or neural precursors can affect their proliferation, differentiation and maturation (Anacker et al., 2011; Fitzsimons et al., 2012). It is therefore possible that newborn neurons contribute directly to the GR-mediated hippocampal feedback inhibition over the HPA axis. However it is not known if their contribution is quantitatively and qualitatively different from the functional contribution of mature granule cells. The relative low number of newborn neurons compared to the mature neuronal population in the dentate gyrus may rather suggest a limited direct participation to the DEX-induced regulation of the HPA axis. Accordingly in control animals the proportion of newborn cells responding to a systemic DEX injection is extremely low. Rather, newborn neurons may act indirectly by affecting intra-hippocampal network properties and modulating the activity of mature granule cells (Airan et al., 2007; Lacefield et al., 2012). These changes could in turn affect the output activity of the hippocampus and its influence on other stress-integrative brain structures.

We therefore looked at the neuronal activity within the amBST, one of the few structures sending direct projections to PVN neurons and mediating the hippocampus inhibitory drive over the HPA axis (Cullinan et al., 1993; Choi et al., 2007, 2008). We found that whereas in Sham-Control mice intra-hippocampal DEX infusion induced an important increase in the number of Fos⁺ cells in the amBST, UCMS completely abolished this effect. This confirms that a functional hippocampus-driven feedback inhibition is associated with an important activation of amBST neurons which is blunted following chronic stress exposure. Interestingly, despite having no effect on the DEX-induced suppression of corticosterone levels, suppression of neurogenesis abolished the DEX-induced increase in neuronal activation in the amBST, suggesting that newborn neurons contribute to the hippocampal excitatory

drive onto amBST PVN-projecting neurons. The fact that this effect occurs without changes to the hippocampus inhibitory feedback could indicate that other structures acting as relays and mediating the inhibitory influence of the hippocampus may be compensating for the loss of functional connectivity between the hippocampus and the amBST following irradiation. However if changes in the intrinsic ability of the hippocampus to respond to glucocorticoids occur following loss of neurogenesis it is likely that they affect multiple structures serving as relays for the hippocampal regulation of the stress response. Rather, changes in the communication between the hippocampus and PVN-projecting structures may only weaken the regulatory action of the hippocampus, which in a control situation may not be sufficient to impair the DEX-induced inhibitory feedback but in challenged animals further alter the hippocampal regulation of the HPA axis. While only speculative this hypothesis is supported by the fact that loss of neurogenesis further amplified the differences in DEX-induced changes in the number of Fos⁺ cell in the amBST of UCMS-exposed mice. These cumulative effects of irradiation and UCMS on the functional connectivity between the hippocampus and the amBST may moreover potentially explain why antidepressants fail to reverse the UCMS-induced dampening of the hippocampal inhibitory feedback in mice lacking neurogenesis (Surget et al., 2011). This absence of effect could indeed be linked to the inability in restoring a proper functional connectivity between the hippocampus and amBST PVN-projecting neurons. This however remains to be tested by assessing DEX-induced changes in Fos⁺ cells following antidepressant treatment and UCMS in mice with ablated neurogenesis.

Abnormal HPA functioning and blunted inhibitory feedback has been linked to increased vulnerability to stress and depression (Holsboer et al., 1995; Derijk and de Kloet, 2008). Changes in the ability of the hippocampus to regulate the HPA axis may therefore precipitate and amplify the effects of stress in animal models of depression. Accordingly we found that irradiation precipitated the onset of UCMS-induced coat state degradation but had no effects in control animals, in accordance with our view that changes in hippocampal connectivity with other stress-modulating structures may vulnerabilize to the effects of stress but are not sufficient to induce a depressive-like phenotype. The effects of UCMS were even exacerbated in mice lacking neurogenesis as the coat state degradation, decrease in latency

to feed in the NSF and decrease in time spent in the center of the open field following UCMS were more important in irradiated mice compared to Sham-UCMS animals. While the absence of effects of irradiation in control mice on the coat state (Surget et al., 2008, 2011) and in the NSF (Santarelli et al., 2003; Meshi et al., 2006; Surget et al., 2008; Wang et al., 2008) is coherent with previous studies, only few report that hippocampal newborn neurons may potentialize the behavioral effects of UCMS or other models of depression. It was previously reported that partial decrease of olfactory and hippocampal neurogenesis by systemic administration of the anti-mitotic agent MAM amplified the detrimental effects of chronic stress exposure in the NSF (Bessa et al., 2009). More recently Snyder et al. (2011) shown that unspecific ablation of neurogenesis in hGFAP^{tk} mice increased the latency to feed following an acute. While this study gives little indication as to the precise involvement of hippocampal neurogenesis in the onset of the behavioral and physiological consequences of chronic exposure to stress, which might be more realistic to approach the implication of neurogenesis in the pathophysiology of mood disorders, it may suggest a higher susceptibility to anxiogenic and stressful situations in mice lacking neurogenesis. Interestingly we found that whereas no effect of irradiation in control mice was found in the NSF, ablation of neurogenesis in itself was sufficient to increase anxiety-like behavior in the open field to the same extent as the UCMS procedure. These differential effects of irradiation may potentially be linked to the less aversive nature of the modified NSF version used in our study (red light, smaller apparatus), which may appropriately detect UCMS-induced changes but fail to reveal subtle changes in behavior induced by irradiation.

While our results therefore indicate that loss of neurogenesis can both precipitate and amplify the depressive and anxiety-like phenotype induced by UCMS and even increase anxiety in control animals, this is contrasted by previous studies, including from our group, which failed to see any potentiating effect of irradiation in the coat state, NSF and the open field following chronic stress paradigms and chronic corticosterone administration (Surget et al., 2008, 2011; David et al., 2009; Zhu et al., 2010). Similarly, whereas there are reports of increased anxiety-like behavior in unchallenged mice lacking neurogenesis in specific paradigms (Bessa et al., 2009; Revest et al., 2009; Fuss et al., 2010), a previous study report no change in anxiety levels in the open field following

ablation of neurogenesis (Fuss et al., 2010). Methodological considerations may however potentially explain this last result as Fuss et al. (2010) used a low anxiogenic open field situation (50 lux), which may have blurred the potential effects of irradiation on anxiety-like behavior.

While additional studies may be required to draw clearer conclusions, the lack of intra-hippocampal DEX-induced activation of amBST neurons in mice lacking neurogenesis in our experiment may potentially help to further understand the participation of neurogenesis in regulating affective states. Indeed it is noteworthy that besides its regulatory influence on the HPA axis the BST is importantly linked to emotional states and particularly anxiety (Walker et al., 2009). Neuroplasticity changes have been reported in the BST following chronic exposure to stress (Vyas et al., 2003; Pêgo et al., 2008) and these changes seem correlated to an increase in anxiety-like behavior (Pêgo et al., 2008). Additionally direct manipulations of the BST have been associated to changes in anxiety levels (Cecchi et al., 2002; Sahuque et al., 2006; Waddell et al., 2006). The behavioral effects induced by irradiation in our experiment could therefore be linked to the impaired amBST neuronal activity in mice lacking neurogenesis following hippocampal excitatory drive. Alternatively the absence of DEX-induced increase in Fos expression may also possibly result from upstream changes in hippocampal sensibility to DEX, although how newborn neurons could influence the sensibility of the hippocampus to glucocorticoids is not known.

In conclusion, our study indicates that despite having no direct implication in the ability of the hippocampus to inhibit the activity of HPA axis, newborn neurons may contribute to maintain a proper functional connectivity between the hippocampus and stress-integrative structures involved in the regulation of the stress response and affective states, such as the amBST. Disruption of neurogenesis may therefore lead to increased anxiety-like behavior, exacerbate the effects of stress and precipitate the onset of a depressive-like phenotype following chronic exposure to stress. These results further support the hypothesis that impairments in neurogenesis may be implicated in the pathophysiology of affective disorders and that the pro-neurogenic effects of antidepressants may be important for their therapeutic effects.

REFERENCES

- Airan, R.D., Meltzer, L.A., Roy, M., Gong, Y., Chen, H., and Deisseroth, K. (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 317, 819–823.
- Alonso, R., Griebel, G., Pavone, G., Stemmelin, J., Le Fur, G., and Soubrié, P. (2004). Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol. Psychiatry* 9, 278–286, 224.
- Anacker, C., Zunszain, P.A., Cattaneo, A., Carvalho, L.A., Garabedian, M.J., Thuret, S., Price, J., and Pariante, C.M. (2011). Antidepressants increase human hippocampal neurogenesis by activating the glucocorticoid receptor. *Mol. Psychiatry* 16, 738–750.
- Appelhof, B.C., Huyser, J., Verweij, M., Brouwer, J.P., van Dyck, R., Fliers, E., Hoogendijk, W.J.G., Tijssen, J.G.P., Wiersinga, W.M., and Schene, A.H. (2006). Glucocorticoids and relapse of major depression (dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in relation to relapse of major depression). *Biol. Psychiatry* 59, 696–701.
- Bessa, J.M., Ferreira, D., Melo, I., Marques, F., Cerqueira, J.J., Palha, J.A., Almeida, O.F.X., and Sousa, N. (2009). The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol. Psychiatry* 14, 764–773, 739.
- Burke, H.M., Davis, M.C., Otte, C., and Mohr, D.C. (2005). Depression and cortisol responses to psychological stress: a meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 30, 846–856.
- Cameron, H.A., and Gould, E. (1994). Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 61, 203–209.
- Carroll, B.J., Feinberg, M., Greden, J.F., Tarika, J., Albala, A.A., Haskett, R.F., James, N.M., Kronfol, Z., Lohr, N., Steiner, M., et al. (1981). A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. Standardization, validation, and clinical utility. *Arch. Gen. Psychiatry* 38, 15–22.
- Cecchi, M., Khoshbouei, H., Javors, M., and Morilak, D.A. (2002). Modulatory effects of norepinephrine in the lateral bed nucleus of the stria terminalis on behavioral and neuroendocrine responses to acute stress. *Neuroscience* 112, 13–21.
- Choi, D.C., Evanson, N.K., Furay, A.R., Ulrich-Lai, Y.M., Ostrander, M.M., and Herman, J.P. (2008). The anteroventral bed nucleus of the stria terminalis differentially regulates hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responses to acute and chronic stress. *Endocrinology* 149, 818–826.
- Choi, D.C., Furay, A.R., Evanson, N.K., Ostrander, M.M., Ulrich-Lai, Y.M., and Herman, J.P. (2007). Bed nucleus of the stria terminalis subregions differentially regulate hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: implications for the integration of limbic inputs. *J. Neurosci.* 27, 2025–2034.
- Cullinan, W.E., Herman, J.P., and Watson, S.J. (1993). Ventral subicular interaction with the hypothalamic paraventricular nucleus: evidence for a relay in the bed nucleus of the stria terminalis. *J. Comp. Neurol.* 332, 1–20.
- 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.

- Derijk, R.H., and de Kloet, E.R. (2008). Corticosteroid receptor polymorphisms: determinants of vulnerability and resilience. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 303–311.
- Feldman, S., and Weidenfeld, J. (2001). Electrical stimulation of the dorsal hippocampus caused a long lasting inhibition of ACTH and adrenocortical responses to photic stimuli in freely moving rats. *Brain Res.* 911, 22–26.
- Fitzsimons, C.P., van Hooijdonk, L.W.A., Schouten, M., Zalachoras, I., Brinks, V., Zheng, T., Schouten, T.G., Saaltink, D.J., Dijkmans, T., Steindler, D.A., et al. (2012). Knockdown of the glucocorticoid receptor alters functional integration of newborn neurons in the adult hippocampus and impairs fear-motivated behavior. *Mol. Psychiatry*.
- Franklin, K.B.J., and Paxinos, G. (2008). *The Mouse brain : in stereotaxic coordinates* (San Diego [etc.]: Academic Press).
- Fuss, J., Ben Abdallah, N.M.B., Hensley, F.W., Weber, K.-J., Hellweg, R., and Gass, P. (2010). Deletion of running-induced hippocampal neurogenesis by irradiation prevents development of an anxious phenotype in mice. *PLoS ONE* 5,.
- Garcia, A., Steiner, B., Kronenberg, G., Bick-Sander, A., and Kempermann, G. (2004). Age-dependent expression of glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors on neural precursor cell populations in the adult murine hippocampus. *Aging Cell* 3, 363–371.
- Gould, E., Daniels, D.C., Cameron, H.A., and McEwen, B.S. (1992). Expression of adrenal steroid receptors by newly born cells and pyknotic cells in the dentate gyrus of the postnatal rat. *Mol. Cell. Neurosci.* 3, 44–48.
- Herman, J.P., and Mueller, N.K. (2006). Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behav. Brain Res.* 174, 215–224.
- Herman, J.P., Ostrander, M.M., Mueller, N.K., and Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 1201–1213.
- Herman, J.P., Patel, P.D., Akil, H., and Watson, S.J. (1989). Localization and regulation of glucocorticoid and mineralocorticoid receptor messenger RNAs in the hippocampal formation of the rat. *Mol. Endocrinol.* 3, 1886–1894.
- Holsboer, F. (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 23, 477–501.
- Holsboer, F., Lauer, C.J., Schreiber, W., and Krieg, J.C. (1995). Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation in healthy subjects at high familial risk for affective disorders. *Neuroendocrinology* 62, 340–347.
- Ising, M., Horstmann, S., Kloiber, S., Lucae, S., Binder, E.B., Kern, N., Künzel, H.E., Pfennig, A., Uhr, M., and Holsboer, F. (2007). Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression - a potential biomarker? *Biol. Psychiatry* 62, 47–54.
- Kunugi, H., Ida, I., Owashi, T., Kimura, M., Inoue, Y., Nakagawa, S., Yabana, T., Urushibara, T., Kanai, R., Aihara, M., et al. (2006). Assessment of the dexamethasone/CRH test as a state-dependent marker for hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis abnormalities in major depressive episode: a Multicenter Study. *Neuropsychopharmacology* 31, 212–220.
- Lacefield, C.O., Itskov, V., Reardon, T., Hen, R., and Gordon, J.A. (2012). Effects of adult-generated granule cells on coordinated network activity in the dentate gyrus. *Hippocampus* 22, 106–116.

- MacQueen, G.M., Yucel, K., Taylor, V.H., Macdonald, K., and Joffe, R. (2008). Posterior hippocampal volumes are associated with remission rates in patients with major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 64, 880–883.
- 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.
- Meshi, D., Drew, M.R., Saxe, M., Ansorge, M.S., David, D., Santarelli, L., Malapani, C., Moore, H., and Hen, R. (2006). Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat. Neurosci.* 9, 729–731.
- Mizoguchi, K., Ishige, A., Aburada, M., and Tabira, T. (2003). Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* 119, 887–897.
- Nollet, M., Gaillard, P., Tanti, A., Girault, V., Belzung, C., and Leman, S. (2012). Neurogenesis-independent antidepressant-like effects on behavior and stress axis response of a dual orexin receptor antagonist in a rodent model of depression. *Neuropsychopharmacology* 37, 2210–2221.
- Pariante, C.M. (2003). Depression, stress and the adrenal axis. *J. Neuroendocrinol.* 15, 811–812.
- Pêgo, J.M., Morgado, P., Pinto, L.G., Cerqueira, J.J., Almeida, O.F.X., and Sousa, N. (2008). Dissociation of the morphological correlates of stress-induced anxiety and fear. *Eur. J. Neurosci.* 27, 1503–1516.
- Petrik, D., Lagace, D.C., and Eisch, A.J. (2012). The neurogenesis hypothesis of affective and anxiety disorders: are we mistaking the scaffolding for the building? *Neuropharmacology* 62, 21–34.
- Pittenger, C., and Duman, R.S. (2008). Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33, 88–109.
- Raone, A., Cassanelli, A., Scheggi, S., Rauggi, R., Danielli, B., and De Montis, M.G. (2007). Hypothalamus-pituitary-adrenal modifications consequent to chronic stress exposure in an experimental model of depression in rats. *Neuroscience* 146, 1734–1742.
- Revest, J.-M., Dupret, D., Koehl, M., Funk-Reiter, C., Grosjean, N., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol. Psychiatry* 14, 959–967.
- Rodriguez, J.J., Montaron, M.F., Petry, K.G., Aurousseau, C., Marinelli, M., Premier, S., Rougon, G., Le Moal, M., and Abrous, D.N. (1998). Complex regulation of the expression of the polysialylated form of the neuronal cell adhesion molecule by glucocorticoids in the rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 10, 2994–3006.
- Sahuque, L.L., Kullberg, E.F., Mcgeehan, A.J., Kinder, J.R., Hicks, M.P., Blanton, M.G., Janak, P.H., and Olive, M.F. (2006). Anxiogenic and aversive effects of corticotropin-releasing factor (CRF) in the bed nucleus of the stria terminalis in the rat: role of CRF receptor subtypes. *Psychopharmacology (Berl.)* 186, 122–132.
- 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.
- Sapolsky, R.M., Krey, L.C., and McEwen, B.S. (1984). Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 6174–6177.

- Schloesser, R.J., Manji, H.K., and Martinowich, K. (2009). Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport* 20, 553–557.
- 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.
- 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.
- Spruijt, B.M., van Hooff, J.A., and Gispen, W.H. (1992). Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol. Rev.* 72, 825–852.
- 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.
- Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E.D., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., Palme, R., Griebel, G., Ibarguen-Vargas, Y., Hen, R., et al. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Mol. Psychiatry* 16, 1177–1188.
- 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.
- Vreeburg, S.A., Hoogendijk, W.J.G., van Pelt, J., Derijk, R.H., Verhagen, J.C.M., van Dyck, R., Smit, J.H., Zitman, F.G., and Penninx, B.W.J.H. (2009). Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study. *Arch. Gen. Psychiatry* 66, 617–626.
- Vyas, A., Bernal, S., and Chattarji, S. (2003). Effects of chronic stress on dendritic arborization in the central and extended amygdala. *Brain Res.* 965, 290–294.
- Waddell, J., Morris, R.W., and Bouton, M.E. (2006). Effects of bed nucleus of the stria terminalis lesions on conditioned anxiety: aversive conditioning with long-duration conditional stimuli and reinstatement of extinguished fear. *Behav. Neurosci.* 120, 324–336.
- Walker, D.L., Miles, L.A., and Davis, M. (2009). Selective participation of the bed nucleus of the stria terminalis and CRF in sustained anxiety-like versus phasic fear-like responses. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 33, 1291–1308.
- 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.
- 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.
- Zhu, X.-H., Yan, H.-C., Zhang, J., Qu, H.-D., Qiu, X.-S., Chen, L., Li, S.-J., Cao, X., Bean, J.C., Chen, L.-H., et al. (2010). Intermittent hypoxia promotes hippocampal neurogenesis and produces antidepressant-like effects in adult rats. *J. Neurosci.* 30, 12653–12663.

2. Régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal l'hippocampe

Article 3 - Differential environmental regulation of neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus

Arnaud Tanti, Quentin Rainer, Frederic Minier, Alexandre Surget, Catherine Belzung

Neuropharmacology. (2012) 63:374-84

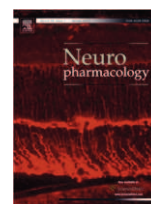
Les nouveaux neurones pourraient contribuer à différentes fonctions hippocampiques, entre autre la régulation de l'axe HPA, et ainsi être impliqués dans la pathophysiologie de la dépression et dans les mécanismes d'actions des antidépresseurs. Cependant les différentes fonctions de l'hippocampe étant sous tendues par différentes régions le long de son axe septo-temporal, nous avons voulu tester si les changements de neurogenèse induits par le stress et les antidépresseurs étaient observés uniformément le long de cet axe.

Dans une première expérience nous avons donc exposé des souris BALB/c au SCIM, traités ou non avec la fluoxétine. Les changements induits par le stress ainsi que la capacité de la fluoxétine à contrecarrer ces effets sur la prolifération cellulaire et le nombre de nouveaux neurones hippocampiques ont été quantifiés par marquage immunohistochimique au BrdU en séparant les parties dorsale et ventrale de l'hippocampe. Parallèlement, afin d'étudier les effets pro-neurogéniques d'un autre facteur environnemental connu pour exercer des effets antidépresseurs potentiellement dépendants de la neurogenèse, nous avons exposé des souris à un paradigme d'enrichissement du milieu d'hébergement.

Les résultats montrent que le SCIM diminue la prolifération cellulaire et le nombre de nouveaux neurones préférentiellement dans l'hippocampe ventral, et que ces effets sont contrecarrés par la fluoxétine qui n'a pas d'effet dans l'hippocampe dorsal. L'environnement enrichi en revanche stimule de façon importante la prolifération cellulaire à la fois dans l'hippocampe dorsal et l'hippocampe ventral, mais n'affecte le nombre de nouveaux neurones que dans l'hippocampe dorsal.

En accord avec son rôle privilégié dans la régulation du stress et dans les comportements émotionnels, ces résultats indiquent que la neurogenèse est préférentiellement affectée par le stress et la fluoxétine dans l'hippocampe ventral. Cela suggère que la contribution des nouveaux neurones dans les effets de la fluoxétine pourrait faire intervenir des fonctions hippocampiques plus particulièrement dépendantes de l'hippocampe ventral. Parallèlement le fait que les effets de l'enrichissement sur la neurogenèse soient observés préférentiellement dans l'hippocampe dorsal

suggère que si la neurogenèse hippocampique est impliquée dans les effets comportementaux de la fluoxétine et de l'enrichissement, cette contribution pourrait faire intervenir indépendamment différentes composantes fonctionnelles de l'hippocampe à la fois sous tendues par l'hippocampe dorsal mais aussi par l'hippocampe ventral.



Differential environmental regulation of neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus

Arnaud Tanti^{a,b,*}, Quentin Rainer^{a,b}, Frederic Minier^{a,b}, Alexandre Surget^{a,b,c}, Catherine Belzung^{a,b}

^a U 930, Inserm, Tours F-37200, France

^b Université François Rabelais, Tours F-37200, France

^c Kavli Institute for Systems Neuroscience & Centre for the Biology of Memory, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norway

ARTICLE INFO

Article history:

Received 24 August 2011

Received in revised form

16 April 2012

Accepted 19 April 2012

Keywords:

Chronic stress

Environmental enrichment

Neurogenesis

Fluoxetine

Dorsal hippocampus

Ventral hippocampus

ABSTRACT

The hippocampus is involved in both cognitive and emotional processing; these different functions are topographically distributed along its septo-temporal axis, the dorsal (septal) hippocampus being preferentially involved in cognitive processes such as learning and memory while the ventral (temporal) hippocampus participates in emotional regulation and anxiety-related behaviors. Newborn hippocampal neurons become functionally integrated into hippocampal networks and are likely to contribute to hippocampal functions, but whether their regulation and function are homogenous throughout this axis is not clear. Here we investigate changes in cell proliferation and neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus induced by the Unpredictable Chronic Mild Stress model of depression (UCMS), chronic fluoxetine treatment and enriched environment.

Mice were either subjected to UCMS, standard housing or enriched environment. Stress-exposed mice were treated daily with fluoxetine (10 mg/kg) or vehicle. Effects of UCMS regimen, fluoxetine treatment and enrichment were assessed by physical measures and behavioral testing. Quantitative changes in cell proliferation and neurogenesis were assessed by immunohistochemistry using BrdU labeling.

Results indicate that UCMS decreased cell proliferation and neurogenesis preferentially in the ventral hippocampus, an effect that was reversed by fluoxetine treatment. Environmental enrichment on the other hand increased cell proliferation in both divisions but promoted neurogenesis only in the dorsal hippocampus. These results indicate that environmental factors can differentially regulate neurogenesis in a region-specific manner. This may possibly underlie heterogeneous function of newborn neurons along the septo-temporal axis of the hippocampus and have functional significance as to their implication in stress related disorders and memory processes.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Along its well-known role in learning and memory, the hippocampus is involved in the regulation of motivational behaviors, emotional states and stress response. The sub-areas involved in these hippocampal functions seem however topographically segregated along its septo-temporal axis. In particular, the dorsal part of the hippocampus has been described as preferentially involved in learning and memory processes whereas the ventral hippocampus has been involved in anxiety-related behaviors and emotions (Bannerman et al., 2004; Moser and Moser, 1998).

Several anatomical and physiological properties could account for these functional differences. For instance, dorsal and ventral

* Corresponding author. Université François Rabelais, Faculté des Sciences et Techniques, Parc Grandmont, F-37200 Tours, France. Tel.: +33 2 47 36 70 01.

E-mail address: arnaud.tanti@etu.univ-tours.fr (A. Tanti).

poles do not share the same afferent and efferent connectivity. In rodents, afferences related to visuo-spatial information coming from primary sensory and associative cortex are found predominantly in the dorsal hippocampus, suggesting a preferential involvement in spatial and contextual processing (Amaral and Witter, 1989; Burwell and Amaral, 1998; Dolorfo and Amaral, 1998; Insausti et al., 1997). By contrast, reciprocal connections shared by the hippocampus with structures involved in emotional regulation such as the limbic system, the prefrontal cortex, or sub-limbic structures participating in stress integration are found predominantly in its ventral pole (Barbas and Blatt, 1995; Canteras and Swanson, 1992; Petrovich et al., 2001; Pitkanen et al., 2000; Swanson and Cowan, 1977). Further, a molecular heterogeneity has been described as several genes are differentially expressed and regulated along the septo-temporal axis of the hippocampus (Leonardo et al., 2006; Thompson et al., 2008). Dorsoventral differences in neurotransmission have also been reported (Gage and Thompson, 1980) as well as differences in

GABAergic and glutamatergic cell density in the mouse hippocampus (Jinno and Kosaka, 2006, 2010).

In addition, the dorsal and the ventral hippocampus do not share the same ability to undergo plastic changes. It was indeed found that evoked Long Term Potentiation (LTP) has a lower magnitude in the ventral hippocampus CA1 than in the dorsal hippocampus (Maggio and Segal, 2007b; Maruki et al., 2001). Interestingly, whereas exposure to stress decreases LTP in the dorsal hippocampus, it increases LTP in the ventral hippocampus (Maggio and Segal, 2007a). These results indicate that intrinsic network properties and neuronal plasticity within these two regions could be differentially regulated by environmental factors such as stress exposure.

Neurogenesis occurs in the dentate gyrus of the hippocampus throughout adult life. While its function is not clearly identified, newborn neurons have been shown to integrate into existing networks and contribute to some extent to hippocampal functions (Zhao et al., 2008). The different steps leading to this functional integration are regulated by several factors, and there is evidence linking regulation of neurogenesis to affective disorders and antidepressant response. Reduced number of neural progenitor cells have been reported in depressed patients (Boldrini et al., 2009; Lucassen et al., 2010) and chronic stress, a major etiologic factor of major depressive disorder, leads to decreased cell proliferation and neurogenesis (Alonso et al., 2004; Mineur et al., 2007), whereas factors contributing to remission such as chronic antidepressant treatment, physical exercise or enriched environment all promote neurogenesis in both animal models and human (Alonso et al., 2004; Boldrini et al., 2009; Green et al., 2010; Kempermann et al., 1997; Malberg et al., 2000; Martinsen, 2008; Van Praag et al., 1999). More importantly, suppression of neurogenesis has been shown to hinder the therapeutic effects of several antidepressants in murine models of depression (Airan et al., 2007; Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008, 2011) as well as the behavioral effects of enrichment (Schloesser et al., 2010).

Given the functional differences between the dorsal and ventral hippocampus it is conceivable that newborn neurons do not share the same properties within these two regions and are not regulated uniformly along the septo-temporal axis of the hippocampus. Differential regulation of neurogenesis within the hippocampus could have functional significance. This study was therefore undertaken to investigate the regional changes in cell proliferation and neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus following exposure to a murine model of depression (the Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS)), a chronic antidepressant treatment, and environmental enrichment.

2. Materials and methods

2.1. Animals

Male BALB/cByJ mice aged 7 weeks (experiment 1; $n = 48$) or 4 weeks (experiment 2; $n = 40$) at their arrival in the laboratory were used. All mice were acquired from the Centre d'Élevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France). Animals were group-housed (4–5 per cage) and kept under standard conditions (12/12 h light–dark cycle—lights on at 9:00/off at 21:00—, $22 \pm 1^\circ\text{C}$, food and water ad libitum) in standard cages (42 cm $\times$ 27 cm $\times$ 16 cm) with a shelter and tube for one week prior to the start of the experiment. All animal care and treatment were in accordance with the European Community Council directive 86/609/EEC.

2.2. Drugs

The selective serotonin reuptake inhibitor Fluoxetine hydrochloride (Sequoia) was prepared in saline (0.9% sodium chloride). Fluoxetine (10 mg/kg/day) and vehicle (saline) were administered daily intraperitoneally (i.p.) from the third week of the UCMS procedure until the sacrifice.

The dose of fluoxetine was chosen on the basis of its behavioral efficacy in previous experiments conducted by our laboratory and others using UCMS as well as for its ability to modify several physiological parameters, including neurogenesis

(Alonso et al., 2004; Isingrini et al., 2010; Surget et al., 2008; Yalcin et al., 2008). All solutions were prepared to administer a volume of 10 ml/kg.

2.3. General procedure (Fig. 1)

Two experiments were conducted to assess the effects of UCMS and chronic fluoxetine treatment (experiment 1) as well as the effects environmental enrichment (experiment 2) on behavior and neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus.

2.3.1. Experiment 1

An eight week UCMS procedure was conducted. UCMS-exposed mice were maintained under standard laboratory conditions but were isolated in individual cages (24 cm $\times$ 11 cm $\times$ 12 cm) while non-stressed controls were kept group-housed in standard cages. Coat state of the animals was assessed weekly until the end of the experiment. The first two weeks of UCMS were drug-free and treatment began from the third week onward until the end of the experiment. The treatment started from the third week onward to increase the theoretical validity of our model by paralleling the time course of treatment administration observed in clinic. Thus treatment is administered after prior exposure to the chronic stress model to investigate its efficacy in a “pathological state” or an already challenged individual and reverse the UCMS-induced behavioural alterations rather than prevent them. Fluoxetine (10 mg/kg/day) or Vehicle (0.9% NaCl) was administered i.p. once a day. Mice were divided in three groups, Control-Vehicle, UCMS-Vehicle and UCMS-Fluoxetine ($n = 12$ –16 per group). At the end of the eight weeks animals went through a series of behavioral tests to assess the effects of UCMS and fluoxetine treatment. The Novelty Suppressed Feeding (NSF) test was carried out the first day, followed by the Splash test and the actimeter respectively the second and third day after the last coat state evaluation. To assess the effects of UCMS and fluoxetine treatment on cell proliferation and neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus mice were given 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) 24 h before sacrifice (cell proliferation) or 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) for 2 consecutive days 4 weeks before sacrifice (neurogenesis). The day after the last behavioral tests mice were transcardially perfused and brains collected for immunohistochemistry.

2.3.2. Experiment 2

During 6 weeks mice were either kept in enriched housing ($n = 20$; 5 per cage) or kept group-housed ($n = 20$; 5 per cage) in standard cages. Based on previous experiments using this protocol in our laboratory 6 weeks is the duration of enrichment that induces the most consistent effects on anxiety and in learning paradigms in BALB/c mice. To assess the effects of enrichment on spatial reference

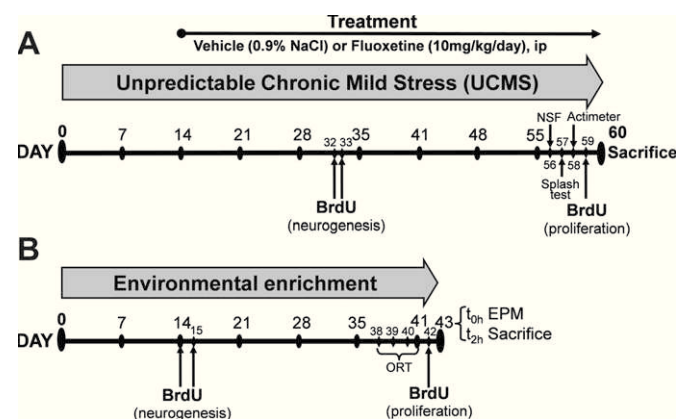


Fig. 1. Schematic representation of the experimental design. (A) Mice were either exposed to an eight week UCMS procedure or kept group-housed under standard conditions. Coat state of the animals was assessed weekly until the end of the experiment. The first two weeks of UCMS were drug-free and treatment began from the second week onward until the end of the experiment. Fluoxetine (10 mg/kg/day) or Vehicle (0.9% NaCl) was administered i.p. once a day. At the end of the procedure the Novelty Suppressed Feeding (NSF) test was carried out, followed by the Splash test and the actimeter respectively the second and third day after the last coat state evaluation. Mice were either given 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) 24 h before sacrifice (cell proliferation) or 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) for 2 consecutive days 4 weeks before sacrifice (neurogenesis). (B) During 6 weeks mice were either kept in enriched housing or kept group-housed in standard cages. The Object Recognition Test (ORT) and the Elevated Plus Maze (EPM) were conducted at the end of the six weeks procedure. Two hours after the EPM mice were transcardially perfused and brains collected for immunohistochemistry. Mice were either given 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) 24 h before sacrifice (cell proliferation) or 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) for two consecutive days 4 weeks before sacrifice (neurogenesis).

memory the Object Recognition Test (ORT) was conducted at the end of the six weeks procedure, followed the day after by the Elevated Plus Maze as an anxiety-related measure. Two hours after the Elevated Plus Maze mice were transcardially perfused and brains collected for immunohistochemistry. To assess the effects of enrichment on cell proliferation and neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus, mice were given 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) 24 h before sacrifice (cell proliferation) or 4 BrdU injections (4×75 mg/kg every 2 h) for two consecutive days 4 weeks before sacrifice (neurogenesis).

2.4. Unpredictable chronic mild stress (UCMS)

The UCMS regimen used in our study is a variant of the Chronic Mild Stress procedure developed in rats by (Willner et al., 1992) and was conducted as previously described (Surget et al., 2009). Stressed mice were exposed to various psychosocial stressors of mild intensity according to a semi-random schedule (Supplementary Table 1) for eight weeks. Stressors used consisted in successive sawdust changes, removal of sawdust, damping the sawdust, substitution of sawdust with water (21°C), tilting the cages by 45° , placing a mouse into a cage that has been previously occupied by another mouse, restraint stress in small tubes for 1 h and changes in length or time of light/dark cycle.

2.5. Coat state

The coat state of each animal was assessed weekly as a measure of UCMS-induced alterations in motivation toward self-care behavior such as grooming behavior. UCMS-exposed mice display a progressive degradation of their coat state which is amongst the most replicable index of UCMS-induced alterations and has been pharmacologically validated as a useful parameter to study the onset of antidepressant therapies (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008). It is recorded on 7 body parts of the mouse: head, neck, dorsal coat, ventral coat, tail, forepaws and hind paws. For each part a score of 0 is given if the coat is in a good state (fur is smooth and shiny, with no tousled, spiky patches), 0.5 if intermediate between the 0 and 1 (slightly “fluffy” with some spiky patches) and 1 if in a bad state (fluffy on most of the body with slight staining of the fur). Scores from each body part are then summed up to make the final coat state score of the mouse. All measures were made by experimenters blind to the treatment.

2.6. Novelty-suppressed feeding (NSF) test

The NSF test is aimed at measuring emotional reactivity toward a new environment by inducing a conflicting motivation between the drive to eat and the fear of venturing into the center of the open arena. The test was conducted as previously described (Surget et al., 2008). The testing apparatus consisted of a wooden arena ($30 \times 30 \times 20$ cm) with the floor covered by 2 cm sawdust. Testing was done under indirect red light. The animals were food-deprived 12 h before the test. At the time of testing, a single pellet of food (regular chow) was placed on a white paper in the centre of the arena. The animal was then placed in a corner of the arena with the head facing the wall. The latency to start consuming the pellet was recorded within a 3 min period. To control for feeding drive or appetite, animals were immediately returned to their home cage after the test and the amount of food consumed during the subsequent 5 min was measured (home food consumption). While this test is pre-eminently used to assess anxiety-related behaviors (Dulawa and Hen, 2005), the version used in our experiment was modified to decrease the anxiogenic properties of the apparatus by diminishing the time of food-deprivation (12 h instead of 24 h), replacing intense white light by dim red lighting, and reducing the dimensions of the arena by 40%. This version was shown to be able to specifically reveal antidepressant effects only in UCMS-exposed mice, but not in control non-stressed mice (Surget et al., 2008).

2.7. Splash test

To quantitatively measure the grooming behavior the splash test was performed as previously described (Ducottet and Belzung, 2004). A 10% sucrose solution was squirted onto the dorsal coat of the animals in their home cage and the latency to initiate a grooming behavior as well as the frequency of grooming were immediately recorded during the 5 min following the vaporisation. Grooming is an important aspect of the rodent behavior (Berridge et al., 1987; Berridge and Whishaw, 1992; Kalueff and Tuohimaa, 2004; Van Erp et al., 1995) and is highly sensitive to stress (Kametani, 1988; Sachs, 1988; Spruijt et al., 1992). Decreased grooming in this test may be related to the loss of interest in performing self-oriented minor tasks that characterizes the human pathology and can therefore be considered as isomorphic to one symptom of the depressive state.

2.8. Actimeter

Home cage activity was recorded for 2 h using a photo-electric actimeter. Group-housed control mice were isolated 24 h before the test to avoid locomotor activity induced by a novel environment. Home cages were placed in the center of the device which consisted of a 20×20 cm square plane with photobeam detectors crossing

the plane. Movements were automatically detected as the animals crossed through the detectors and a score was established.

2.9. Environmental enrichment

Enriched mice were group-housed (5 per cage) in larger cages than controls ($53 \times 38 \times 26$ cm) containing objects such as plastic tubes in which mice could climb and use to navigate through the cage, a running wheel, rodent dwellings and nesting material. Various novel objects of different shape and size were added two times a week. Food pellets were placed in a stainless steel bowl which position was changed frequently every time cages were cleaned. Mice had access to food and water ad libitum.

2.10. Object recognition test (ORT)

This test exploits the natural tendency of rodents to explore novel environments and objects. The test was conducted under dim lightning in a wooden arena ($30 \times 30 \times 20$ cm) with the floor covered by 2 cm sawdust. It consisted in 3 different phases (habituation, learning and recall). During habituation, mice were placed in the empty arena (without objects) and were allowed to explore freely for 5 min. This session was repeated once a day for 3 consecutive days. The learning phase started 24 h after the last habituation session. Two identical objects, spaced 10 cm, were placed on the north wall of the arena approximately 5 cm above the floor to prevent the mice from climbing onto the objects. Mice were then placed in the arena and explored the objects until they accumulated 15 s of exploration. Each mouse was then removed from the apparatus and immediately returned to its home cage. The recall phase took place 2 h after the learning phase. During the recall phase one object identical to the one used in the learning phase (familiar object) and a novel object were placed in the arena according to the same configuration used in the learning phase. Both objects were made of plastic and had the same size but varied in shape. The location (left or right side) of the familiar and novel object as well as the nature of the object (familiar or novel) was counterbalanced across mice and groups. Mice were allowed to explore for 3 min and the time of exploration for each object was measured. Between each mouse the arena and objects were cleaned with ethanol and the sawdust changed to avoid olfactory cues. Object exploration was scored only when the mouse's nose or front paws touched the object. Memory for the familiar object was indicated by a preference for the novel object (significantly more time spent exploring the novel object in the recall phase).

2.11. Elevated Plus Maze (EPM)

The test was conducted in a polyvinyl chloride plus maze with two open arms (27×5 cm) which were brightly illuminated (900 lux), two closed arms ($27 \times 5 \times 15$ cm) protected from the light by a black cardboard, and a center platform (5×5 cm). The maze was heightened 38.5 cm above the floor. At the time of testing, the mouse was placed on the central platform with the head facing an open arm, and was allowed to explore freely. Percent of open arm entries (number of entries into an open arm relative to the total number of entries) was then recorded during 5 min. An entry into an arm was scored when the mouse introduced its four paws inside, and the mouse was considered on the center platform if two paws were inside. Between each mouse the apparatus was cleaned with ethanol.

2.12. BrdU labeling for cell proliferation and neurogenesis

2.12.1. Cell proliferation

To assess cell proliferation in the SGZ of the dentate gyrus mice received 4 BrdU injections (Sigma–Aldrich, 4×75 mg/kg every 2 h) and were sacrificed 24 h after the last injection. After deep anesthesia (Sodium pentobarbital, 40 mg/kg), mice were transcardially perfused with heparinized saline (0.9% sodium chloride, 1000 UI heparin) for 2 min followed by 4% paraformaldehyde (PFA)/0.1 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) for 5 min. Brains were collected and post-fixed 2 h in 4%PFA/0.1 M PBS at 4°C , and then cryoprotected in 20% sucrose/0.1 M PBS at 4°C . $40\ \mu\text{m}$ thick serial coronal sections were cut with a cryostat (Leica CM 3050S) through the rostro-caudal brain and every third section was collected and stored in PBS (0.1 M, pH 7.4). Immunohistochemistry for BrdU was performed on free-floating sections as described. Briefly, sections were treated in 3% H_2O_2 /50% ethanol for 20 min, rinsed in PBS (0.1 M, pH 7.4), treated with 2 N HCL for 30 min at room temperature, rinsed in borate buffer for 5 min (0.1 M, pH 8.4), rinsed in PBS (0.1 M, pH 7.4) and incubated with a rat anti-BrdU monoclonal antibody (1:500, Oxford Biotechnology) for 40 h at room temperature. Sections were then rinsed in PBS (0.1 M pH 7.4) and incubated 2.5 h with a rabbit anti-rat biotinylated antibody (1:200, Vector Laboratories) followed by amplification with an avidin–biotin complex (Elite ABC kit, Vector Laboratories). The staining was visualized with DAB (Sigma–Aldrich). Sections were rinsed in PBS (0.1 M pH 7.4) and mounted on gelatin-coated slides, dried, dehydrated, coverslipped and were examined under a Leica DM 2000 microscope at $\times 200$ magnification. Coordinates used to dissociate the dorsal and ventral hippocampus were respectively: -1.06 to -2.06 mm relative to bregma for the dorsal hippocampus, and -3.08 to -3.80 mm for the ventral hippocampus according to Paxinos and Franklin's brain atlas (Paxinos and Franklin,

2001). For every animal BrdU positive cells in the subgranular zone, defined as the two-body wide zone along the border of the granule cell layer, were counted bilaterally in 5 consecutive sections for each region and the total number of BrdU+ cells was estimated by multiplying the number of cells counted by 3. In our study counts of BrdU positive cells were not corrected for the volume of each area as we focused on the magnitude of effects within each region without comparing dorsal and ventral poles of the hippocampus. Also, no effect of stress, treatment or enrichment was observed on the volume of the dentate gyrus in our experiment (data not shown).

2.12.2. Neurogenesis

To assess neurogenesis in the SGZ of the dentate gyrus mice received 4 BrdU injections (Sigma–Aldrich, 4×75 mg/kg every 2 h) for two consecutive days and were sacrificed 4 weeks after the last injection, which is, based on literature, a sufficient delay for new neurons to express the mature neuron marker NeuN. By delivering BrdU to animals two weeks after the start of the antidepressant treatment or enrichment procedure, changes in proliferation induced by UCMS, fluoxetine treatment and enrichment before the BrdU injection could modify the number of cells incorporating BrdU, thus the number of double-labeled BrdU/NeuN+ cells counted in the end. This is why we do not refer to differences in the number of BrdU/NeuN+ cells as changes in cell survival but rather a raw measure of neurogenesis.

Mice were transcardially perfused as described above and brains collected for immunohistochemistry. Serial coronal sections through the rostro-caudal brain were cut (40 μ m) with a cryostat (Leica CM 3050S) and every third section was collected and stored in PBS (0.1 M, pH 7.4). Double-labeling of BrdU/NeuN was then carried out in free-floating sections. Sections were treated with 2 N HCL for 30 min at room temperature, rinsed in borate buffer (0.1 M, pH 8.4), rinsed in 0.1 M PBS, blocked in 0.1 M PBS/0.2% Triton/2% Normal Goat serum for 1 h at room temperature and incubated with a rat anti-BrdU (1:500, Oxford Biotechnology) and a mouse anti-NeuN (1:1000, Chemicon) monoclonal antibodies for 24 h at room temperature. Sections were rinsed in 0.1 M PBS and incubated for 2 h at room temperature with fluorochrome-conjugated secondary antibodies, respectively Alexa-488 goat anti-mouse and Alexa 546 goat anti-rat (1:500, Invitrogen). Sections were then rinsed in 0.1 M PB and mounted on gelatin-coated slides in Vectashield mounting medium (Vector Laboratories). All BrdU+/NeuN+ double-labeled cells in the granule cell layer of the dentate gyrus were counted at $\times 400$ magnification using a confocal microscope (Olympus) and Fluoview software. Coordinates used to dissociate the dorsal and ventral hippocampus were respectively: -1.06 to -2.06 mm relative to bregma for the dorsal hippocampus, and -3.08 to -3.80 mm for the ventral

hippocampus according to Paxinos and Franklin's brain atlas (Paxinos and Franklin, 2001). For every animal BrdU+/NeuN+ cells were counted bilaterally in 5 consecutive sections for each region and the total number of BrdU+/NeuN+ cells was estimated by multiplying the number of cells counted by 3.

2.13. Statistical analysis

Because the assumptions for parametric statistics (normality and homogeneity of variances) were not ensured, Kruskal–Wallis “ANOVA by ranks” *H*-test was performed, followed by a Mann–Whitney *U* test. Friedman's ANOVA by ranks for repeated measures in dependent samples was also used to analyze the changes in coat state over the eight weeks UCMS procedure. In the object recognition test one sample *t*-tests were used to compare the percent of time spent exploring the novel object relative to chance (50%). All data are expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM).

3. Results

3.1. Experiment 1: UCMS and fluoxetine-induced changes in behavior and neurogenesis

3.1.1. UCMS-induced coat state degradation is reversed by chronic fluoxetine treatment

The UCMS procedure induced a significant deterioration of the coat state for each group (Fig. 2A; Friedman test: $p < 0.001$). Kruskal–Wallis *H*-test for each week revealed differences between groups starting from week 2 until the end of the procedure (week 1: $p > 0.05$; weeks 2–8: $p < 0.001$). Mann–Whitney comparisons showed a significant UCMS-induced coat state degradation starting from week 2 until the end of the procedure for UCMS-Vehicle mice (weeks 2–8: $p < 0.001$, compared to Control-Vehicle mice) and until week 6 for UCMS-Fluoxetine mice (weeks 2–6: $p < 0.001$, compared to Control-Vehicle mice). After 2 weeks of treatment fluoxetine was able to significantly decrease the UCMS-induced

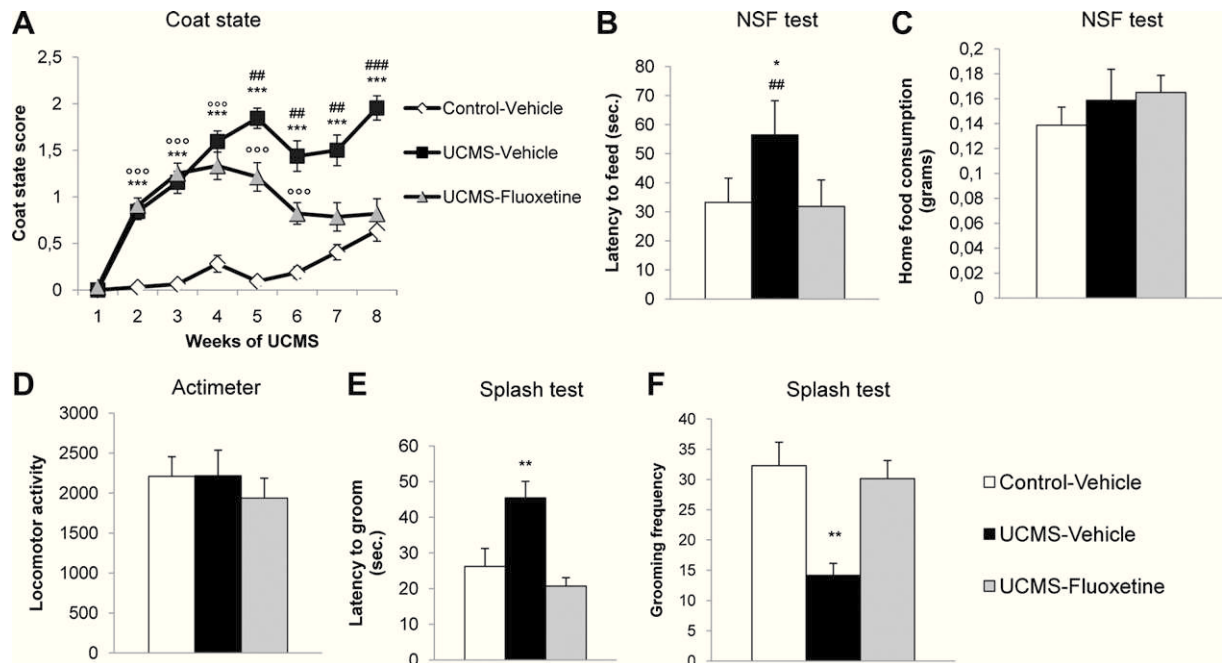


Fig. 2. Effects of unpredictable chronic mild stress (UCMS) and fluoxetine treatment on behavior. (A) UCMS induced a significant deterioration of the coat state starting from week 2 until the end of the procedure. Fluoxetine treatment was able to decrease this effect after 2 weeks of treatment and to completely reverse UCMS-induced deterioration after 4 weeks of treatment as no difference was found between Control-Vehicle and UCMS-Fluoxetine mice at week 7 and 8, $n = 15$ –16 per group. (B) UCMS significantly increased the latency to feed in the novelty-suppressed-feeding test (NSF); this effect was reversed by fluoxetine treatment, $n = 15$ –16 per group. (C) Neither UCMS nor fluoxetine treatment had an effect on home-food consumption during the 5 min following the NSF test, $n = 15$ –16 per group. (D) Neither UCMS nor fluoxetine treatment had an effect on locomotor activity in the actimeter, $n = 7$ per group. (E and F) UCMS increased the latency to groom (E) and decreased the grooming frequency (F) in the Splash test; both these effects were reversed by fluoxetine treatment, $n = 15$ –16 per group. Data represent mean $\pm$ SEM. Kruskal–Wallis followed by Mann–Whitney *U* test: *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$ for Control-Vehicle versus UCMS-Vehicle; °°° $p < 0.001$; °° $p < 0.01$; ° $p < 0.05$ for Control-Vehicle versus UCMS-Fluoxetine; ### $p < 0.001$; ## $p < 0.01$; # $p < 0.05$ for UCMS-Vehicle versus UCMS-Fluoxetine groups.

coat-state degradation (weeks 5–7: $p < 0.01$, week 8: $p < 0.001$, compared to UCMS-Vehicle mice) and after 4 weeks of treatment UCMS effects were completely reversed (weeks 7–8: $p > 0.05$, compared to Control-Vehicle).

3.1.2. UCMS-induced behavioral changes are reversed by chronic fluoxetine treatment

3.1.2.1. Novelty Suppressed Feeding test. Latency to feed in the NSF was significantly different between groups (Fig. 2B; Kruskal–Wallis: $H_{2, 46} = 7.064$, $p < 0.05$). Correspondingly, latency to feed in UCMS-Vehicle mice was significantly increased compared to Control-Vehicle mice (Mann–Whitney: $U = 75.5$, $p < 0.05$). Fluoxetine treatment was able to counteract this effect as no difference was found between UCMS-Fluoxetine mice and Control-Vehicle mice ($U = 106.5$, $p > 0.2$) and UCMS-Fluoxetine mice displayed a decreased latency to feed compared to UCMS-Vehicle mice ($U = 50.5$, $p < 0.01$). Changes in feeding drive or appetite could not account for these modifications in the latency to feed as no difference was found between groups in home food consumption during the 5 min following the test (Fig. 2C; $H_{2, 46} = 2.624$, $p > 0.2$).

3.1.2.2. Splash test. Grooming latency in the Splash Test was different between groups (Fig. 2E; Kruskal–Wallis: $H_{2, 46} = 10.032$, $p < 0.01$). UCMS increased the latency to groom in UCMS-Vehicle mice compared to Control-Vehicle mice (Mann–Whitney: $U = 41.5$, $p < 0.01$). This effect was counteracted by fluoxetine treatment as no difference was found between Control-Vehicle and UCMS-Fluoxetine mice ($U = 101.5$, $p > 0.5$) and latency to groom was significantly higher in UCMS-Vehicle compared to UCMS-Fluoxetine mice ($U = 57$, $p < 0.01$).

Differences between groups were also found in grooming frequency (Fig. 2F; $H_{2, 46} = 14.414$, $p < 0.001$). UCMS decreased the

frequency to groom in UCMS-Vehicle compared to Control-Vehicle mice ($U = 18$, $p < 0.01$). Fluoxetine treatment reversed this effect as no difference was found between Control-Vehicle and UCMS-Fluoxetine mice ($U = 70$, $p > 0.5$) and grooming frequency was significantly lower in UCMS-Vehicle compared to UCMS-Fluoxetine mice ($U = 21.5$, $p < 0.001$).

3.1.2.3. Actimeter. Neither UCMS nor Fluoxetine treatment had an effect in locomotor activity as no difference was found between groups in the actimeter (Fig. 2D $H_{2, 21} = 0.67$).

3.1.3. UCMS-induced changes in cell proliferation/neurogenesis and reversal by fluoxetine treatment are preferentially expressed in the ventral hippocampus

3.1.3.1. Cell proliferation. No effect of UCMS or fluoxetine treatment on cell proliferation (Fig. 3A) was found in the dorsal hippocampus ($H_{2, 21} = 3.026$, $p > 0.05$) however Kruskal–Wallis H -test revealed significant differences between groups in the ventral hippocampus ($H_{2, 21} = 8.642$, $p < 0.05$). Precisely, in the ventral hippocampus, UCMS regimen decreased the number of BrdU+ cells in UCMS-Vehicle mice compared to Control-Vehicle mice ($U = 1.0$, $p < 0.01$). UCMS effect was reversed by fluoxetine treatment as no difference was found between Control-Vehicle and UCMS-Fluoxetine mice ($U = 11$, $p > 0.5$) and UCMS-Vehicle mice had a significantly lower cell proliferation rate than UCMS-Fluoxetine mice ($U = 3.5$, $p < 0.05$).

3.1.3.2. Neurogenesis. No effect of UCMS or fluoxetine treatment on neurogenesis (Fig. 3C) was found in the dorsal hippocampus ($H_{2, 28} = 2.209$, $p = 0.33$), however significant differences between groups were revealed in the ventral hippocampus ($H_{2, 28} = 6.005$, $p < 0.05$). Mann–Whitney comparisons revealed a significant

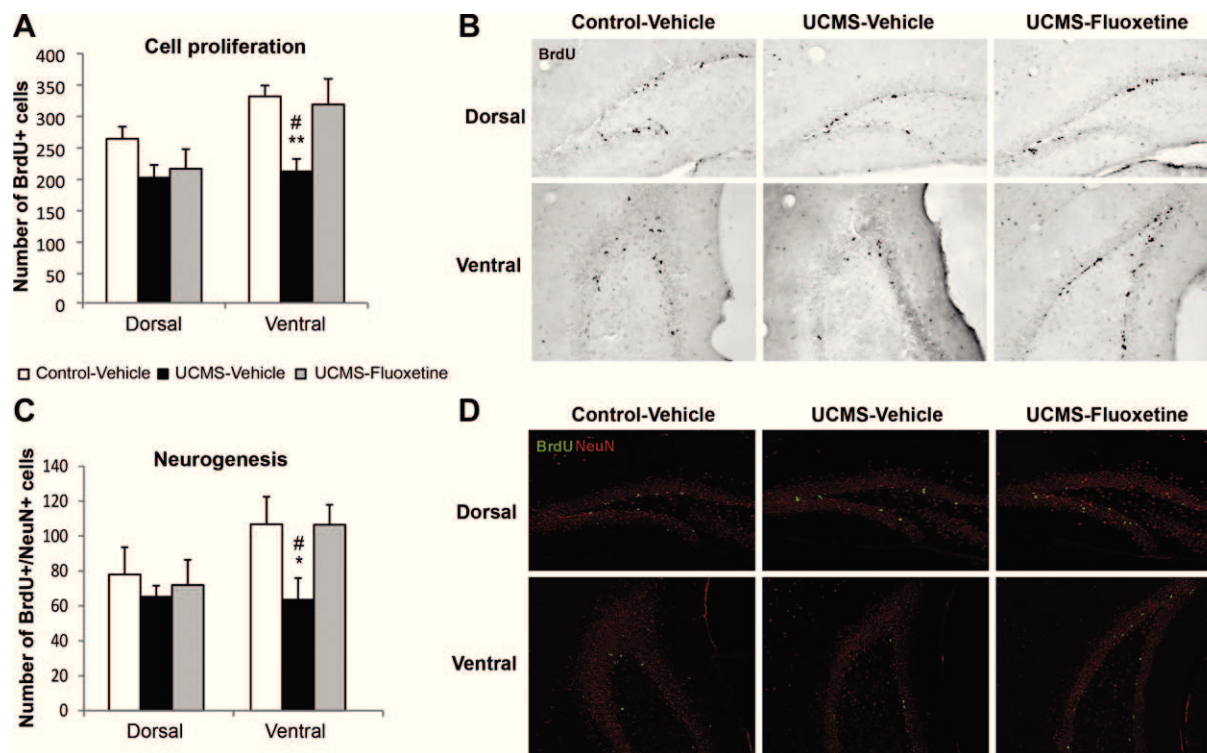


Fig. 3. Effects of UCMS and fluoxetine treatment on cell proliferation and neurogenesis in the subgranular zone of the dorsal and ventral hippocampus. UCMS decreased the number of BrdU+ (A) and the number of BrdU/NeuN+ (C) cells in the ventral hippocampus whereas no effect was found in the dorsal hippocampus. Fluoxetine treatment reversed these effects in the ventral hippocampus but had no effect in the dorsal hippocampus (A and C), $n = 8–10$ per group. Data represent mean $\pm$ SEM. Kruskal–Wallis followed by Mann–Whitney U test: $^{**}p < 0.01$; $^{*}p < 0.05$ for Control-Vehicle versus UCMS-Vehicle groups; $^{#}p < 0.05$ for UCMS-Vehicle versus UCMS-Fluoxetine groups. (B and D) Representative photographs of the effects of UCMS and fluoxetine on cell proliferation (B) and neurogenesis (D) in the dorsal and ventral hippocampus.

UCMS-induced decrease of BrdU+/NeuN+ cells in the UCMS-Vehicle group compared to Control-Vehicle mice ($U = 24$, $p < 0.05$). This effect was reversed by fluoxetine treatment as no difference was found between UCMS-Fluoxetine and Control-Vehicle mice ($U = 34.5$, $p > 0.5$) and the number of BrdU+/NeuN+ cells was significantly lower in UCMS-Vehicle mice compared to UCMS-Fluoxetine ($U = 16$, $p < 0.05$).

3.2. Experiment 2: environmental enrichment-induced changes in behavior and neurogenesis

3.2.1. Environmental enrichment-induced changes in behavior

3.2.1.1. Object recognition test. Both groups displayed a preference for the novel object as they spent significantly more time than chance exploring the novel object (Fig. 4B; respectively $t_{19} = 2.17$, $p < 0.05$ for control mice and $t_{19} = 4.03$, $p < 0.001$ for enriched mice). Environmental enrichment significantly increased the percentage of time spent exploring the novel object in the recall session (Fig. 4B; $U = 128$, $p < 0.05$). Modifications in activity or exploration could not account for this effect as no difference was found between groups in cumulative time spent exploring either the familiar or the novel object in the recall session (Fig. 4A; $U = 163$, $p > 0.2$).

3.2.1.2. Elevated Plus Maze. Environmental enrichment significantly increased the percentage of entries into the open arms of the maze (Fig. 4C; $U = 52.5$, $p < 0.001$). Modifications in locomotor activity within the maze could not account for this effect as no difference was found in the number of entries into closed arms (Fig. 4D; $U = 107$, $p > 0.1$).

3.2.2. Environmental enrichment-induced changes in cell proliferation and neurogenesis

Environmental enrichment significantly increased cell proliferation (Fig. 5A) in both the dorsal ($U = 6$, $p < 0.01$) and ventral hippocampus ($U = 1.5$, $p < 0.001$).

Enrichment also significantly increased BrdU+/NeuN+ cells (Fig. 5C) in the dorsal hippocampus ($U = 12$, $p < 0.05$), whereas no effect was found in the ventral hippocampus ($U = 29$, $p > 0.5$).

4. Discussion

The present study was aimed at investigating the effects of UCMS, chronic fluoxetine treatment and environmental

enrichment on cell proliferation and neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus. UCMS exposure caused a depressive-like state characterized by physical and behavioral impairments and by a significant decrease in both cell proliferation and neurogenesis in the hippocampus. All these effects were reversed by chronic fluoxetine treatment similarly to previous studies (Alonso et al., 2004; Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008, 2011). Remarkably, the UCMS effects and the fluoxetine reversal on cell proliferation and neurogenesis were shown to preferentially occur in the ventral part of the hippocampus. As previously described (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Bruel-Jungerman et al., 2005; Chapillon et al., 1999; Kempermann et al., 1997; Rampon et al., 2000) environmental enrichment in our study was able to improve reference memory performances, decrease anxiety-related behavior, and induced regional changes in cell proliferation and neurogenesis. In particular, while it increased cell proliferation in both the dorsal and the ventral hippocampus, the enhanced neurogenesis following enrichment was only found in the dorsal hippocampus.

Taken together, our results provide evidence for a regional dissociation of hippocampal neurogenesis regulation by distinct environmental factors and suggest heterogeneous functions of newborn neurons along the septo-temporal axis.

4.1. UCMS preferentially disrupts cell proliferation and neurogenesis in the ventral hippocampus

Reduced number of BrdU-positive cells and BrdU/NeuN double labeled cells was found in the dentate gyrus of UCMS-exposed mice. This is in accordance with previous reports showing that chronic stress decreases both cell proliferation and neurogenesis in different species, including UCMS models (Alonso et al., 2004; Gould et al., 1997, 1998; Malberg and Duman, 2003; Pham et al., 2003; Surget et al., 2011). Interestingly, these effects were observed preferentially in the ventral hippocampus. Only few studies assessed the regional changes in cell proliferation and neurogenesis induced by chronic stress along the septo-temporal axis of the mouse hippocampus. Similar results were described in rats (Jayatissa et al., 2006) and more recently in C57BL/6 mice (Elizalde et al., 2010). It was also reported that early-life stress decreases neurogenesis specifically in the ventral hippocampus (Oomen et al., 2010). Given that most of the reciprocal connections the hippocampus shares with the limbic system and the structures involved in stress integration/regulation are found predominantly

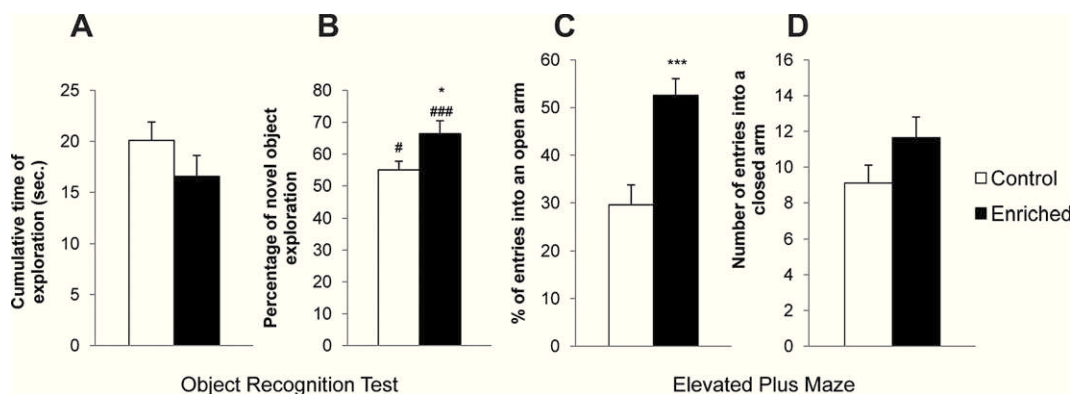


Fig. 4. Effects of environmental enrichment on behavior. (A) No difference was found between groups in time spent exploring either of two objects in the recall phase of the Object Recognition Test (ORT), $n = 20$ per group. (B) In the ORT, both groups displayed a preference for the novel object as they spent more time exploring the novel object than chance but enrichment significantly increased novel object exploration, $n = 20$ per group. (C) Enrichment increased the percent of open arm entries in the Elevated Plus Maze (EPM), $n = 20$. (D) No difference between groups was found in the number of closed arm entries, $n = 20$. Data represent mean $\pm$ SEM. Mann-Whitney U test: *** $p < 0.001$; * $p < 0.05$. One sample t test: ### $p < 0.001$; # $p < 0.05$.

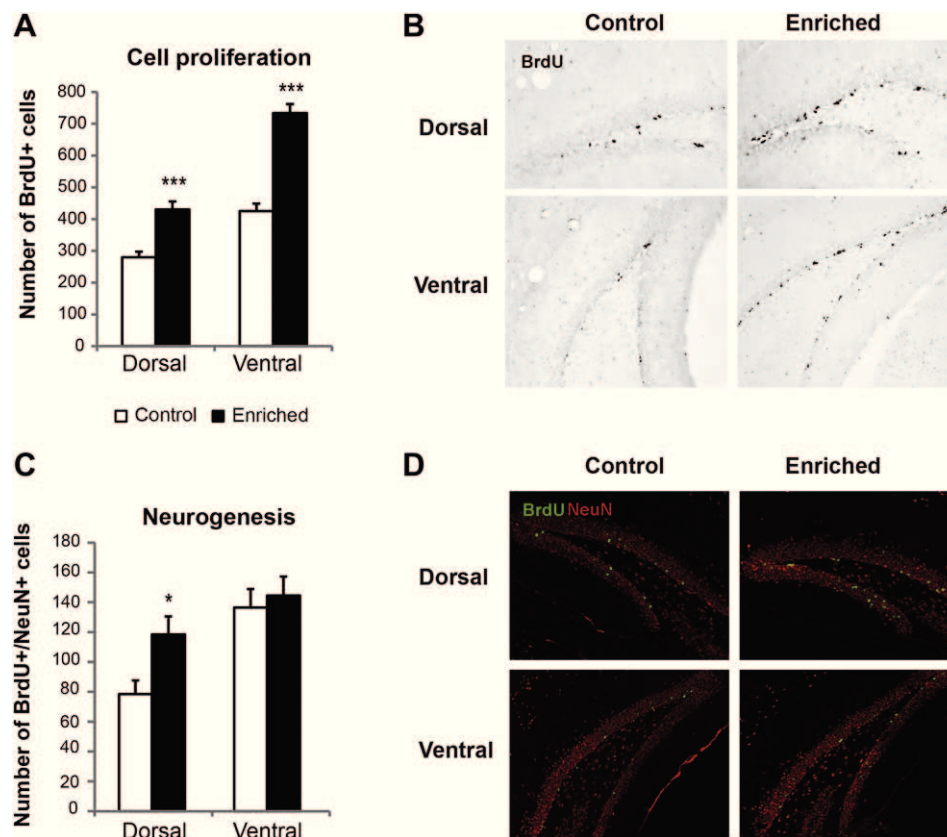


Fig. 5. Effects of environmental enrichment on cell proliferation and neurogenesis in the subgranular zone of the hippocampus. (A) Enrichment significantly increased the number of BrdU+ cells in both the dorsal and ventral hippocampus, $n = 10$ per group. (B) Representative photographs of the effects of enrichment on cell proliferation in the dorsal and ventral hippocampus. (C) Enrichment significantly increased the number of BrdU/NeuN+ cells in the dorsal hippocampus but had no effect in the ventral hippocampus, $n = 10$ per group. (D) Representative photographs of the effects of enrichment on neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus. Data represent mean $\pm$ SEM. Mann–Whitney U test: *** $p < 0.001$; * $p < 0.05$.

in the ventral hippocampus, it is conceivable that the ventral hippocampus might be more exposed and vulnerable to the effects of stress and glucocorticoids. Interestingly, a study showed that chronic corticosterone treatment impaired neurogenesis specifically in the ventral hippocampus of female rats, whereas in males decreased density of immature neurons was observed in both the dorsal and ventral hippocampus (Brummelte and Galea, 2010). Overall these results contribute to the view that the ventral pole of the hippocampus might be more vulnerable to the effects of stress.

These effects on neurogenesis may be related to the effects of stress hormones such as glucocorticoids on proliferation and survival of newborn neurons (Cameron and Gould, 1994; Gould et al., 1992; Rodriguez et al., 1998; Wong and Herbert, 2004). They are thought to be mediated by both the glucocorticoid (GR) and mineralocorticoid (MR) receptors (Mayer et al., 2006; Montaron et al., 2003; Oomen et al., 2007). Both receptors are highly expressed in the hippocampus, but only few studies investigated their regional expression along the septo-temporal axis. While one study found GR to be more expressed in the ventral than in the dorsal hippocampus (Lin et al., 2012), Robertson et al. (2005) reported a higher GR expression in the dorsal hippocampus whereas expression of MR was higher in the ventral hippocampus. In addition the latter study showed that the MR concentration is two-fold higher than the concentration of GR in the ventral hippocampus. While it seems unlikely that sole differences in receptor expression can explain the differential effect of chronic stress we observed on neurogenesis, region-specific differences in their ability to modulate plasticity have already been described following stress. Specifically, Maggio and Segal (2007a, 2009)

showed that LTP and LTD are both modulated by stress in the dorsal hippocampus via a GR-dependent mechanism whereas in the ventral hippocampus stress induces opposite changes in LTP and LTD throughout MR activation. Although this is only speculative, the region-specific effects of stress on neurogenesis observed in our study might be in part related to the differential function or expression of these receptors along the septo-temporal axis of the hippocampus, along with potential stress-induced dynamic and region-specific changes in their function.

4.2. UCMS-induced changes in cell proliferation and neurogenesis are reversed by chronic fluoxetine treatment

In our study, chronic fluoxetine treatment was able to reverse the decrease of cell proliferation and neurogenesis induced by UCMS exposure. These results are also in line with previous studies showing that chronic administration with antidepressants, including fluoxetine, can reverse the stress-induced changes in neurogenesis and even increase proliferation and survival of newborn neurons in non-stressed control rodents (Airan et al., 2007; Alonso et al., 2004; David et al., 2009; Lee et al., 2001; Malberg et al., 2000; Manev et al., 2001; Nakagawa et al., 2002; Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2008, 2011; Wang et al., 2008). The stimulating effects of antidepressants depend upon multiple factors such as the strain (Balu et al., 2009; Holick et al., 2008; Huang et al., 2008; Miller et al., 2008), gender or age of the animals used (Couillard-Despres et al., 2009; Navailles et al., 2008). These effects are also likely to be state dependent as some studies show a differential effect of antidepressants on neurogenesis in control

animals and under chronic stress or high corticosterone conditions (David et al., 2009; Jayatissa et al., 2006). Along with methodological inconsistencies such as duration or dosage of treatment, all these factors might explain discrepancies with some recent studies which reported no effect of fluoxetine on proliferation or survival of newborn neurons (Cowen et al., 2008; Holick et al., 2008; Huang et al., 2008; Marlatt et al., 2010).

Here we report that chronic fluoxetine treatment increased proliferation and neurogenesis preferentially in the ventral hippocampus. Interestingly, in line with our results a recent study in humans showed that treatment with SSRIs or tricyclic antidepressants increased the number and division of neural progenitor cells specifically in the anterior hippocampus (Boldrini et al., 2009) which is considered as the rodent anatomical equivalent of the ventral hippocampus. A previous study reported similar results in rats following chronic treatment with the SSRI escitalopram (Jayatissa et al., 2006). In this study escitalopram treatment reversed the impairment of cell proliferation induced by chronic mild stress in the ventral hippocampus but had no effect in the dorsal hippocampus. Of note, in control non-stressed rats, escitalopram treatment increased cell proliferation exclusively in the dorsal hippocampus, supporting the view that drug effects may vary greatly whether treated animals are in control or “depressed/stressed” state (Surget et al., 2009). Same results were found following chronic SSRI paroxetine treatment in C57BL/6 mice (Elizalde et al., 2010). A 3-week paroxetine treatment increased both cell proliferation and neurogenesis exclusively in the dorsal hippocampus of non-stressed mice. On the other hand, paroxetine treatment failed to prevent the reduced neurogenesis observed in the ventral hippocampus following chronic mild stress. By contrast, another study showed that in control rats, a 3-week treatment with agomelatine, an antidepressant acting as a melatonin agonist and a 5-HT_{2c} antagonist, led to increased cell proliferation and neurogenesis in the ventral hippocampus but had no effect in the dorsal hippocampus (Banasr et al., 2006). These results suggest that changes in neurogenesis could be region and importantly state-dependent. According to this view, chronic lithium treatment has recently been showed to increase hippocampal cell proliferation only in the ventral hippocampus and only under stress condition (O’Leary et al., 2012).

This differential regulation of neurogenesis by antidepressants might be linked to heterogeneous monoaminergic innervation along the dorsoventral axis of the hippocampus. There is a higher density of serotonergic and noradrenergic innervations in the ventral part of the hippocampus (Gage and Thompson, 1980) and importantly, these two regions are modulated by different 5-HT pathways. The dorsal hippocampus is predominantly innervated by 5-HT neurons projecting from the median raphe nucleus whereas the ventral hippocampus receives dense projections from dorsal and median raphe nuclei (Azmitia and Segal, 1978; Kohler and Steinbusch, 1982; Molliver, 1987; Vertes, 1991). As such, stimulation of the dorsal raphe leads to increased extracellular 5-HT levels in the ventral hippocampus but not in the dorsal hippocampus (McQuade and Sharp, 1997). These two pathways have also been described as anatomically, electrophysically and functionally distinct (Hensler, 2006). In particular the serotonin transporter SERT and the 5-HT_{1A} presynaptic autoreceptor, which desensitization is thought to be critical for SSRIs to enhance 5-HT transmission in limbic structures (Blair et al., 1987; Blair and de, 1983; Chaput et al., 1991; Gartside et al., 1997; Hjorth et al., 1996; Rutter et al., 1994) have been reported to be more expressed or to display higher binding affinity in the dorsal than in the median raphe nucleus (Adams and van den Buuse, 2011; Khawaja, 1995). Additionally, 5-HT_{1A} autoreceptors in the dorsal raphe seem more readily desensitized following chronic agonist treatment than

those of the median raphe nucleus (Kreiss and Lucki, 1997; Romero and Artigas, 1997). It is therefore possible that a greater enhancement of serotonergic neurotransmission in the ventral hippocampus could account for the region-specific changes in neurogenesis we observed following chronic fluoxetine treatment. Indeed, serotonin levels or stimulation of various serotonergic receptors have been positively correlated with hippocampal neurogenesis (Banasr et al., 2004; Brezun and Daszuta, 1999, 2000; Lucas et al., 2007; Radley and Jacobs, 2002; Santarelli et al., 2003). Finally, heterogeneous expression or function of some of those receptors within the dorsoventral axis of the hippocampus has been described (Adams and van den Buuse, 2011; Alves et al., 2004; File and Gonzalez, 1996; Lin et al., 2012) which could further participate in the differential effects of fluoxetine we observed.

A better understanding of the region-dependent regulation of neurogenesis by stress and antidepressants could have functional significance in view of the recent data supporting the idea that neurogenesis might be directly involved in some antidepressant effects and in modulating the stress response (Snyder et al., 2011; Surget et al., 2011).

4.3. Enrichment increased cell proliferation in both the dorsal and ventral hippocampus but neurogenesis only in the dorsal hippocampus

Enrichment can induce robust changes in cell proliferation and neurogenesis (Brown et al., 2003; Kempermann et al., 1997). Whether these changes in neurogenesis contribute to the behavioral effects of enrichment is still matter of debate because conflicting results were found both regarding the participating action of neurogenesis in the effects of enrichment on learning processes (Buel-Jungerman et al., 2005; Meshi et al., 2006) but also in emotional aspects (Meshi et al., 2006; Schloesser et al., 2010).

Our results are in line with previous results which demonstrated that enrichment induces a robust increase in cell proliferation and neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus. Interestingly, while proliferation was increased in both the dorsal and the ventral parts of the hippocampus, neurogenesis was increased specifically in the dorsal hippocampus. A previous study reported that survival of newborn neurons was enhanced by spatial learning specifically in the dorsal part of the hippocampus (Ambrogini et al., 2000). However, to our knowledge, only one study assessed the regional changes in neurogenesis induced by enrichment in mice (Tashiro et al., 2007) and found a uniformly distributed effect of enrichment on neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus. Some factors could account for these discrepancies. First, the duration of environmental enrichment was substantially longer in our experiment (6 weeks versus 1 week). It is therefore possible that a longer exposure is necessary to induce regionally selective changes in neurogenesis. Secondly, mice used in our experiment were 4 weeks old at the start of the experiment, thus being exposed continuously to enrichment at a relatively young age. Age has been shown to significantly affect cell proliferation and neurogenesis in the hippocampus (Kuhn et al., 1996). Therefore, heterogeneous sensitivity to factors promoting neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus could be exacerbated during this period and explain a differential effect of enrichment on neurogenesis between the dorsal and ventral hippocampus.

Whereas cell proliferation was increased both in the dorsal and ventral hippocampus, effects of enrichment on neurogenesis were found only in the dorsal hippocampus. These results highlight the differential regulation of these two processes. An important fraction of newborn neurons dies before maturation and their survival is critically dependent upon input-activity (Tashiro et al., 2006), it is therefore possible that enrichment, by stimulating preferentially

dorsal hippocampal networks, increases survival of newborn neurons more specifically in this area. Given the timing of BrdU injections in our study, our measure of neurogenesis could reflect cumulative changes in proliferation, survival, differentiation or maturation of newborn cells. However, the fact that cell proliferation was indifferently enhanced along the dorsoventral axis of the hippocampus whereas the total number of 4 weeks old neurons was increased only in the dorsal division supports the idea that changes in survival, differentiation or maturation could have occurred preferentially in the dorsal hippocampus of enriched animals. These processes have already been showed to be enhanced by enrichment or voluntary exercise (Kempermann et al., 1997; Marlatt et al., 2010; Van Praag et al., 1999; Zhao et al., 2006) but no study to date investigated whether these changes were similar along the dorsoventral axis of the hippocampus. Some interesting findings were however reported regarding the expression of calretinin, a calcium-binding protein transiently expressed in post-mitotic newborn neurons and not in proliferative cells (Brandt et al., 2003) which also displays some neuroprotective properties against glutamate-induced neurotoxicity (D'Orlando et al., 2002; Lukas and Jones, 1994). Interestingly, two studies reported that calretinin is highly expressed in the subgranular zone of the dorsal dentate gyrus but is virtually absent of the subgranular zone in the ventral hippocampus (Jinno, 2011; Liu et al., 1996). This differential expression could be relevant as it clearly shows distinct features of newborn neurons within these two regions and potentially suggests that the different stages of neuronal development leading to the incorporation of adult newborn neurons into hippocampal networks have different properties along the dorsoventral axis. The use of additional endogenous markers in future studies would be useful to further investigate if differential maturation or differentiation of newborn neurons within the dorsal and ventral hippocampus can be observed or induced by enrichment, fluoxetine treatment or UCMS. Moreover the region-specific effects of enrichment on neurogenesis might be linked to an increased cell death or turnover in the ventral hippocampus. The use of apoptosis markers could help to clarify this issue.

4.4. Functional significance of the region-specific regulation of hippocampal neurogenesis by UCMS, fluoxetine and environmental enrichment

Interestingly, whereas in our study UCMS and fluoxetine were shown to modulate neurogenesis preferentially in the ventral hippocampus, enrichment increased neurogenesis preferentially in the dorsal hippocampus. The preferential effect of UCMS and fluoxetine on neurogenesis in the ventral hippocampus may be linked to its specific interactions with the limbic system and the structures involved in stress integration. In contrast, given the implication of the dorsal hippocampus in learning and memory processes, enrichment, by stimulating the animal's interest toward new configurations and improving learning performances, might preferentially stimulate neurogenesis in the dorsal hippocampus. This view is however debatable as exposure to enriched environment can also decrease anxiety-related behaviors which are thought to be critically dependent on the integrity of the ventral hippocampus. Enrichment can also have antidepressant effects in several animal models of depression (Brenes et al., 2009; Laviola et al., 2008), and a recent study showed that these effects could be mediated by neurogenesis (Schloesser et al., 2010). Therefore the functional significance of such region-specific and differential changes in neurogenesis seems rather more complex. In addition, it has been reported that, whereas overall activation of granule neurons is more important in the dorsal hippocampus following a spatial learning task, newborn neurons were more activated in

the ventral hippocampus than in the dorsal hippocampus during the same task (Snyder et al., 2009). This result suggests that the functional segregation observed along the septo-temporal is not necessarily conditioning the function of newborn neurons. Supporting this view, learned helplessness, an accepted model of depression and antidepressant efficacy (Cryan et al., 2002) has been linked to decreased neurogenesis in the dorsal hippocampus (Ho and Wang, 2010) which is thought to be preferentially involved in cognitive rather than emotional aspects of behavior. Neurogenesis in the different hippocampal subregions could therefore rather participate in different aspects leading to the integration of hippocampus-relevant experiences.

5. Conclusion

In conclusion, our results support the notion that neurogenesis is differentially regulated along the septo-temporal axis of the hippocampus. In particular, our results suggest that chronic stress and fluoxetine treatment preferentially modulate neurogenesis in the ventral hippocampus whereas environmental enrichment increases neurogenesis preferentially in the dorsal hippocampus. Specifying the mechanisms underlying this differential and region-specific regulation of neurogenesis could help understanding the functional contribution of newborn hippocampal neurons.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.neuropharm.2012.04.022.

References

- Adams, W., van den Buuse, M., 2011. Hippocampal serotonin depletion facilitates the enhancement of prepulse inhibition by risperidone: possible role of 5-HT(2C) receptors in the dorsal hippocampus. *Neuropharmacology* 61, 458–467.
- Airan, R.D., Meltzer, L.A., Roy, M., Gong, Y., Chen, H., Deisseroth, K., 2007. High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 317, 819–823.
- Alonso, R., Griebel, G., Pavone, G., Stemmelin, J., Le, F.G., Soubrie, P., 2004. Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol. Psychiatry* 9, 278–286.
- Alves, S.H., Pinheiro, G., Motta, V., Landeira-Fernandez, J., Cruz, A.P., 2004. Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT(2C) agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behav. Pharmacol.* 15, 37–43.
- Amaral, D.G., Witter, M.P., 1989. The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31, 571–591.
- Ambrogini, P., Cuppini, R., Cuppini, C., Ciaroni, S., Cecchini, T., Ferri, P., Sartini, S., Del, G.P., 2000. Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. *Neurosci. Lett.* 286, 21–24.
- Azmitia, E.C., Segal, M., 1978. An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* 179, 641–667.
- Balu, D.T., Hodes, G.E., Anderson, B.T., Lucki, I., 2009. Enhanced sensitivity of the MRL/MpJ mouse to the neuroplastic and behavioral effects of chronic antidepressant treatments. *Neuropsychopharmacology* 34, 1764–1773.
- Banasr, M., Hery, M., Printemps, R., Daszuta, A., 2004. Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology* 29, 450–460.
- Banasr, M., Soumier, A., Hery, M., Mocaer, E., Daszuta, A., 2006. Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol. Psychiatry* 59, 1087–1096.
- Bannerman, D.M., Rawlins, J.N., McHugh, S.B., Deacon, R.M., Yee, B.K., Bast, T., Zhang, W.N., Pothuizen, H.H., Feldon, J., 2004. Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 28, 273–283.
- Barbas, H., Blatt, G.J., 1995. Topographically specific hippocampal projections target functionally distinct prefrontal areas in the rhesus monkey. *Hippocampus* 5, 511–533.
- Benaroya-Milshtein, N., Hollander, N., Apter, A., Kukulansky, T., Raz, N., Wilf, A., Yaniv, I., Pick, C.G., 2004. Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *Eur. J. Neurosci.* 20, 1341–1347.
- Berridge, K.C., Whishaw, I.Q., 1992. Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Exp. Brain Res.* 90, 275–290.

- Berridge, K.C., Fentress, J.C., Parr, H., 1987. Natural syntax rules control action sequence of rats. *Behav. Brain Res.* 23, 59–68.
- Blier, P., de, M.C., 1983. Electrophysiological investigations on the effect of repeated zimelidine administration on serotonergic neurotransmission in the rat. *J. Neurosci.* 3, 1270–1278.
- Blier, P., de, M.C., Chaput, Y., 1987. Modifications of the serotonin system by antidepressant treatments: implications for the therapeutic response in major depression. *J. Clin. Psychopharmacol.* 7, 245–355.
- Boldrini, M., Underwood, M.D., Hen, R., Rosoklija, G.B., Dwork, A.J., John, M.J., Arango, V., 2009. Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34, 2376–2389.
- Brandt, M.D., Jessberger, S., Steiner, B., Kronenberg, G., Reuter, K., Bick-Sander, A., von der, B.W., Kempermann, G., 2003. Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol. Cell Neurosci.* 24, 603–613.
- Brenes, J.C., Padilla, M., Fornaguera, J., 2009. A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behav. Brain Res.* 197, 125–137.
- Brezun, J.M., Daszuta, A., 1999. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* 89, 999–1002.
- Brezun, J.M., Daszuta, A., 2000. Serotonin may stimulate granule cell proliferation in the adult hippocampus, as observed in rats grafted with foetal raphe neurons. *Eur. J. Neurosci.* 12, 391–396.
- Brown, J., Cooper-Kuhn, C.M., Kempermann, G., Van Praag, H., Winkler, J., Gage, F.H., Kuhn, H.G., 2003. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 17, 2042–2046.
- Bruel-Jungerman, E., Laroche, S., Rampon, C., 2005. New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *Eur. J. Neurosci.* 21, 513–521.
- Brummelte, S., Galea, L.A., 2010. Chronic high corticosterone reduces neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rats. *Neuroscience* 168, 680–690.
- Burwell, R.D., Amaral, D.G., 1998. Cortical afferents of the perirhinal, postirhinal, and entorhinal cortices of the rat. *J. Comp. Neurol.* 398, 179–205.
- Cameron, H.A., Gould, E., 1994. Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 61, 203–209.
- Canteras, N.S., Swanson, L.W., 1992. Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus: a PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. *J. Comp. Neurol.* 324, 180–194.
- Chapillon, P., Manneche, C., Belzung, C., Caston, J., 1999. Rearing environmental enrichment in two inbred strains of mice: 1. Effects on emotional reactivity. *Behav. Genet.* 29, 41–46.
- Chaput, Y., de, M.C., Blier, P., 1991. Presynaptic and postsynaptic modifications of the serotonin system by long-term administration of antidepressant treatments. An in vivo electrophysiological study in the rat. *Neuropsychopharmacology* 5, 219–229.
- Couillard-Despres, S., Wuertinger, C., Kandasamy, M., Caioni, M., Stadler, K., Aigner, R., Bogdahn, U., Aigner, L., 2009. Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis. *Mol. Psychiatry* 14, 856–864.
- Cowen, D.S., Takase, L.F., Fornal, C.A., Jacobs, B.L., 2008. Age-dependent decline in hippocampal neurogenesis is not altered by chronic treatment with fluoxetine. *Brain Res.* 1228, 14–19.
- Cryan, J.F., Markou, A., Lucki, I., 2002. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* 23, 238–245.
- David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guindar, B.P., Guilloux, J.P., Artyushyn, 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.
- Dolorfo, C.L., Amaral, D.G., 1998. Entorhinal cortex of the rat: organization of intrinsic connections. *J. Comp. Neurol.* 398, 49–82.
- D'Orlando, C., Celio, M.R., Schwaller, B., 2002. Calretinin and calbindin D-28k, but not parvalbumin protect against glutamate-induced delayed excitotoxicity in transfected N18-RE 105 neuroblastoma-retina hybrid cells. *Brain Res.* 945, 181–190.
- Ducottet, C., Belzung, C., 2004. Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. *Physiol. Behav.* 81, 417–426.
- Dulawa, S.C., Hen, R., 2005. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 29, 771–783.
- Elizalde, N., Garcia-Garcia, A.L., Totterdell, S., Gendive, N., Venzala, E., Ramirez, M.J., Del, R.J., Tordera, R.M., 2010. Sustained stress-induced changes in mice as a model for chronic depression. *Psychopharmacology (Berl)* 210, 393–406.
- File, S.E., Gonzalez, L.E., 1996. Anxiolytic effects in the plus-maze of 5-HT_{1A}-receptor ligands in dorsal raphe and ventral hippocampus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 54, 123–128.
- Gage, F.H., Thompson, R.G., 1980. Differential distribution of norepinephrine and serotonin along the dorsal-ventral axis of the hippocampal formation. *Brain Res. Bull.* 5, 771–773.
- Gartside, S.E., Umbers, V., Sharp, T., 1997. Inhibition of 5-HT cell firing in the DRN by non-selective 5-HT reuptake inhibitors: studies on the role of 5-HT_{1A} autoreceptors and noradrenergic mechanisms. *Psychopharmacology (Berl)* 130, 261–268.
- Gould, E., Daniels, D.C., Cameron, H.A., McEwen, B.S., 1992. Expression of adrenal steroid receptors by newly born cells and pyknotic cells in the dentate gyrus of the postnatal rat. *Mol. Cell Neurosci.* 3, 44–48.
- Gould, E., McEwen, B.S., Tanapat, P., Galea, L.A., Fuchs, E., 1997. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J. Neurosci.* 17, 2492–2498.
- Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B.S., Flugge, G., Fuchs, E., 1998. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 3168–3171.
- Green, T.A., Alibhai, I.N., Roybal, C.N., Winstanley, C.A., Theobald, D.E., Birnbaum, S.G., Graham, A.R., Unterberg, S., Graham, D.L., Vialou, V., Bass, C.E., Terwilliger, E.F., Bardo, M.T., Nestler, E.J., 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.
- Hensler, J.G., 2006. Serotonergic modulation of the limbic system. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 30, 203–214.
- Hjorth, S., Bengtsson, H.J., Milano, S., 1996. Raphe 5-HT_{1A} autoreceptors, but not postsynaptic 5-HT_{1A} receptors or beta-adrenoceptors, restrain the citalopram-induced increase in extracellular 5-hydroxytryptamine in vivo. *Eur. J. Pharmacol.* 316, 43–47.
- Ho, Y.C., Wang, S., 2010. Adult neurogenesis is reduced in the dorsal hippocampus of rats displaying learned helplessness behavior. *Neuroscience* 171, 153–161.
- Holick, K.A., Lee, D.C., Hen, R., Dulawa, S.C., 2008. Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/c mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 33, 406–417.
- Huang, G.J., Bannerman, D., Flint, J., 2008. Chronic fluoxetine treatment alters behavior, but not adult hippocampal neurogenesis, in BALB/c mice. *Mol. Psychiatry* 13, 119–121.
- Insausti, R., Herrero, M.T., Witter, M.P., 1997. Entorhinal cortex of the rat: cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents. *Hippocampus* 7, 146–183.
- Isingrini, E., Camus, V., Le Guisquet, A.M., Pingaud, M., Devers, S., Belzung, C., 2010. Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. *PLoS. One* 5, e10404.
- Jayatissa, M.N., Bisgaard, C., Tingstrom, A., Papp, M., Wiborg, O., 2006. Hippocampal cytoskeleton correlates to escitalopram-mediated recovery in a chronic mild stress rat model of depression. *Neuropsychopharmacology* 31, 2395–2404.
- Jinno, S., Kosaka, T., 2006. Cellular architecture of the mouse hippocampus: a quantitative aspect of chemically defined GABAergic neurons with stereology. *Neurosci. Res.* 56, 229–245.
- Jinno, S., Kosaka, T., 2010. Stereological estimation of numerical densities of glutamatergic principal neurons in the mouse hippocampus. *Hippocampus* 20, 829–840.
- Jinno, S., 2011. Topographic differences in adult neurogenesis in the mouse hippocampus: a stereology-based study using endogenous markers. *Hippocampus* 21, 467–480.
- Kalueff, A.V., Tuohimaa, P., 2004. Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. *Brain Res. Brain Res. Protoc.* 13, 151–158.
- Kametani, H., 1988. Analysis of age-related changes in stress-induced grooming in the rat. Differential behavioral profile of adaptation to stress. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 525, 101–113.
- Kempermann, G., Kuhn, H.G., Gage, F.H., 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386, 493–495.
- Khawaja, X., 1995. Quantitative autoradiographic characterisation of the binding of [³H]WAY-100635, a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Brain Res.* 673, 217–225.
- Kohler, C., Steinbusch, H., 1982. Identification of serotonin and non-serotonin-containing neurons of the mid-brain raphe projecting to the entorhinal area and the hippocampal formation. A combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat brain. *Neuroscience* 7, 951–975.
- Kreiss, D.S., Lucki, I., 1997. Chronic administration of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT differentially desensitizes 5-HT_{1A} autoreceptors of the dorsal and median raphe nuclei. *Synapse* 25, 107–116.
- Kuhn, H.G., Dickinson-Anson, H., Gage, F.H., 1996. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J. Neurosci.* 16, 2027–2033.
- Laviola, G., Hannan, A.J., Macri, S., Solinas, M., Jaber, M., 2008. Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol. Dis.* 31, 159–168.
- Lee, H.J., Kim, J.W., Yim, S.V., Kim, M.J., Kim, S.A., Kim, Y.J., Kim, C.J., Chung, J.H., 2001. Fluoxetine enhances cell proliferation and prevents apoptosis in dentate gyrus of maternally separated rats. *Mol. Psychiatry* 6, 725–728.
- Leonardo, E.D., Richardson-Jones, J.W., Sibille, E., Kottman, A., Hen, R., 2006. Molecular heterogeneity along the dorsal-ventral axis of the murine hippocampal CA1 field: a microarray analysis of gene expression. *Neuroscience* 137, 177–186.
- Lin, Y.L., Lin, S.Y., Wang, S., 2012. Prenatal lipopolysaccharide exposure increases anxiety-like behaviors and enhances stress-induced corticosterone responses in adult rats. *Brain Behav. Immun.* 26, 459–468.
- Liu, Y., Fujise, N., Kosaka, T., 1996. Distribution of calretinin immunoreactivity in the mouse dentate gyrus. I. General description. *Exp. Brain Res.* 108, 389–403.
- Lucas, G., Rymar, V.V., Du, J., Mnie-Filali, O., Bisgaard, C., Manta, S., Lambas-Senas, L., Wiborg, O., Haddjeri, N., Pineyro, G., Sadikot, A.F., Debonnel, G., 2007. Serotonin(4) (5-HT₄) receptor agonists are putative antidepressants with a rapid onset of action. *Neuron* 55, 712–725.
- Lucassen, P.J., Stumpel, M.W., Wang, Q., Aronica, E., 2010. Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. *Neuropharmacology* 58, 940–949.

- Lukas, W., Jones, K.A., 1994. Cortical neurons containing calretinin are selectively resistant to calcium overload and excitotoxicity in vitro. *Neuroscience* 61, 307–316.
- Maggio, N., Segal, M., 2007a. Striking variations in corticosteroid modulation of long-term potentiation along the septotemporal axis of the hippocampus. *J. Neurosci.* 27, 5757–5765.
- Maggio, N., Segal, M., 2007b. Unique regulation of long term potentiation in the rat ventral hippocampus. *Hippocampus* 17, 10–25.
- Maggio, N., Segal, M., 2009. Differential modulation of long-term depression by acute stress in the rat dorsal and ventral hippocampus. *J. Neurosci.* 29, 8633–8638.
- Malberg, J.E., Duman, R.S., 2003. Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* 28, 1562–1571.
- Malberg, J.E., Eisch, A.J., Nestler, E.J., Duman, R.S., 2000. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 20, 9104–9110.
- Manev, R., Uz, T., Manev, H., 2001. Fluoxetine increases the content of neurotrophic protein S100beta in the rat hippocampus. *Eur. J. Pharmacol.* 420, R1–R2.
- Marlatt, M.W., Lucassen, P.J., Van Praag, H., 2010. Comparison of neurogenic effects of fluoxetine, duloxetine and running in mice. *Brain Res.* 1341, 93–99.
- Martinsen, E.W., 2008. Physical activity in the prevention and treatment of anxiety and depression. *Nord. J. Psychiatry* 62 (Suppl. 47), 25–29.
- Maruki, K., Izaki, Y., Nomura, M., Yamauchi, T., 2001. Differences in paired-pulse facilitation and long-term potentiation between dorsal and ventral CA1 regions in anesthetized rats. *Hippocampus* 11, 655–661.
- Mayer, J.L., Klumpers, L., Maslam, S., de Kloet, E.R., Joels, M., Lucassen, P.J., 2006. Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalises the corticosterone-induced reduction of adult hippocampal neurogenesis. *J. Neuroendocrinol.* 18, 629–631.
- McQuade, R., Sharp, T., 1997. Functional mapping of dorsal and median raphe 5-hydroxytryptamine pathways in forebrain of the rat using microdialysis. *J. Neurochem.* 69, 791–796.
- Meshi, D., Drew, M.R., Saxe, M., Ansorge, M.S., David, D., Santarelli, L., Malapani, C., Moore, H., Hen, R., 2006. Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat. Neurosci.* 9, 729–731.
- Miller, B.H., Schultz, L.E., Gulati, A., Cameron, M.D., Pletcher, M.T., 2008. Genetic regulation of behavioral and neuronal responses to fluoxetine. *Neuropsychopharmacology* 33, 1312–1322.
- Mineur, Y.S., Belzung, C., Crusio, W.E., 2007. Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice. *Neuroscience* 150, 251–259.
- Molliver, M.E., 1987. Serotonergic neuronal systems: what their anatomic organization tells us about function. *J. Clin. Psychopharmacol.* 7, 35–235.
- Montaron, M.F., Piazza, P.V., Arousseau, C., Urani, A., Le, M.M., Abrous, D.N., 2003. Implication of corticosteroid receptors in the regulation of hippocampal structural plasticity. *Eur. J. Neurosci.* 18, 3105–3111.
- Moser, M.B., Moser, E.I., 1998. Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* 8, 608–619.
- Nakagawa, S., Kim, J.E., Lee, R., Chen, J., Fujioka, T., Malberg, J., Tsuji, S., Duman, R.S., 2002. Localization of phosphorylated cAMP response element-binding protein in immature neurons of adult hippocampus. *J. Neurosci.* 22, 9868–9876.
- Navailles, S., Hof, P.R., Schmauss, C., 2008. Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J. Comp. Neurol.* 509, 372–381.
- O'Leary, O.F., O'Connor, R.M., Cryan, J.F., 2012. Lithium-induced effects on adult hippocampal neurogenesis are topographically segregated along the dorso-ventral axis of stressed mice. *Neuropharmacology* 62, 247–255.
- Oomen, C.A., Mayer, J.L., de Kloet, E.R., Joels, M., Lucassen, P.J., 2007. Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalizes the reduction in neurogenesis after chronic stress. *Eur. J. Neurosci.* 26, 3395–3401.
- Oomen, C.A., Soeters, H., Audureau, N., Vermunt, L., van Hasselt, F.N., Manders, E.M., Joels, M., Lucassen, P.J., Krugers, H., 2010. Severe early life stress hampers spatial learning and neurogenesis, but improves hippocampal synaptic plasticity and emotional learning under high-stress conditions in adulthood. *J. Neurosci.* 30, 6635–6645.
- Paxinos, G., Franklin, K., 2001. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*, vol. 124. Academic Press, San Diego, CA. Ref Type: Edited Book.
- Petrovich, G.D., Canteras, N.S., Swanson, L.W., 2001. Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. *Brain Res. Brain Res. Rev.* 38, 247–289.
- Pham, K., Nacher, J., Hof, P.R., 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.
- Pitkanen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N., Ylinen, A., 2000. Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postnatal cortex in rat. A review. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 911, 369–391.
- Radley, J.J., Jacobs, B.L., 2002. 5-HT1A receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. *Brain Res.* 955, 264–267.
- Rampon, C., Tang, Y.P., Goodhouse, J., Shimizu, E., Kyn, M., Tsien, J.Z., 2000. Enrichment induces structural changes and recovery from nonspatial memory deficits in CA1 NMDAR1-knockout mice. *Nat. Neurosci.* 3, 238–244.
- Robertson, D.A., Beattie, J.E., Reid, I.C., Balfour, D.J., 2005. Regulation of corticosteroid receptors in the rat brain: the role of serotonin and stress. *Eur. J. Neurosci.* 21, 1511–1520.
- Rodriguez, J.J., Montaron, M.F., Petry, K.G., Arousseau, C., Marinelli, M., Premier, S., Rougon, G., Le, M.M., Abrous, D.N., 1998. Complex regulation of the expression of the polysialylated form of the neuronal cell adhesion molecule by glucocorticoids in the rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 10, 2994–3006.
- Romero, L., Artigas, F., 1997. Preferential potentiation of the effects of serotonin uptake inhibitors by 5-HT1A receptor antagonists in the dorsal raphe pathway: role of somatodendritic autoreceptors. *J. Neurochem.* 68, 2593–2603.
- Rutter, J.J., Gundlach, C., Auerbach, S.B., 1994. Increase in extracellular serotonin produced by uptake inhibitors is enhanced after chronic treatment with fluoxetine. *Neurosci. Lett.* 171, 183–186.
- Sachs, B.D., 1988. The development of grooming and its expression in adult animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 525, 1–17.
- 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.
- Schloesser, R.J., Lehmann, M., Martinowich, K., Manji, H.K., Herkenham, M., 2010. Environmental enrichment requires adult neurogenesis to facilitate the recovery from psychosocial stress. *Mol. Psychiatry*.
- Snyder, J.S., Radik, R., Wojtowicz, J.M., Cameron, H.A., 2009. Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 19, 360–370.
- Snyder, J.S., Soumier, A., Brewer, M., Pickel, J., Cameron, H.A., 2011. Adult hippocampal neurogenesis buffers stress responses and depressive behaviour. *Nature* 476, 458–461.
- Spruijt, B.M., van Hooff, J.A., Gispen, W.H., 1992. Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol. Rev.* 72, 825–852.
- 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.
- Surget, A., Wang, Y., Leman, S., Ibarguen-Vargas, Y., Edgar, N., Griebel, G., Belzung, C., Sibille, E., 2009. Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal. *Neuropsychopharmacology* 34, 1363–1380.
- Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E.D., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., Palme, R., Griebel, G., Ibarguen-Vargas, Y., Hen, R., Belzung, C., 2011. Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Mol. Psychiatry* 16, 1177–1188.
- Swanson, L.W., Cowan, W.M., 1977. An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J. Comp. Neurol.* 172, 49–84.
- Tashiro, A., Sandler, V.M., Toni, N., Zhao, C., Gage, F.H., 2006. NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 442, 929–933.
- Tashiro, A., Makino, H., Gage, F.H., 2007. Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J. Neurosci.* 27, 3252–3259.
- Thompson, C.L., Pathak, S.D., Jeromin, A., Ng, L.L., MacPherson, C.R., Mortrud, M.T., Cusick, A., Riley, Z.L., Sunkin, S.M., Bernard, A., Puchalski, R.B., Gage, F.H., Jones, A.R., Bajic, V.B., Hawrylycz, M.J., Lein, E.S., 2008. Genomic anatomy of the hippocampus. *Neuron* 60, 1010–1021.
- Van Erp, A.M., Kruk, M.R., Willekens-Bramer, D.C., Fermont, P.C., Nijssen, M.J., 1995. PVH lesions do not inhibit stressor-induced grooming in the rat. *Physiol. Behav.* 57, 887–892.
- Van Praag, H., Kempermann, G., Gage, F.H., 1999. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat. Neurosci.* 2, 266–270.
- Vertes, R.P., 1991. A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 313, 643–668.
- Wang, J.W., David, D.J., Monckton, J.E., Battaglia, F., Hen, R., 2008. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J. Neurosci.* 28, 1374–1384.
- Willner, P., Muscat, R., Papp, M., 1992. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 16, 525–534.
- Wong, E.Y., Herbert, J., 2004. The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 20, 2491–2498.
- Yalcin, I., Belzung, C., Surget, A., 2008. Mouse strain differences in the unpredictable chronic mild stress: a four-antidepressant survey. *Behav. Brain Res.* 193, 140–143.
- Zhao, C., Teng, E.M., Summers Jr., R.G., Ming, G.L., Gage, F.H., 2006. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J. Neurosci.* 26, 3–11.
- Zhao, C., Deng, W., Gage, F.H., 2008. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 132, 645–660.

Article 4 - Region and stage-specific effects of stress, enrichment and antidepressant treatment on neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus

Arnaud Tanti, Willy-Paul Westphal, Virginie Girault, Bruno Brizard, Severine Devers, Anne-Marie Leguisquet, Alexandre Surget, Catherine Belzung

Hippocampus, soumis

L'étude précédente suggère que la neurogenèse est potentiellement régulée différemment le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. Cependant un certain nombre de lacunes méthodologiques font qu'il est difficile d'établir une conclusion claire sur ces résultats. En particulier, la régulation de la neurogenèse par le stress et les antidépresseurs étant complexe et pouvant différemment affecter les multiples étapes dans le développement des nouveaux neurones, nous avons souhaité préciser ces effets en utilisant des marqueurs endogènes permettant de distinguer différentes sous populations de nouveaux neurones en fonction de leur stade de maturation. Additionnellement, la ségrégation de l'axe septo-temporal en seulement deux divisions, dorsale et ventrale, et l'absence de mesure de densité rend la quantification moins précise et pourrait masquer d'éventuelles différences le long de l'axe septo-temporal.

Nous avons donc mis en place une autre série d'expérience afin de compléter cette première étude. Comme précédemment des souris BALB/c ont été exposées au SCIM en concomitance avec un traitement chronique à la fluoxétine. Parallèlement une autre cohorte a été utilisée pour étudier les effets de l'environnement enrichi.

En utilisant différents marqueurs endogènes et le marquage au BrdU nous avons quantifié les changements induits par ces différents facteurs sur la prolifération et survie cellulaire, la densité de progéniteurs neuronaux et la densité de neurones immatures post-mitotiques dans 5 subdivisions de l'hippocampe le long de son axe septo-temporal.

Si les effets du SCIM sur la prolifération et la survie ont été observés tout le long de l'axe septo-temporal, le SCIM a différemment affecté les progéniteurs neuronaux et les neurones immatures post-mitotiques dans les divisions septales/dorsales et temporales/ventrales de l'hippocampe. En particulier alors que le SCIM diminue exclusivement la densité de neurones immatures dans les divisions les plus septales les deux populations sont affectées dans les divisions temporales. De façon

intéressante tandis que ces altérations induites par le SCIM sont contrecarrées par la fluoxétine chez les animaux stressés dans les régions septales et temporales, le traitement chez les animaux naïfs stimule la prolifération et la survie cellulaire spécifiquement dans les divisions temporales de l'hippocampe. Inversement, les effets pro-neurogéniques de l'enrichissement ont été observés exclusivement dans les divisions les plus septales.

Ces résultats confirment que différents facteurs connus pour avoir des propriétés antidépressantes régulent différemment la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal, suggérant à la fois que les mécanismes impliqués dans la régulation de la neurogenèse sont différents dans les régions septales et temporales, et que la contribution des nouveaux neurones dans les effets des antidépresseurs pourrait impliquer diverses composantes fonctionnelles de l'hippocampe.

Title: Region-dependent and stage-specific effects of stress, environmental enrichment and antidepressant treatment on hippocampal neurogenesis

Running title: Regional and stage-specific regulation of neurogenesis

Arnaud Tanti^{1,2*}, Willy-Paul Westphal^{1,2}, Virginie Girault^{1,2,3}, Bruno Brizard^{1,2}, Severine Devers^{1,2},
Anne-Marie Leguisquet^{1,2}, Alexandre Surget^{1,2,4}, Catherine Belzung^{1,2}

¹ U930, Inserm, Tours, F-37200, France.

² Université François Rabelais, Tours, F-37200, France.

³ *current address:* EA4309 - ERI28 - Microvascular Endothelium and Neonate Brain Lesions, Institute of Research for Innovation in Biomedicine (IRIB), Rouen, France

⁴ *current address:* Kavli Institute for Systems Neuroscience & Centre for the Biology of Memory, Norwegian University of Science and Technology (NTNU), Trondheim, Norway

*Corresponding author:

INSERM U 930

Université François Rabelais

Faculté des Sciences et Techniques

Parc Grandmont

F-37200 Tours

Tel.: + 33 2 47 36 70 01

e-mail: arnaud.tanti@gmail.com

ABSTRACT

Chronic stress and depression are associated with decreased levels of neurogenesis whereas antidepressants as well as environmental enrichment may rely in part on their pro-neurogenic effects to improve cognition and mood. Because a functional heterogeneity has been consistently reported along the septo-temporal axis of the hippocampus, regional changes in neurogenesis could differentially contribute to these effects and affect distinct hippocampal functions. Mapping these regional changes could therefore provide a better understanding of the function of newborn neurons. While some studies report region-specific effects of stress, enrichment and antidepressants on neurogenesis, it is unclear whether these changes affect distinct populations of newborn neurons according to their developmental stage in a region-specific manner.

By using endogenous markers and BrdU labeling we quantified the regional changes in cell proliferation and survival as well as in the number of neuronal progenitors and immature neurons following unpredictable chronic mild stress (UCMS), environmental enrichment (EE) and chronic fluoxetine (20 mg/kg.day) treatment. EE promoted cell proliferation and survival of 4-week-old newborn cells as well as increased the number and proportion of post-mitotic immature neurons specifically within the septal hippocampus. By contrast, UCMS uniformly decreased cell proliferation, survival and immature newborn neurons but differentially affected progenitor cells, with a decrease restricted to the temporal regions of the hippocampus. Whereas fluoxetine treatment in control mice affected proliferation and survival specifically in the temporal hippocampus, it reversed most of the UCMS-induced alterations in the entire septo-temporal axis.

These results highlight that different factors known for exerting a mood improving effect differentially regulate neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus. Such region and stage specific effects may correlate to distinct functional properties of newborn neurons along the septo-temporal axis of the hippocampus which may contribute differently to the pathophysiology of affective disorders.

INTRODUCTION

The hippocampus is a curve shaped structure that extends in rodents both rostral-caudally and dorso-ventrally from the septal nuclei of the basal forebrain to the temporal lobe. Along this septo-temporal axis striking variations have been described in terms of connectivity (Swanson and Cowan, 1977; Amaral and Witter, 1989), gene expression (Thompson et al., 2008; Fanselow and Dong, 2010), neurotransmission (Gage and Thompson, 1980; Jinno and Kosaka, 2006, 2010) and synaptic plasticity (Maggio and Segal, 2007, 2009) which altogether might explain the functional heterogeneity of this structure (Moser and Moser, 1998; Bannerman et al., 2004). While the septal pole seems more implicated in cognitive aspects of the hippocampal functions such as learning and memory (Moser et al., 1995), the temporal pole may underlie emotional aspects of hippocampus-driven functions and contribute in anxiety-related behaviors, motivational behaviors and regulation of the stress response (Henke, 1990; Kjelstrup et al., 2002; Herman and Mueller, 2006).

The hippocampus is known to be vulnerable to environmental challenges and displays an important ability to undergo plastic changes. In particular, the birth and functional integration of new neurons in the dentate gyrus of the hippocampus during adult life is highly modulated by intrinsic and environmental factors. Chronic exposure to stress and glucocorticoids severely impairs neurogenesis (Gould et al., 1992; Cameron and Gould, 1994; Rodriguez et al., 1998; Alonso et al., 2004; Wong and Herbert, 2006), and several studies now link impaired neurogenesis to mood and affective disorders (for a review, Petrik et al., 2012). On the other hand, mood-improving drugs, housing in an enriched environment and physical exercise are thought to modulate both cognitive and emotional behaviors by stimulating hippocampal neurogenesis (Bruehl-Jungman et al., 2005; Schloesser et al., 2010; Surget et al., 2011). However, given the aforementioned anatomical and functional hippocampal heterogeneity, it remains unclear whether these environment-related changes in neurogenesis occur differentially along the septo-temporal axis of the hippocampus and/or affect different stages of neuronal development in a region-specific manner. This could be of particular relevance as gradients of activity and maturation of newborn neurons have already been described along the septo-temporal axis of the hippocampus (Snyder et al., 2009; Piatti et al., 2011). Therefore mapping the regional changes in

neurogenesis following environmental manipulations might be useful to better understand the role of adult-newborn neurons in hippocampal functions.

Considering its preferential involvement in emotional behaviors, it has been suggested that changes in neurogenesis following stress or antidepressant treatment might be more prominent in the temporal hippocampus. Several studies have now described such regional changes in stress- or depression-related paradigms but have yielded conflicting results. While some report similar impairments in cell proliferation, survival or in the number of new neurons in both septal and temporal divisions (Brummelte and Galea, 2010; Oomen et al., 2010; Paizanis et al., 2010; Rainer et al., 2011; Nollet et al., 2012), others observe detrimental effects of stress specifically in the temporal hippocampus (Jayatissa et al., 2006; Zuenka et al., 2008; Brummelte and Galea, 2010; Oomen et al., 2010; Morley-Fletcher et al., 2011; Hawley and Leasure, 2012; Tanti et al., 2012) or even in the septal hippocampus (Ho and Wang, 2010; O'Leary et al., 2012). Similarly, studies investigating regional changes in neurogenesis following antidepressant treatment or mood-improving compounds have shown temporal specific effects (Banasr et al., 2006; Soumier et al., 2009; Paizanis et al., 2010; Mahar et al., 2011; Morley-Fletcher et al., 2011; Felice et al., 2012; O'Leary et al., 2012), septal specific effects (Jayatissa et al., 2006; Elizalde et al., 2010) or both (Jayatissa et al., 2006; Paizanis et al., 2010; Morley-Fletcher et al., 2011; Rainer et al., 2011; Nollet et al., 2012) depending on whether the effects of antidepressants were assessed in control unchallenged or stressed animals.

Along with differences in species and gender of animals, paradigms, type of antidepressant, and anatomical boundaries used to define septal and temporal divisions, these discrepancies might result from the fact that in most of these studies the region-specific effects observed seem also to depend upon the developmental stage of newborn neurons that is addressed. Supporting this view, several studies show that the topographical effects of antidepressants or stress on proliferation do not correlate with the topographical changes observed in cell survival or in the number of newborn neurons (Banasr et al., 2006; Soumier et al., 2009; Oomen et al., 2010; Paizanis et al., 2010; Rainer et al., 2011; O'Leary et al., 2012). It is therefore possible that environmental factors and antidepressants have

different stage-specific effects along the septo-temporal axis of the hippocampus which may not be identified by neuronal markers expressed during multiple stages of development.

To address this question, we used two paradigms known to reliably modulate neurogenesis: an environmental enrichment and the Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) regimen with concomitant treatment with the Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (SSRI) fluoxetine. Changes in cell survival and proliferation along the septo-temporal axis were respectively assessed using BrdU and Ki-67 labeling in five subdivisions along the septo-temporal axis of the hippocampus. In order to quantify distinct populations of newborn neurons according to their stage of maturation, we also performed triple labeling for Doublecortin (DCX), Prox-1 and Calretinin (CR). Since CR is only transiently expressed in immature neurons at post-mitotic stage (Brandt et al., 2003), whereas DCX is expressed in type 2b/3 neuronal progenitors but also in early post-mitotic immature neurons, this allowed us to quantify the number of type 2b/3 progenitors and immature neurons (Figure 1B). The proportion of DCX-expressing cells that reached a post-mitotic stage was also quantified as an index of maturation or stage-specific survival along the septo-temporal axis of the hippocampus.

Here we show that whereas UCMS and fluoxetine treatment affect both septal and temporal neurogenesis but in a stage-specific manner, enrichment stimulates neurogenesis and promotes the maturation of newborn neurons specifically in the septal hippocampus.

MATERIAL AND METHODS

Animals

Male BALB/cByJ mice aged 7 weeks obtained from the Centre d'Elevage Janvier (Le Genest Saint Isle, France) were used in this study. All animals were group-housed (4–5 per cage) and kept under standard conditions (12/12 h light–dark cycle –lights on at 9:00/off at 21:00–, 22 ± 1 °C, food and water *ad libitum*) in standard cages (42 cm × 27 cm × 16 cm) with shelter for one week prior to the start of the experiment. Animal care and treatment were all in accordance with the European Community Council directive 86/609/EEC.

Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) and antidepressant treatment

A first cohort of mice was used for the UCMS experiment (Figure 1A). Mice were divided into 4 groups: Control-Vehicle, Control-Fluoxetine, UCMS-Vehicle and UCMS-Fluoxetine ($n = 8$ per group). UCMS-exposed mice were isolated in individual cages (24 cm × 11 cm × 12 cm) while non-stressed controls were kept group-housed in standard cages. The UCMS regimen used in our study is based on the Chronic Mild Stress procedure developed in rats by (Willner et al., 1992) and adapted to mice from previous studies (Ducottet et al., 2003; Mineur et al., 2003; Santarelli et al., 2003; Ducottet and Belzung, 2004; Pothion et al., 2004).

Stressed mice were repeatedly exposed to various psycho-social stressors of mild intensity according to a semi-random schedule for four weeks. Stressors used consisted in successive sawdust changes, removal of sawdust, damping the sawdust, substitution of sawdust with water (21 °C), tilting the cages by 45°, placing a mouse into a cage that has been previously occupied by another mouse, restraint stress in small tubes for 1 h and changes in length or time of light/dark cycle.

Concomitant with the start of the UCMS procedure and until sacrifice all animals were treated daily (i.p, 10ml/kg) with either Fluoxetine hydrochloride (20mg/kg prepared in saline; Sequoia Research Products) or Vehicle (saline).

This UCMS paradigm has been shown to induce reliable impairments of hippocampal neurogenesis in BALB/C mice which are prevented by fluoxetine treatment (Surget et al., 2008; Nollet et al., 2012; Tanti et al., 2012).

Environmental enrichment

A second cohort of animals was used for the enrichment experiment (Figure 1A). Mice were divided into 2 groups: Enriched Environment and Standard Housing (n=8 per group). Enrichment was conducted as previously described (Tanti et al., 2012) for a period of four weeks. Enriched mice were group-housed (5 per cage) in larger cages than controls (53 × 38 × 26 cm) containing objects such as plastic tubes in which mice could climb and use to navigate through the cage, a running wheel, rodent dwellings and nesting material. Various novel objects of different shape and size were added two times a week. Mice had access to food and water *ad libidum*. This paradigm has been shown to reliably stimulate neurogenesis in BALB/C mice (Tanti et al., 2012).

BrdU labeling

In order to label and assess the survival of 4 weeks old newborn cells all animals were given 4 i.p injections spaced 2 hours apart with the thymidine analogue 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU; 4x75mg/kg prepared in saline; Sigma-Aldrich) two days prior to the start of the UCMS procedure.

Tissue processing and immunohistochemistry

After deep anesthesia (Sodium pentobarbital, 40 mg/kg), mice were transcardially perfused with heparinized saline (0.9% sodium chloride, 1000 UI heparin) for 2 min followed by 4% paraformaldehyde (PFA)/0.1 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.4) for 5 min. Brains were collected and post-fixed 2 h in 4%PFA/0.1 M PBS at 4 °C, and then cryoprotected in 20% sucrose/0.1 PBS at 4 °C. To optimize the septo-temporal dissociation, serial horizontal sections (40 µm thick) were cut with a cryostat (Leica CM 3050S) and every fourth section was collected and stored in PBS (0.1 M, pH 7.4) until free-floating processing.

Different markers were then used to identify and quantify newborn cells (Figure 1B). BrdU was used to label 4 weeks old cells and assess changes in cell survival following UCMS, fluoxetine treatment and enrichment. Ki-67 was used to label proliferative cells. Triple labeling for DCX, Prox1 and CR was then performed to quantify neuronal progenitors (DCX+/Prox1+ cells) and post-mitotic neurons (DCX+/Prox1+/CR+ cells). Since CR is expressed in immature neurons but also in inter-neurons and mossy cells Prox1 was mainly used as a control to specify the neuronal phenotype of CR+ cells.

Immunohistochemistry for the proliferation marker Ki-67 was visualized with DAB. Sections were treated in 3% H₂O₂/50% ethanol for 20 min, rinsed in PBS (0.1 M, pH 7.4) and incubated with a rabbit anti-Ki-67 polyclonal antibody (1:1000, Abcam) for 40 h at room temperature in blocking solution (0.1M PBS/0.2% Triton/3% horse serum). Sections were then rinsed and incubated 2h with a donkey anti-rabbit biotinylated antibody (1:500, Jackson ImmunoResearch) in blocking solution followed by amplification with an avidin–biotin complex (Elite ABC kit, Vector Laboratories) and visualized with DAB (Sigma–Aldrich). After washing with PBS, sections were mounted on gelatin-coated slides, dried, dehydrated and coverslipped.

For fluorescent BrdU labeling sections were first treated with 2 N HCL for 45 min at room temperature, rinsed in PBS, and incubated overnight with a rat anti-BrdU antibody (1:200, Santa Cruz) in blocking solution at room temperature. After washing in PBS, sections were incubated with a donkey anti-rat fluorochrome-conjugated Alexa-488 antibody (1:500, Invitrogen) for 2 hours at room temperature, rinsed, and mounted on slides with Vectashield mounting medium (Vector Laboratories).

For DCX, Prox1 and Calretinin triple labeling sections were incubated for 40h at room temperature with the following antibodies: goat anti-DCX (1:500, Santa Cruz), rabbit anti-Prox1 (1:1500, Abcam) and mouse anti-Calretinin (1:500, Swant) in blocking solution. After rinsing with PBS sections were incubated for 2 hours at room temperature with the following secondary antibodies: Alexa-488 donkey anti-goat, Alexa-555 donkey anti-rabbit and Alexa-647 donkey anti-mouse (1:500, Invitrogen) in blocking solution. Sections were then rinsed and mounted onto slides under Vectashield mounting medium (Vector Laboratories).

Topographical division of the hippocampus along the septo-temporal axis and cell counting

To quantify regional changes in neurogenesis following UCMS, fluoxetine treatment or environmental enrichment horizontal sections were assigned to 5 subdivisions (Figure 1C) along the dorsoventral axis of the brain: Septal 1 (~ -2.04 mm below bregma, anterior half of the dentate gyrus), Septal 2 (~ -2.04 mm below bregma, posterior half of the dentate gyrus), Intermediate (~ -2.36 mm below bregma), Temporal 1 (~ -3.44 mm below bregma) and Temporal 2 (~ -4.28 mm below bregma). Because of the curvature of the hippocampus which extends rostro-caudally and also dorso-ventrally, this allowed us to segregate septal and temporal divisions of the dentate gyrus without the drawbacks of extracting the whole hippocampus from the brain and maybe more precisely than coronal sections. Indeed while anterior coronal sections accurately include the septal hippocampus, posterior sections include both temporal (ventrally located) but also what can be considered dorsal to intermediate divisions of the hippocampus. While horizontal sections have the same drawback in the dorsal most sections where the hippocampus extends horizontally (Figure 1C, Septal 1 and 2, ~ -2.04 mm below bregma), given the shape of the dentate gyrus in such sections it is however easier to segregate its anterior and posterior parts.

Cell counting and density measurements were performed with an epifluorescence microscope with ApoTome (Imager.Z2, Zeiss) and AxioVision software (Zeiss) under a x40 lens. For each regional subdivision two successive representative sections per animal were used and 20 μm thick z-series images of the whole dentate gyrus were acquired with a 1- μm interval between planes. Every positive cell within this 20 μm thickness of the granule cell layer was counted and the density of labeled cells for each section was calculated by dividing the number of positive cells by the respective volume of the dentate gyrus (surface x 20 μm). Values of representative sections for each animal were then averaged to yield the density of labeled cells for each subdivision. Colocalization of DCX, Prox1 and CR were verified for each cell in reconstructed z-series using planes in which the soma of the cell was included.

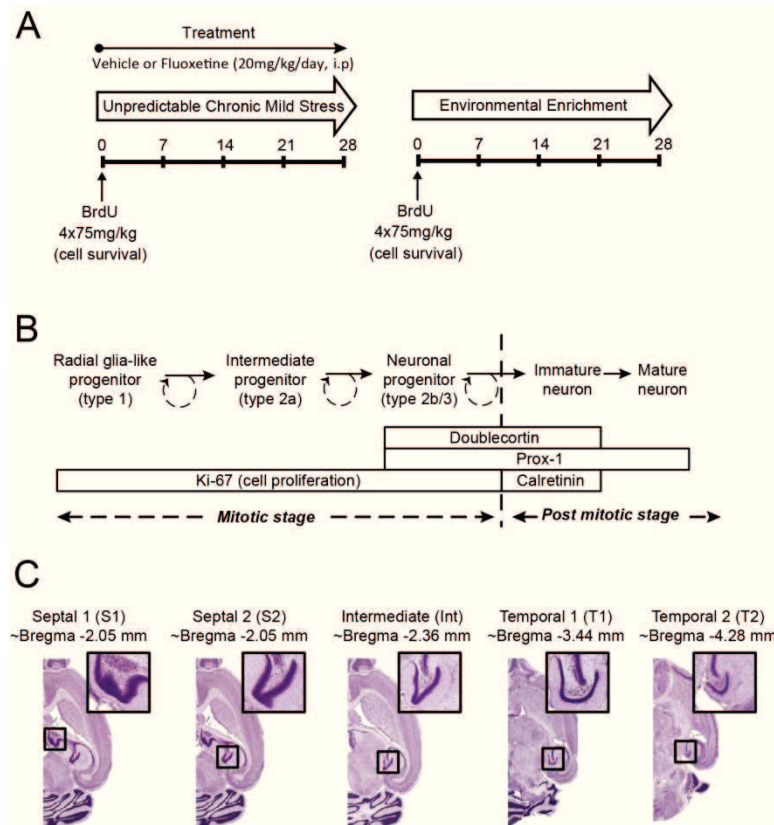


Figure 1. Schematic representations of the experimental design, cell markers and topographical divisions of the hippocampus used in this study. (A) Experimental design. Mice were either exposed to the Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS) model of depression or kept in standard conditions for 28 days. Both groups were either treated daily with fluoxetine (20mg/kg/day, i.p) or vehicle (0.9% NaCl) until the end of the experiment. A second cohort of animals was divided into two groups in which mice were either housed in an enriched environment (EE) or kept in standard housing for 28 days. In both experiments BrdU injections (4x75mg/kg) were made two days prior to the start of the experiment in order to assess cell survival. **(B)** Schematic representation of the cell markers used in this experiment. At the end of both experiments animals were sacrificed and immunohistochemistry with Ki-67 was performed to quantify the number of proliferating cells. Triple labeling with doublecortin (DCX), Prox-1, and calretinin (CR) was used to quantify the density of neuronal progenitors (DCX+/Prox-1+/CR- cells) and immature neurons that reached a post-mitotic stage (DCX+/Prox-1+/CR+ cells). **(C)** Topographical divisions of the hippocampus along its septo-temporal axis used in both experiments to quantify the regional changes in neurogenesis induced by UCMS, EE and fluoxetine treatment. Images and coordinates are adapted from Paxinos and Franklin's mouse brain atlas (Franklin and Paxinos, 2008).

Statistical analysis

Given that the assumptions for parametric analyses were not ensured (normality and homoscedasticity) non-parametric statistical tests were performed. Between groups effects were assessed by the Kruskal-Wallis one-way ANOVA by ranks followed by the Mann-Whitney U test for two-by-two comparisons. Differences in neurogenesis and maturation between the topographical subdivisions of the hippocampus for each group were assessed by Friedman's repeated measures ANOVA by ranks followed by Wilcoxon's signed rank test for two-by-two comparisons. Significance threshold was set at $p < 0.05$. All data are expressed as mean $\pm$ standard error of the mean (SEM).

RESULTS

Chronic stress, fluoxetine treatment and environmental enrichment differentially regulate cell proliferation and survival along the septo-temporal axis of the hippocampus

To assess the regional changes in cell proliferation induced by chronic stress, fluoxetine treatment and enrichment, the density of Ki-67 positive cells was quantified along the septo-temporal axis of the hippocampus (Figure 2). Exposure to UCMS significantly reduced the density of dividing cells all along the septo-temporal axis (S1: $p < 0.05$; S2: $p < 0.01$; Intermediate: $p < 0.05$; T1 and T2: $p < 0.05$; UCMS-Vehicle versus Control-Vehicle, Figure 2A). These effects were all reversed by fluoxetine in UCMS mice (S1: $p < 0.01$; S2, Int, T1 and T2: $p < 0.05$; UCMS-Fluoxetine versus UCMS-Vehicle, Figure 2A). Interestingly, chronic fluoxetine treatment in control mice stimulated proliferation only in the most temporal part of the hippocampus (T2: $p < 0.05$; Control-Fluoxetine versus Control-Vehicle, Figure 2A). Exposure to the enriched environment however stimulated cell proliferation only in the septal part of the hippocampus (S1: $p < 0.05$; S2: $p < 0.01$; Enriched Environment versus Standard Housing, Figure 2B).

The density of 4 weeks old newborn cells was then quantified to investigate regional changes in cell survival following UCMS, fluoxetine treatment and enrichment. UCMS exposure decreased cell survival only in the most septal division (S1: $p < 0.01$, UCMS-Vehicle versus Control-Vehicle, Figure 2C) and both temporal divisions (T1: $p < 0.01$; T2: $p < 0.05$; UCMS-Vehicle versus Control-Vehicle, Figure 2C). Concomitant treatment with fluoxetine in UCMS mice only reversed this decrease in the temporal subdivisions of the hippocampus (T1 and T2: $p < 0.01$; UCMS-Fluoxetine versus UCMS-Vehicle, Figure 2C). In control mice fluoxetine treatment stimulated cell survival only in the first temporal division (T1: $p < 0.05$; Control-Fluoxetine versus Control-Vehicle, Figure 2C) whereas in animals housed in an enriched environment the density of 4 weeks old BrdU positive cells was importantly increased only in the septal parts of the hippocampus (S1 and S2: $p < 0.05$; Enriched Environment versus Standard Housing, Figure 2D).

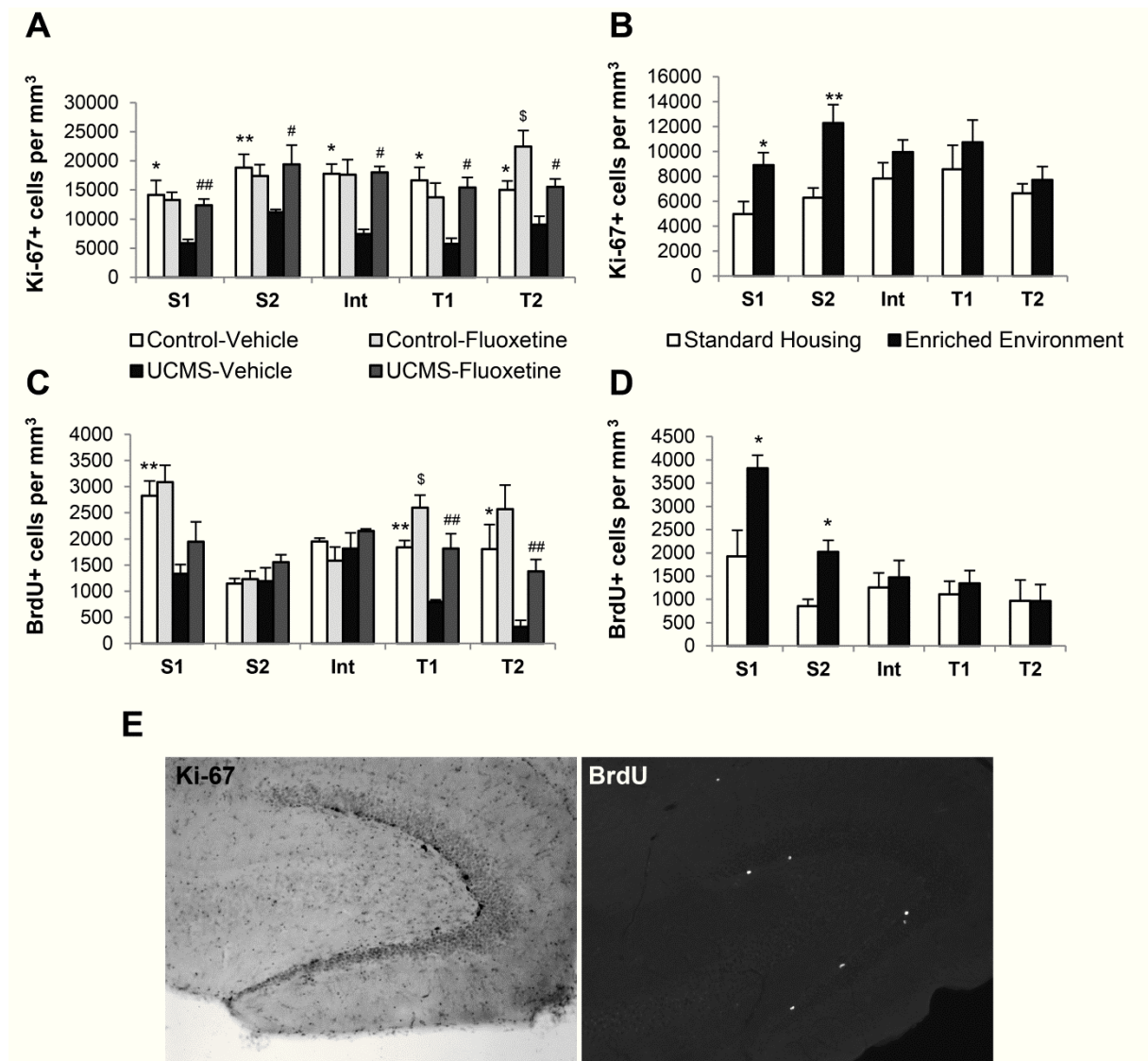


Figure 2. Effects of UCMS, fluoxetine treatment and EE on cell proliferation and cell survival in the dentate gyrus along the septo-temporal axis of the hippocampus. (A) UCMS decreased the density of Ki-67+ cells all along the septo-temporal axis. Fluoxetine treatment reversed all the UCMS-induced effects but in control mice increased the density of ki-67 cells specifically in the T2 division. (B) EE increased the density of Ki-67+ cells specifically in both septal divisions (S1 and S2). (C) The density of BrdU+ four week old newborn cells was decreased by UCMS in both septal (S1) and temporal (T1 and T2) divisions. These effects were reversed by fluoxetine treatment only in the temporal divisions whereas in control mice fluoxetine treatment increased the density of BrdU+ cells only in the T1 division. (D) EE increased the density of BrdU+ cells specifically in the septal divisions. Data represent mean $\pm$ SEM, $n=6-8$ per group. Kruskal Wallis followed by Mann Whitney U test: **: $p<.01$; *: $p<.05$ for Control-Vehicle versus UCMS-Vehicle groups or Standard Housing versus Enriched Environment; #: $p<.05$ for UCMS-Vehicle versus UCMS-Fluoxetine groups; \$: $p<.05$ for Control-Vehicle versus Control-Fluoxetine groups. (E) Representative photographs of the Ki-67 and BrdU immunolabeling.

Region and stage-specific effects of chronic stress, fluoxetine treatment and enrichment on neurogenesis

To further specify these effects and investigate whether chronic stress, antidepressant treatment and environmental enrichment affected different populations of newborn cells and whether these effects were similar along the septo-temporal axis of the hippocampus, triple labeling for DCX, Prox1 and CR was performed. Two distinctive subpopulations according to their stage of maturation were quantified: type 2b/3 progenitor cells (DCX+/Prox1+/CR-) and immature neurons that reached a post-mitotic stage (DCX+/Prox1+/CR+) (Figure 3).

UCMS exposure significantly reduced the density of progenitor cells only in the most temporal part of the hippocampus (T2: $p < 0.05$; UCMS-Vehicle versus Control-Vehicle, Figure 3A), an effect reversed by fluoxetine (T2: $p < 0.05$; UCMS-Fluoxetine versus UCMS-Vehicle, Figure 3A). However no effect of fluoxetine was found in control animals. Interestingly, whereas UCMS affected the density of progenitor cells only in the temporal hippocampus, UCMS exposure significantly decreased the density of immature neurons in both the most septal and temporal subdivisions (S1: $p < 0.05$; T2: $p < 0.05$; UCMS-Vehicle versus Control-Vehicle, Figure 3C). Both these decrease were also prevented by fluoxetine treatment (S1: $p < 0.05$; T2: $p < 0.05$; UCMS-Fluoxetine versus UCMS-Vehicle, Figure 3C).

On the other hand, environmental enrichment did not affect the density of progenitor cells (Figure 3B) but importantly increased the density of immature neurons in the most septal division of the hippocampus (S1: $p < 0.05$; Enriched environment versus Standard Housing, Figure 3D).

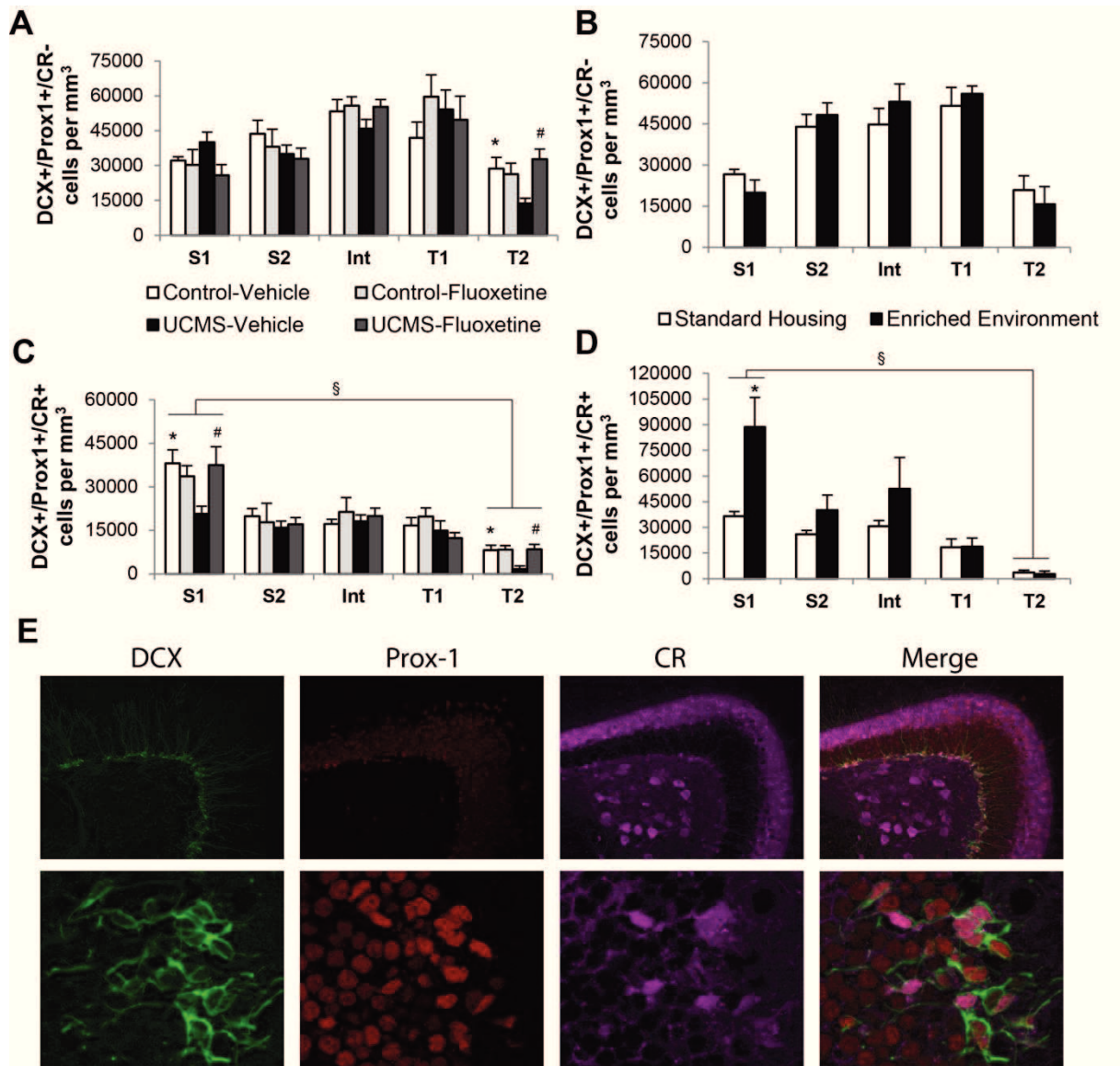


Figure 3. Effects of UCMS, fluoxetine treatment and EE on the number of neuronal progenitors and post-mitotic immature neurons along the septo-temporal axis of the hippocampus. (A) The density of DCX+/Prox-1+/CR- neuronal progenitors was decreased by UCMS specifically in the T2 division. This effect of reversed by fluoxetine but no effect of treatment was found in control animals. (B) No effect of EE on the number of neuronal progenitors was found along the septo-temporal axis of the hippocampus. (C) UCMS decreased the number of DCX+/Prox-1+/CR+ immature neurons in both S1 and T2 divisions. This effect was reversed by fluoxetine but no effect of treatment was found in control animals. (D) EE increased the number of immature neurons specifically in the S1 division. (C and D) A higher density of immature neurons was found in the S1 division compared to the S2 division for all groups. Data represent mean $\pm$ SEM, $n=4-6$ per group. Kruskal Wallis followed by Mann Whitney U test: *: $p<.05$ for Control-Vehicle versus UCMS-Vehicle groups or Standard Housing versus Enriched Environment; #: $p<.05$ for UCMS-Vehicle versus UCMS-Fluoxetine groups; Friedman followed by Wilcoxon's two-by-two comparisons: §: $p<.05$ for S1 versus S2 for all groups. (E) Representative photographs of the DCX/Prox-1/CR triple labeling at x10 (upper lane) and x60 (lower lane) magnification.

We then looked whether these changes were associated to modifications in the proportion of immature neurons (Figure 4). The proportion of DCX+ cells that reached a more mature stage and co-expressed the post-mitotic marker CR was significantly reduced following UCMS exposure in the most septal division of the hippocampus (S1: $p < 0.05$, UCMS-Vehicle versus Control-Vehicle, Figure 4A) whereas no effect was found in temporal divisions. Fluoxetine treatment reversed this decrease in UCMS mice (S1: $p < 0.05$; UCMS-Fluoxetine versus UCMS-Vehicle, Figure 4A) but had no effect in control animals. Finally, animals that were housed in an enriched environment displayed a significant increase in the proportion of immature neurons among DCX+ cells in the septal hippocampus (S1: $p < 0.05$; Enriched environment versus Standard Housing, Figure 4B).

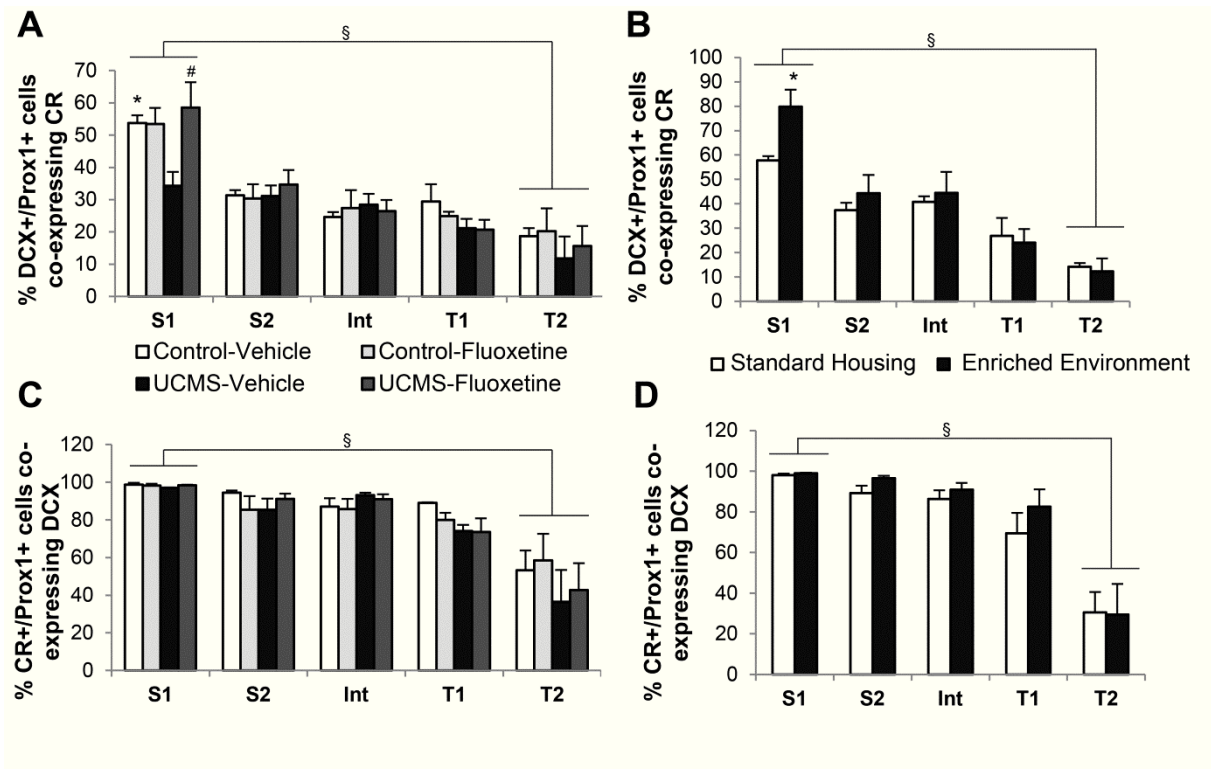


Figure 4. Proportions of DCX+/Prox1+ cells that reached a more mature stage and CR+/Prox1+ immature neurons co-expressing DCX along the septo-temporal axis of the hippocampus. (A) UCMS decreased the proportion of DCX+/Prox1+ that reached a more mature stage and co-expressed CR specifically in the S1 division. This effect was reversed by fluoxetine but no effect of treatment was found in control animals. **(B)** EE increased the proportion of DCX+/Prox1+ cells co-expressing the more mature marker CR specifically in the S1 division. **(A and B)** The proportion of CR+ immature neurons within the total DCX+/Prox1+ cell population was higher in the S1 division compared to T2. **(C and D)** No effect of UCMS, fluoxetine or EE was found on the proportion of CR+/Prox1+ cells co-expressing DCX along the septo-temporal axis of the hippocampus. Whereas almost every CR+/Prox1+ cell in the septal divisions co-expressed DCX there was a gradual decrease in this proportion and significantly less CR+/Prox1+ cells co-expressing DCX in the T2 division compared to S1. Data represent mean $\pm$ SEM, $n=4-6$ per group. Kruskal Wallis followed by Mann Whitney U test: *: $p<.05$ for Control-Vehicle versus UCMS-Vehicle groups or Standard Housing versus Enriched Environment; #: $p<.05$ for UCMS-Vehicle versus UCMS-Fluoxetine groups; Friedman followed by Wilcoxon's two-by-two comparisons: §: $p<.05$ for S1 versus S2 for all groups.

Gradients of neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus

Whereas in both experiments no difference in cell proliferation, cell survival and in the number of progenitor cells was observed between the different subdivisions of the hippocampus (Figure 2 and Figure 3A, 3B), we found a gradual decrease in the density of immature neurons along its septo-temporal axis (Friedman ANOVA, $p < 0.05$ for all groups; Figure 3C and 3D) with a lower density of DCX+/Prox1+/CR+ cells in the last temporal division compared to the most septal one (S1 versus T2: $p < 0.05$ for all groups, Figure 3C and 3D). This is consistent with the decreased proportion of DCX+ cells that reached a post-mitotic stage and co-expressed CR along the septo-temporal axis (Friedman ANOVA, $p < 0.05$ for all groups; Figure 4A and 4B) with a lower proportion in the temporal part compared to the septal part of the hippocampus (S1 versus T2: $p < 0.05$ for all groups; Figure 4A and 4B). In addition, whereas in the septal hippocampus almost every CR+/Prox1+ cell co-expressed DCX, in the temporal hippocampus we found a significantly more important proportion of CR+/Prox1+ cells not expressing DCX (S1 versus T2: $p < 0.05$ for all groups; Figure 4C and 4D).

Table 1 Summary of the effects induced by EE, four weeks fluoxetine treatment (20mg/kg, ip) and UCMS on different steps of neurogenesis.

	Ki67 (cell proliferation)		BrdU (cell survival)		DCX+/Prox1+/CR- (neuronal progenitors)		DCX+/Prox1+/CR+ (post-mitotic immature neurons)	
	Septal	Temporal	Septal	Temporal	Septal	Temporal	Septal	Temporal
EE	↗↗	=	↗↗	=	=	=	↗	=
Fluoxetine	=	↗	=	↗	=	=	=	=
UCMS - Fluoxetine	↘↘-R	↘↘-R	↘	↘↘-R	=	↘-R	↘-R	↘-R

Arrows indicate a significant decrease (↘) or increase (↗) in the density of the respective population assessed. The number of arrows corresponds to the number of septal or temporal divisions in which changes were observed. R indicates that the UCMS-induced effects were reversed by fluoxetine treatment.

DISCUSSION

This study was conducted to investigate whether different environmental manipulations known to modulate cognitive and emotional hippocampal functions would induce regional and stage-specific changes in neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus.

Results are summarized in Table 1. We found that: 1) enrichment stimulated cell proliferation, increased the survival of newborn cells and increased the number and proportion of immature neurons within the total population of DCX+ cells specifically in the septal hippocampus. 2) Inversely, fluoxetine treatment in control mice stimulated proliferation and cell survival only in the temporal hippocampus without affecting the number of progenitors or immature neurons. 3) UCMS decreased cell proliferation, immature neuron number and survival of newborn cells all along the septo-temporal axis, while reducing progenitors only in the septal pole. Those UCMS-induced effects were almost all reversed by fluoxetine treatment. 4) Lastly, there was a decrease in the number and proportion of immature neurons in the temporal hippocampus compared to septal divisions.

Differential regulation of cell proliferation and survival by UCMS, fluoxetine treatment and environmental enrichment along the septo-temporal axis

Our results indicate that UCMS, fluoxetine treatment and enrichment differentially regulate cell proliferation and survival along the septo-temporal axis, possibly suggesting different mechanisms involved in the regulation of neurogenesis between the septal and temporal poles of the hippocampus.

Given its interactions with the HPA axis and the limbic system, it has been suggested that the temporal hippocampus might be more vulnerable to the effects of stress and preferentially involved in the effects of antidepressants. Our results indicate otherwise and suggest that neurogenesis in both septal and temporal divisions of the hippocampus might be associated to stress-related disorders and to the effects of antidepressants. Indeed in our study UCMS decreased proliferation and survival uniformly along the septo-temporal axis, and most of these effects were reversed by fluoxetine treatment in both septal and temporal divisions. Additionally, EE is a behavioral manipulation known to have antidepressant and anxiolytic properties (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Fox et al., 2006; Laviola et

al., 2008; Brenes et al., 2009) and importantly stimulated proliferation and survival of newborn cells specifically in the septal divisions of the hippocampus. As it was suggested that both fluoxetine (Santarelli et al., 2003; Airan et al., 2007; Surget et al., 2008, 2011; David et al., 2009) and enrichment (Schloesser et al., 2010) may exert their mood improving effects by recruiting hippocampal newborn neurons, neurogenesis in both septal and temporal divisions may therefore contribute to some extent to these effects, possibly by enhancing distinct hippocampal functions. Others have also highlighted an indirect link between neurogenesis in the septal hippocampus in depressive-like behavior or antidepressant treatment. Learned helplessness, which is a known model of depression, was found to impair cell proliferation and survival specifically in the most anterior third of the hippocampus (Ho and Wang, 2010).

Changes in the expression of neurotrophic factors, which seem implicated in the pathophysiology of depression, the action of antidepressants and the regulation of neurogenesis (Schmidt and Duman, 2007) have also been reported in both septal and temporal divisions of the hippocampus in different models of depression and following antidepressant treatment (Faure et al., 2007; Marais et al., 2008; Soumier et al., 2009; Larsen et al., 2010). Moreover, knockdown of BDNF specifically in the dorsal dentate gyrus but also in the ventral subiculum both lead to depressive-like behavior (Taliaz et al., 2010). It seems therefore that the relation between region-specific changes in neurogenesis, neurotrophic factors and depressive-like behavior is rather more complex and that both septal and temporal divisions may contribute to the pathophysiology of depression and the effects of antidepressants.

Interestingly in our experiment while fluoxetine reversed the UCMS-induced effects in both septal and temporal divisions, chronic fluoxetine treatment only affected proliferation and survival in the temporal divisions in control mice. Differential effects of fluoxetine between control animals and challenged animals have already been reported (David et al., 2009; Rainer et al., 2011; Nollet et al., 2012). These state-dependent effects as well as the clear dissociation between the effects of fluoxetine in control mice and the effects of EE suggest that, rather than one mechanism, multiple factors could contribute to the regulation of neurogenesis but in a region-specific manner. While it is only

speculative, regional differences in monoaminergic, glutamatergic and GABAergic transmission (Gage and Thompson, 1980; Jinno and Kosaka, 2006, 2010) as well as in the expression or function of various 5-HT receptors, such as 5-HT1A, 5-HT2C or 5-HT2B (Tanaka et al., 2012) which have been linked to the pro-neurogenic effects of antidepressants (Santarelli et al., 2003; Banasr et al., 2004; Soumier et al., 2009; Klempin et al., 2010; Diaz et al., 2012) may likely account for some of those differences. Among other factors, the detrimental and pro-neurogenic effects of chronic stress, antidepressants and enrichment/exercise have also all been linked to glucocorticoids (Montaron et al., 2003; Wong and Herbert, 2006; Oomen et al., 2007; Anacker et al., 2011) (Schloesser et al., unpublished data). Topographical differences in glucocorticoid receptors regulation and function (Robertson et al., 2005; Maggio and Segal, 2009; Lin et al., 2012) may therefore possibly account for those results.

Gradients of neurogenesis and stage-specific effects of UCMS and environmental enrichment along the septo-temporal axis of the hippocampus

Such region-specific effects could also be linked to gradients of neurogenesis and maturation as well as distinct functional properties of newborn neurons in the septal and temporal hippocampus. In our study, despite no difference between septal versus temporal subdivisions in the number of proliferative cells, neural progenitors or four weeks old newborn cells, there was a lower number of immature neurons in the temporal pole of the hippocampus and a decrease in the proportion of progenitors reaching a more mature stage and expressing the post-mitotic marker CR, suggesting a slower rate of maturation or cell cycle exit of newborn neurons in the temporal hippocampus. Consistent with our results gradients of neurogenesis (Tashiro et al., 2007; Snyder et al., 2009; Jinno, 2011) as well as gradients in maturation of newborn neurons along the septo-temporal axis of the hippocampus (Piatti et al., 2011) have already been described. By using morphological and electrophysiological characterizations in combination with endogenous markers, Piatti et al. (2011) showed that new neurons in the temporal hippocampus mature more slowly than in the septal hippocampus and that this could be linked to differences in the intrinsic excitability of newborn neurons and local changes in network activity. Such gradients of maturation and electrophysiological properties may suggest that

environmental factors could differentially affect the developmental stages of newborn neurons along the septo-temporal axis. Accordingly, we found that in the septal hippocampus chronic stress decreased the density of immature neurons without affecting the pool of neuronal progenitors. In the temporal hippocampus however, chronic stress exposure decreased both progenitors and post-mitotic immature neurons. In addition, the decreased proportion of DCX+ cells co-expressing CR following UCMS in the septal hippocampus may indicate that chronic stress decreases the rate of maturation of progenitors into immature neurons specifically in that region but affects anterior stages of neuronal development in the temporal hippocampus. Alternatively, changes in the number of immature neurons in the septal hippocampus may also be linked to a stage-specific decrease in cell survival rather than changes in the maturation of newborn neurons, even if our experiment does not allow to identify the cell populations in which survival would be more affected by stress and enrichment, reflecting the changes in BrdU+ cells we observed. Additional indices of maturation, such as assessment of the morphological properties of DCX+ cells dendritic arborization could have helped dissociating these effects. It is nonetheless the first study to our knowledge to report stage-specific effects of chronic stress on neurogenesis along the septo-temporal axis of the hippocampus.

Similarly, we found that enrichment preferentially increased the number of immature neurons without affecting the number of neural progenitors and consequently increased the proportion of post-mitotic neurons specifically in the dentate gyrus of the septal hippocampus. This result contrasts with the study by Piatti et al., (2011) which found an increased maturation of newborn neurons following exercise that was specific to the temporal pole. Although the combination of CR and DCX markers has previously been used to assess changes in maturation and cell cycle exit (Brandt et al., 2010) following voluntary exercise, the fact that some studies have reported drops in the expression of CR in the mouse temporal hippocampus (Liu et al., 1996; Jinno, 2011) may suggest that CR might not be optimal to assess regional changes in neurogenesis or maturation. However, despite these two reports we found an important number of CR+ cells in the temporal hippocampus and their neuronal phenotype was specified by co-expression of the granular cell marker Prox-1. It is noteworthy that whereas in the septal hippocampus almost every CR+ cell co-expressed DCX, in the temporal

hippocampus an increased proportion of CR+ cells did not express DCX, maybe suggesting that newborn neurons in the temporal hippocampus express CR for a longer period of time, thus confirming a differential rate of maturation along the septo-temporal axis. Alternatively newborn neurons in the temporal hippocampus might actually mature faster out of the DCX-expressing time window. In our experiment however neither stress nor enrichment and antidepressant treatment modified this proportion.

Interestingly, our results show that changes in the number of proliferative and 4-week-old newborn cells following UCMS or EE exposure do not necessarily correlate with changes in the number of mitotic DCX+ neural progenitors. Similarly, while fluoxetine reversed the UCMS-induced effects and stimulated cell proliferation and survival in the temporal hippocampus of control mice, it did not affect the number of progenitors or immature neurons in neither septal nor temporal divisions. Consistent with these results Wang et al. (2008) previously shown that chronic fluoxetine treatment increased the number of proliferative cells and the survival of newborn cells in the dentate gyrus without affecting the total number of DCX+ cells. Rather fluoxetine increased the proportion of new neurons displaying a mature phenotype and shortened the time window of DCX expression thus increased the rate of maturation of newborn neurons. Other studies also showed that an increased number of proliferative cells and new mature neurons following antidepressant treatment could be associated with decreased numbers of immature neurons (Banasr et al., 2006; Klempin et al., 2010). Multifold and confounding effects of fluoxetine, EE and UCMS on distinct steps in the development of newborn neurons may therefore have blurred some of our results. While additional stage-specific markers may therefore be required to fully understand the precise changes in distinct newborn cell populations following UCMS, fluoxetine treatment and enrichment, it is noteworthy that these effects occurred differentially along the septo-temporal axis of the hippocampus, suggesting distinct properties of newborn neurons or different mechanisms involved in their regulation.

Conclusion

In this study we show that UCMS, fluoxetine treatment and environmental enrichment have distinct region-specific effects on neurogenesis. In view that stimulation of newborn neurons is thought to be important for the behavioural effects of both antidepressant treatment and environmental enrichment and given the functional heterogeneity of the hippocampus this could be of particular relevance. While there is still much debate regarding the implication of neurogenesis in stress-related and mood disorders (Petrik et al., 2012), suppression of neurogenesis has been shown to impair hippocampal functions underlain by both septal and temporal divisions of the hippocampus, such as spatial learning (Goodman et al., 2010), discrimination of overlapping contexts (Sahay et al., 2011) cognitive flexibility (Burghardt et al., 2012), termination of the stress response (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011; Surget et al., 2011) or anxious behaviors (Revest et al., 2009). Regional changes in neurogenesis could potentially correlate to specific functional changes and contribute differently to the pathophysiology of stress-induced affective disorders and cognition. Supporting this view we show that UCMS did not affect the same newborn cells populations in those two areas. While the functional significance of such stage-specific effects is not clear, differential properties of newborn neurons in septal and temporal divisions may confer them distinct and complementary abilities to modulate hippocampal network activity (Airan et al., 2007; Lacefield et al., 2012) and contribute to hippocampal functions. A better understanding of the mechanisms involved in such differential region-specific regulation of neurogenesis may be a useful approach to study the role of newborn neurons.

References

- Airan, R.D., Meltzer, L.A., Roy, M., Gong, Y., Chen, H., and Deisseroth, K. (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 317, 819–823.
- Alonso, R., Griebel, G., Pavone, G., Stemmelin, J., Le Fur, G., and Soubrié, P. (2004). Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol. Psychiatry* 9, 278–286, 224.
- Amaral, D.G., and Witter, M.P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience* 31, 571–591.
- Anacker, C., Zunszain, P.A., Cattaneo, A., Carvalho, L.A., Garabedian, M.J., Thuret, S., Price, J., and Pariante, C.M. (2011). Antidepressants increase human hippocampal neurogenesis by activating the glucocorticoid receptor. *Mol. Psychiatry* 16, 738–750.
- 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.
- Banasr, M., Soumier, A., Hery, M., Mocaër, E., and Daszuta, A. (2006). Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol. Psychiatry* 59, 1087–1096.
- Bannerman, D.M., Rawlins, J.N.P., McHugh, S.B., Deacon, R.M.J., Yee, B.K., Bast, T., Zhang, W.-N., Pothuizen, H.H.J., and Feldon, J. (2004). Regional dissociations within the hippocampus—memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 28, 273–283.
- 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.
- Brandt, M.D., Jessberger, S., Steiner, B., Kronenberg, G., Reuter, K., Bick-Sander, A., von der Behrens, W., and Kempermann, G. (2003). Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol. Cell. Neurosci.* 24, 603–613.
- Brandt, M.D., Maass, A., Kempermann, G., and Storch, A. (2010). Physical exercise increases Notch activity, proliferation and cell cycle exit of type-3 progenitor cells in adult hippocampal neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 32, 1256–1264.
- 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.
- Bruel-Jungerman, E., Laroche, S., and Rampon, C. (2005). New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *Eur. J. Neurosci.* 21, 513–521.
- 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.

- Burghardt, N.S., Park, E.H., Hen, R., and Fenton, A.A. (2012). Adult-born hippocampal neurons promote cognitive flexibility in mice. *Hippocampus* 22, 1795–1808.
- Cameron, H.A., and Gould, E. (1994). Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 61, 203–209.
- Cryan, J.F., Markou, A., and Lucki, I. (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* 23, 238–245.
- David, D.J., Samuels, B.A., Rainer, Q., Wang, J.-W., Marsteller, D., Mendez, I., Drew, M., Craig, D.A., Guindard, 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.
- 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.
- Ducottet, C., and Belzung, C. (2004). Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. *Physiol. Behav.* 81, 417–426.
- Ducottet, C., Griebel, G., and Belzung, C. (2003). Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27, 625–631.
- Elizalde, N., García-García, A.L., Totterdell, S., Gendive, N., Venzala, E., Ramirez, M.J., Del Rio, J., and Tordera, R.M. (2010). Sustained stress-induced changes in mice as a model for chronic depression. *Psychopharmacology (Berl.)* 210, 393–406.
- Fanselow, M.S., and Dong, H.-W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7–19.
- Faure, J., Uys, J.D.K., Marais, L., Stein, D.J., and Daniels, W.M.U. (2007). Early maternal separation alters the response to traumatization: resulting in increased levels of hippocampal neurotrophic factors. *Metab Brain Dis* 22, 183–195.
- Felice, D., O’Leary, O.F., Pizzo, R.C., and Cryan, J.F. (2012). Blockade of the GABA(B) receptor increases neurogenesis in the ventral but not dorsal adult hippocampus: Relevance to antidepressant action. *Neuropharmacology*.
- Fox, C., Merali, Z., and Harrison, C. (2006). Therapeutic and protective effect of environmental enrichment against psychogenic and neurogenic stress. *Behav. Brain Res.* 175, 1–8.
- Franklin, K.B.J., and Paxinos, G. (2008). *The Mouse brain : in stereotaxic coordinates* (San Diego [etc.]: Academic Press).
- Gage, F.H., and Thompson, R.G. (1980). Differential distribution of norepinephrine and serotonin along the dorsal-ventral axis of the hippocampal formation. *Brain Res. Bull.* 5, 771–773.
- Goodman, T., Trouche, S., Massou, I., Verret, L., Zerwas, M., Rouillet, P., and Rampon, C. (2010). Young hippocampal neurons are critical for recent and remote spatial memory in adult mice. *Neuroscience* 171, 769–778.

- Gould, E., Daniels, D.C., Cameron, H.A., and McEwen, B.S. (1992). Expression of adrenal steroid receptors by newly born cells and pyknotic cells in the dentate gyrus of the postnatal rat. *Mol. Cell. Neurosci.* 3, 44–48.
- Hawley, D.F., and Leasure, J.L. (2012). Region-specific response of the hippocampus to chronic unpredictable stress. *Hippocampus* 22, 1338–1349.
- Henke, P.G. (1990). Hippocampal pathway to the amygdala and stress ulcer development. *Brain Res. Bull.* 25, 691–695.
- Herman, J.P., and Mueller, N.K. (2006). Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behav. Brain Res.* 174, 215–224.
- Ho, Y.C., and Wang, S. (2010). Adult neurogenesis is reduced in the dorsal hippocampus of rats displaying learned helplessness behavior. *Neuroscience* 171, 153–161.
- Jayatissa, M.N., Bisgaard, C., Tingström, A., Papp, M., and Wiborg, O. (2006). Hippocampal cytotogenesis correlates to escitalopram-mediated recovery in a chronic mild stress rat model of depression. *Neuropsychopharmacology* 31, 2395–2404.
- Jinno, S. (2011). Topographic differences in adult neurogenesis in the mouse hippocampus: a stereology-based study using endogenous markers. *Hippocampus* 21, 467–480.
- Jinno, S., and Kosaka, T. (2006). Cellular architecture of the mouse hippocampus: a quantitative aspect of chemically defined GABAergic neurons with stereology. *Neurosci. Res.* 56, 229–245.
- Jinno, S., and Kosaka, T. (2010). Stereological estimation of numerical densities of glutamatergic principal neurons in the mouse hippocampus. *Hippocampus* 20, 829–840.
- Kjelstrup, K.G., Tuvnes, F.A., Steffenach, H.-A., Murison, R., Moser, E.I., and Moser, M.-B. (2002). Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 10825–10830.
- Klempin, F., Babu, H., De Pietri Tonelli, D., Alarcon, E., Fabel, K., and Kempermann, G. (2010). Oppositional effects of serotonin receptors 5-HT_{1a}, 2, and 2c in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Front Mol Neurosci* 3,.
- Kobayashi, K., Ikeda, Y., Sakai, A., Yamasaki, N., Haneda, E., Miyakawa, T., and Suzuki, H. (2010). Reversal of hippocampal neuronal maturation by serotonergic antidepressants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 8434–8439.
- Lacefield, C.O., Itskov, V., Reardon, T., Hen, R., and Gordon, J.A. (2012). Effects of adult-generated granule cells on coordinated network activity in the dentate gyrus. *Hippocampus* 22, 106–116.
- Larsen, M.H., Mikkelsen, J.D., Hay-Schmidt, A., and Sandi, C. (2010). Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the chronic unpredictable stress rat model and the effects of chronic antidepressant treatment. *J Psychiatr Res* 44, 808–816.
- Laviola, G., Hannan, A.J., Macrì, S., Solinas, M., and Jaber, M. (2008). Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol. Dis.* 31, 159–168.

- Lin, Y.-L., Lin, S.-Y., and Wang, S. (2012). Prenatal lipopolysaccharide exposure increases anxiety-like behaviors and enhances stress-induced corticosterone responses in adult rats. *Brain Behav. Immun.* 26, 459–468.
- Liu, Y., Fujise, N., and Kosaka, T. (1996). Distribution of calretinin immunoreactivity in the mouse dentate gyrus. I. General description. *Exp Brain Res* 108, 389–403.
- Maggio, N., and Segal, M. (2007). Striking variations in corticosteroid modulation of long-term potentiation along the septotemporal axis of the hippocampus. *J. Neurosci.* 27, 5757–5765.
- Maggio, N., and Segal, M. (2009). Differential corticosteroid modulation of inhibitory synaptic currents in the dorsal and ventral hippocampus. *J. Neurosci.* 29, 2857–2866.
- Mahar, I., Tan, S., Davoli, M.A., Dominguez-Lopez, S., Qiang, C., Rachalski, A., Turecki, G., and Mechawar, N. (2011). Subchronic peripheral neuregulin-1 increases ventral hippocampal neurogenesis and induces antidepressant-like effects. *PLoS ONE* 6, e26610.
- Marais, L., van Rensburg, S.J., van Zyl, J.M., Stein, D.J., and Daniels, W.M.U. (2008). Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. *Neurosci. Res.* 61, 106–112.
- Mineur, Y.S., Prasol, D.J., Belzung, C., and Crusio, W.E. (2003). Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice. *Behav. Genet.* 33, 513–519.
- Montaron, M.F., Piazza, P.V., Aurousseau, C., Urani, A., Le Moal, M., and Abrous, D.N. (2003). Implication of corticosteroid receptors in the regulation of hippocampal structural plasticity. *Eur. J. Neurosci.* 18, 3105–3111.
- Morley-Fletcher, S., Mairesse, J., Soumier, A., Banasr, M., Fagioli, F., Gabriel, C., Mocaer, E., Daszuta, A., McEwen, B., Nicoletti, F., et al. (2011). Chronic agomelatine treatment corrects behavioral, cellular, and biochemical abnormalities induced by prenatal stress in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 217, 301–313.
- Moser, M.B., and Moser, E.I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* 8, 608–619.
- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., and Morris, R.G. (1995). Spatial learning with a minilab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 9697–9701.
- Nollet, M., Gaillard, P., Tanti, A., Girault, V., Belzung, C., and Leman, S. (2012). Neurogenesis-independent antidepressant-like effects on behavior and stress axis response of a dual orexin receptor antagonist in a rodent model of depression. *Neuropsychopharmacology* 37, 2210–2221.
- O’Leary, O.F., O’Connor, R.M., and Cryan, J.F. (2012). Lithium-induced effects on adult hippocampal neurogenesis are topographically segregated along the dorso-ventral axis of stressed mice. *Neuropharmacology* 62, 247–255.
- Oomen, C.A., Mayer, J.L., de Kloet, E.R., Joëls, M., and Lucassen, P.J. (2007). Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalizes the reduction in neurogenesis after chronic stress. *Eur. J. Neurosci.* 26, 3395–3401.

- Oomen, C.A., Soeters, H., Audureau, N., Vermunt, L., van Hasselt, F.N., Manders, E.M.M., Joëls, M., Lucassen, P.J., and Krugers, H. (2010). Severe early life stress hampers spatial learning and neurogenesis, but improves hippocampal synaptic plasticity and emotional learning under high-stress conditions in adulthood. *J. Neurosci.* *30*, 6635–6645.
- Paizanis, E., Renoir, T., Lelievre, V., Saurini, F., Melfort, M., Gabriel, C., Barden, N., Mocaër, E., Hamon, M., and Lanfumey, L. (2010). Behavioural and neuroplastic effects of the new-generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptor-impaired mice. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* *13*, 759–774.
- Petrik, D., Lagace, D.C., and Eisch, A.J. (2012). The neurogenesis hypothesis of affective and anxiety disorders: are we mistaking the scaffolding for the building? *Neuropharmacology* *62*, 21–34.
- Piatti, V.C., Davies-Sala, M.G., Espósito, M.S., Mongiat, L.A., Trincherro, M.F., and Schinder, A.F. (2011). The timing for neuronal maturation in the adult hippocampus is modulated by local network activity. *J. Neurosci.* *31*, 7715–7728.
- Pothion, S., Bizot, J.-C., Trovero, F., and Belzung, C. (2004). Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behav. Brain Res.* *155*, 135–146.
- Rainer, Q., Xia, L., Guilloux, J.-P., Gabriel, C., Mocaër, E., Hen, R., Enhamre, E., Gardier, A.M., and David, D.J. (2011). Beneficial behavioural and neurogenic effects of agomelatine in a model of depression/anxiety. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 1–15.
- Revest, J.-M., Dupret, D., Koehl, M., Funk-Reiter, C., Grosjean, N., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol. Psychiatry* *14*, 959–967.
- Robertson, D.A.F., Beattie, J.E., Reid, I.C., and Balfour, D.J.K. (2005). Regulation of corticosteroid receptors in the rat brain: the role of serotonin and stress. *Eur. J. Neurosci.* *21*, 1511–1520.
- Rodriguez, J.J., Montaron, M.F., Petry, K.G., Aourousseau, C., Marinelli, M., Premier, S., Rougon, G., Le Moal, M., and Abrous, D.N. (1998). Complex regulation of the expression of the polysialylated form of the neuronal cell adhesion molecule by glucocorticoids in the rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* *10*, 2994–3006.
- Sahay, A., Scobie, K.N., Hill, A.S., O’Carroll, C.M., Kheirbek, M.A., Burghardt, N.S., Fenton, A.A., Dranovsky, A., and Hen, R. (2011). Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* *472*, 466–470.
- 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.
- 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.
- Schloesser, R.J., Manji, H.K., and Martinowich, K. (2009). Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport* *20*, 553–557.

- Schmidt, H.D., and Duman, R.S. (2007). The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav Pharmacol* 18, 391–418.
- Snyder, J.S., Radik, R., Wojtowicz, J.M., and Cameron, H.A. (2009). Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 19, 360–370.
- 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.
- Soumier, A., Banasr, M., Lortet, S., Masméjean, F., Bernard, N., Kerkerian-Le-Goff, L., Gabriel, C., Millan, M.J., Mocaer, E., and Daszuta, A. (2009). Mechanisms contributing to the phase-dependent regulation of neurogenesis by the novel antidepressant, agomelatine, in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34, 2390–2403.
- Surget, A., Saxe, M., Leman, S., Ibarguen-Vargas, Y., 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.
- Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E.D., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., Palme, R., Griebel, G., Ibarguen-Vargas, Y., Hen, R., et al. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Mol. Psychiatry* 16, 1177–1188.
- Swanson, L.W., and Cowan, W.M. (1977). An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *J. Comp. Neurol.* 172, 49–84.
- Taliaz, D., Stall, N., Dar, D.E., and Zangen, A. (2010). Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis. *Mol. Psychiatry* 15, 80–92.
- Tanaka, K.F., Samuels, B.A., and Hen, R. (2012). Serotonin receptor expression along the dorsal-ventral axis of mouse hippocampus. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 367, 2395–2401.
- 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.
- Tashiro, A., Makino, H., and Gage, F.H. (2007). Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J. Neurosci.* 27, 3252–3259.
- Thompson, C.L., Pathak, S.D., Jeromin, A., Ng, L.L., MacPherson, C.R., Mortrud, M.T., Cusick, A., Riley, Z.L., Sunkin, S.M., Bernard, A., et al. (2008). Genomic anatomy of the hippocampus. *Neuron* 60, 1010–1021.
- 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.
- Willner, P., Muscat, R., and Papp, M. (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 16, 525–534.

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.

Zuena, A.R., Mairesse, J., Casolini, P., Cinque, C., Alemà, G.S., Morley-Fletcher, S., Chiodi, V., Spagnoli, L.G., Gradini, R., Catalani, A., et al. (2008). Prenatal restraint stress generates two distinct behavioral and neurochemical profiles in male and female rats. *PLoS ONE* 3, e2170.

DISCUSSION

Ces deux dernières décennies ont été marquées par de nombreuses études établissant des liens corrélatifs entre la neurogenèse, les troubles affectifs et l'action thérapeutique des antidépresseurs. Ces observations ont conduit à formuler l'hypothèse que les perturbations de la neurogenèse associées au stress pourraient être impliquées dans certains aspects phénotypiques de la dépression, et que les effets thérapeutiques des antidépresseurs seraient médiés par la stimulation de la neurogenèse hippocampique. Bien que différentes études adressant ces liens causaux ont depuis permis d'élaborer cette hypothèse, les réponses à ces questions demeurent incomplètes. En particulier si la diminution de la neurogenèse peut dans des cas restreints affecter le comportement émotionnel et que les nouveaux neurones semblent contribuer aux effets thérapeutiques de certains antidépresseurs, les fonctions hippocampiques à travers lesquelles les nouveaux neurones pourraient agir et ainsi contribuer à ces effets demeurent mal connues.

Les dérégulations de l'axe corticotrope, en particulier la perte d'efficacité du rétrocontrôle inhibiteur visant à freiner la réponse au stress étant un trait pathophysiologique récurrent dans la dépression, nous nous sommes intéressés dans un premier temps au rôle potentiel des nouveaux neurones dans la régulation de l'axe HPA et dans la capacité d'un traitement antidépresseur à normaliser cette fonction dans un modèle murin de dépression. Nos résultats indiquent que la suppression de la neurogenèse en soi ne perturbe pas l'activité de l'axe HPA ni le rétrocontrôle inhibiteur exercé par l'hippocampe, mais qu'elle empêche cependant la capacité de la fluoxétine à contrecarrer les effets du stress sur ces fonctions. Parallèlement, bien que cela ne se traduise pas par un effet direct sur l'activité de l'axe HPA, les nouveaux neurones semblent contribuer à la modulation de l'activité neuronale induite par l'initiation du rétrocontrôle hippocampique dans l'ambST, une structure servant de relais pour l'influence inhibitrice de l'hippocampe sur le PVN. Ces résultats mettent en avant que les nouveaux neurones peuvent contribuer à l'action thérapeutique des antidépresseurs en participant au renforcement du rétrocontrôle hippocampique sur l'axe HPA, potentiellement via leur rôle dans la modulation par l'hippocampe des circuits impliqués dans la régulation du stress.

Dans un deuxième temps nous avons souhaité savoir si l'hétérogénéité fonctionnelle observée le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe pouvait apporter des pistes afin de mieux comprendre la fonction des nouveaux neurones et leur contribution dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression. Nous avons donc étudié la régulation de la neurogenèse par le SCIM, la fluoxétine et l'environnement enrichi le long de l'axe septo-temporal. Nos résultats indiquent que différents facteurs aux propriétés antidépressantes régulent la neurogenèse différemment le long de l'axe septo-temporal. Cela suggère des mécanismes de régulation différents entre les régions septales et temporales et met en évidence que la contribution des nouveaux neurones dans les effets des

antidépresseurs pourrait être multiple et sous tendue par des composantes fonctionnelles différentes.

1. Contribution des nouveaux neurones dans la régulation de l'axe

HPA

Nos résultats confirment que la neurogenèse hippocampique semble nécessaire aux effets comportementaux des antidépresseurs sérotoninergiques, et précisent qu'un mécanisme potentiel par lequel ils contribuent à ces effets consiste au renforcement de la capacité de l'hippocampe à inhiber l'axe du stress. En effet l'ablation de la neurogenèse empêche à la fois les effets comportementaux de la fluoxétine, mais aussi la normalisation du rétrocontrôle inhibiteur de l'hippocampe sur l'axe HPA. Cela soulève deux questions qui découlent l'une de l'autre 1) La normalisation de l'axe HPA est-elle nécessaire et suffisante pour l'action thérapeutique des antidépresseurs dans notre modèle? 2) La contribution des nouveaux neurones dans l'action des antidépresseurs est-elle limitée à leur rôle dans cette fonction ? Le fait que dans notre étude, contrairement à la fluoxétine, la neurogenèse ne semble pas nécessaire à l'action thérapeutique d'un composé agissant directement sur l'axe de stress, comme l'antagoniste CRF1, pourrait suggérer que ces deux classes agissent via des mécanismes initiaux distincts mais que tous deux permettent au final le rétablissement d'une régulation de l'axe du stress adéquate et facilitent ainsi la rémission. En effet l'efficacité du rétrocontrôle inhibiteur mesuré par le test de suppression à la DEX/CRH est un des meilleurs prédicteurs d'une rémission stable après traitement chez les patients dépressifs (Appelhof et al., 2006; Kunugi et al., 2006; Ising et al., 2007).

Cependant, l'action des antagonistes CRF1 ou d'autres composés comme les antagonistes des récepteurs à la vasopressine V1b, dont les effets antidépresseurs ont été précédemment montrés comme étant indépendants de la neurogenèse (Surget et al., 2008), n'est pas limitée au système neuroendocrinien mais implique aussi des mécanismes centraux permettant de moduler les comportements affectifs (Stemmelin et al., 2005 ; Muller et al., 2003). Par ailleurs si l'ablation de la neurogenèse ne semble pas perturber la capacité des antagonistes CRF1 à contrecarrer les altérations induites par le SCIM sur le poids, le pelage, dans le splash test et la mesure anhédonique du cookie test (Surget et al., 2011, **article 1** et Surget et al., 2008), l'irradiation semble bloquer en partie les effets de l'antagoniste CRF1 dans le NSF (Surget et al., 2008). Ce dernier résultat semble donc plutôt indiquer que la contribution de la neurogenèse dans les effets des antidépresseurs pourrait être multiple et non limitée à la régulation de l'axe corticotrope.

Il est aussi nécessaire de considérer que les altérations de l'axe HPA ne sont pas présentes chez tous les patients dépressifs (Holsboer, 2000). Par ailleurs l'hypercortisolémie et l'inefficacité du rétrocontrôle inhibiteur sont plutôt représentatives de la forme clinique mélancolique de la dépression, tandis que la forme atypique pourrait même être à l'inverse caractérisée par une hypoactivité de l'axe corticotrope et une hyper-suppression de la sécrétion de cortisol à la suite du test de suppression à la DEX (Chrousos et Gold, 1992; Levitan et al., 2002). Dans ce cadre l'hypo-suppression des taux de corticostérone dans notre modèle chez les souris BALB/c ne représenterait qu'un endophénotype de la dépression. Un moyen d'évaluer si la contribution des nouveaux neurones dans l'action de la fluoxétine est limitée au renforcement de l'action inhibitrice de l'hippocampe sur l'axe HPA serait donc d'évaluer si la suppression de la neurogenèse empêche ses effets thérapeutiques chez des souris ne présentant pas d'altérations de l'axe corticotrope mais tout de même un profil dépressif-like similaire. En effet similairement à ce qui est observé dans la clinique une certaine hétérogénéité est présente dans les profils d'altérations comportementales et physiologiques induites par le SCIM (Ibarguen-Vargas et al., 2008). Si la seule contribution de la neurogenèse aux effets de la fluoxétine consiste à renforcer la régulation de l'axe HPA alors les nouveaux neurones ne devraient pas être nécessaires à la rémission en l'absence d'altérations neuroendocriniennes. Parallèlement, les données chez des animaux non-stressés et donc en l'absence de perturbations de l'axe du stress sont plutôt en faveur d'une contribution des nouveaux neurones aux effets comportementaux de différentes classes d'antidépresseurs dans le NSF et le FST (Santarelli et al., 2003 ; Jiang et al., 2005 ; Wang et al., 2008 ; Zhu et al., 2010 ; Airan et al., 2007). Si l'interprétation de ces résultats est délicate pour la compréhension de l'implication de la neurogenèse dans le traitement de la dépression, qui est une maladie chronique, donc difficilement modélisable à partir de bio-essais chez des animaux témoins, ils indiquent tout de même une participation de la neurogenèse dans la capacité des antidépresseurs à moduler le comportement de façon vraisemblablement indépendante de l'axe HPA. Il apparaît donc que la neurogenèse pourrait contribuer aux effets des antidépresseurs via plusieurs mécanismes, incluant l'inhibition de l'axe corticotrope, mais potentiellement d'autres fonctions hippocampiques.

De façon intéressante si les nouveaux neurones contribuent à rétablir une inhibition efficace de l'axe HPA suite au traitement à la fluoxétine, la suppression de la neurogenèse en soi n'induit pas de perturbation de cette fonction chez les animaux témoins. Cela met en avant que l'implication de certains mécanismes dans la pathophysiologie et le traitement de la dépression n'est peut-être pas purement bidirectionnelle. C'est-à-dire que les antidépresseurs peuvent agir par le biais de mécanismes/fonctions qui sont altérées (mais pas nécessairement) dans la dépression mais dont la seule altération n'induit pas en soi un état pathologique (hypothèse illustrée dans **l'annexe 1**). De

nombreux exemples montrent en effet que si certains facteurs semblent essentiels aux effets des antidépresseurs, comme les voies de signalisation du BDNF, différents récepteurs monoaminergiques ou même la neurogenèse hippocampique, l'altération de ces systèmes en soi n'induit pas toujours de modification comportementale ou physiologique. Dans ce cadre les nouveaux neurones participeraient à la régulation de l'axe HPA uniquement dans des situations de challenge environnemental, comme suite au SCIM. Cependant les mécanismes permettant à la fluoxétine de faciliter le recrutement et la contribution des nouveaux neurones dans cette fonction demeurent hypothétiques. Si la participation des nouveaux neurones est quantitative/linéaire, c'est à dire que c'est en augmentant le nombre de nouveaux neurones que la fluoxétine induit le rétablissement d'une régulation efficace de l'axe HPA, il paraît paradoxal que la suppression de la neurogenèse en soi n'affecte pas le rétrocontrôle chez des animaux témoins. Il est cependant possible que la suppression de la neurogenèse perturbe d'une manière ou d'une autre la régulation de l'axe HPA mais que ces changements ne soient pas suffisants pour complètement abolir la capacité de l'hippocampe à inhiber la sécrétion de corticostérone, possiblement du fait de mécanismes compensatoires. En effet il est vraisemblable qu'à la fois les nouveaux neurones mais aussi les cellules matures contribuent à l'inhibition hippocampique de l'axe HPA, et que donc l'irradiation en soit ne permette pas d'abolir cette fonction. Or nous avons montré que la sensibilité des cellules granulaires matures à la DEX était perturbée suite au SCIM. Un moyen pour la fluoxétine de renforcer le rétrocontrôle hippocampique serait donc potentiellement d'augmenter le recrutement des nouveaux neurones hippocampiques afin de rétablir une réponse du gyrus denté adéquate en réponse aux glucocorticoïdes. En effet le traitement à la fluoxétine dans notre étude augmente de façon significative la proportion de nouveaux neurones activés suite à l'injection de DEX. Ces résultats suggèrent que la fluoxétine affecte la sensibilité des nouveaux neurones aux glucocorticoïdes, et pourrait expliquer que chez les souris irradiées la fluoxétine n'est plus capable de rétablir un contrôle hippocampique inhibiteur efficace sur l'axe HPA. Si les mécanismes par lesquels la fluoxétine pourrait affecter la sensibilité des nouveaux neurones aux glucocorticoïdes ou même leurs propriétés fonctionnelles demeurent spéculatifs, ces changements pourraient impliquer des modifications dans l'expression ou la fonction des récepteurs aux glucocorticoïdes. Les nouveaux neurones expriment des GRs (Garcia et al., 2004) qui sont par ailleurs fonctionnels (Fitzsimons et al., 2012; Anacker et al., 2012). Une étude a montré que les effets pro-neurogéniques des antidépresseurs étaient dépendants de l'activation du GR et de ses voies de signalisation (Anacker et al., 2011) et les antidépresseurs sont connus pour réguler l'expression des GRs, leur translocation nucléaire, et la transcription d'un certain nombre de gènes suite à l'activation du récepteur (Pariante et al., 2001, 2003; Miller et al., 2002; Funato et al., 2006). Ces changements fonctionnels du récepteur pourraient donc potentiellement renforcer la réponse des nouveaux neurones aux

glucocorticoïdes. Un moyen de tester cette éventualité pourrait consister à invalider ou bloquer temporairement les GRs spécifiquement chez les nouveaux neurones et de mesurer la suppression des taux de corticostérone induite par l'infusion intra-hippocampique de DEX. Des expériences complémentaires seraient néanmoins utiles afin de déterminer si les nouveaux neurones suite à un traitement antidépresseur sont bien préférentiellement recrutés suite à l'initiation du rétrocontrôle hippocampique par l'infusion de DEX non pas systémique mais directement dans l'hippocampe, si leur activité est différente de celle des cellules matures et comment les nouveaux neurones peuvent influencer le pattern d'activité du gyrus denté et des cibles des fibres moussues.

Ce dernier point semble particulièrement important. En effet l'organisation cellulaire de l'hippocampe positionne le gyrus denté en tant que système en dérivation, capable d'influencer l'activité des cellules pyramidales du CA3 et a fortiori l'activité « de sortie » de l'hippocampe mais dépourvu de projections extra-hippocampiques. Dans ce cadre si les nouveaux neurones participent à la régulation hippocampique de l'axe HPA leur action est indirecte et passerait par la modulation de l'activité intra-hippocampique. Plusieurs études ont ainsi montré que les nouveaux neurones influençaient l'activité de l'hippocampe à différents niveaux. Les nouveaux neurones établissent des connexions fonctionnelles assez précocement (3 à 4 semaines) avec les neurones du CA3 (Toni et al., 2008; Nakashiba et al., 2012). La transmission synaptique entre les nouveaux neurones et le CA3 diminue cependant à mesure qu'ils deviennent plus matures, indiquant possiblement que de par leur excitabilité accrue pendant cette période les nouveaux neurones influent de façon différente sur l'activité du CA3 par rapport aux neurones matures (Nakashiba et al., 2012). Parallèlement l'ablation de la neurogenèse perturbe la mise en place d'une forme de LTP et de LTD au niveau des connexions entre les cellules granulaires du gyrus et les projections en provenance de la voie perforante (Snyder et al., 2001; Saxe et al., 2006; Massa et al., 2011), indiquant que les nouveaux neurones contribuent activement à la plasticité synaptique du gyrus denté. Par ailleurs cette forme de plasticité est stimulée par la fluoxétine (Wang et al., 2008). Airan et al. (2007) ont précédemment montré que le stress chronique diminue l'activité du gyrus denté au profit d'une augmentation de l'activité du CA1, indiquant une perturbation plus large du pattern d'activité de l'hippocampe qui est de plus prédictive du phénotype dépressif-like des animaux. De façon intéressante la normalisation de ce pattern d'activité par la fluoxétine est abolie par la suppression de la neurogenèse. Ces études montrent que les nouveaux neurones semblent contribuer à l'activité du réseau hippocampique et qu'en stimulant la neurogenèse, les antidépresseurs permettraient le rétablissement d'une activité hippocampique adéquate perturbée par le stress, conduisant éventuellement à la normalisation de certaines fonctions hippocampiques et de la connectivité fonctionnelle entre l'hippocampe et d'autres structures engagées dans la régulation des états affectifs et de la réponse au stress.

L'influence inhibitrice de l'hippocampe sur l'axe HPA est indirecte. A partir du CA1 et du subiculum ventraux l'hippocampe envoie des projections glutamatergiques vers différentes structures, incluant certains noyaux hypothalamiques, le septum latéral, et certaines divisions du BNST, servant de relais intégrateurs des influences corticales et exerçant une inhibition GABAergique directe sur les neurones à CRH et vasopressine du PVN. Nous avons pu montrer que l'initiation du rétrocontrôle inhibiteur de l'hippocampe par l'infusion de DEX entraînait une augmentation de l'activation neuronale dans un certain nombre de ces structures. Ce pattern d'activité est par ailleurs altéré par le stress chronique et en partie normalisé par le traitement chronique à la fluoxétine, suggérant qu'un rétrocontrôle hippocampique fonctionnel est bien associé au recrutement indirect par l'hippocampe de ces différentes régions.

De façon intéressante la suppression de la neurogenèse altère l'activation neuronale induite par la DEX dans l'amBST au même titre que le SCIM. Même si l'expression du Fos en soit ne constitue pas une mesure suffisante, ces résultats sont potentiellement en accord avec l'hypothèse que la neurogenèse pourrait contribuer à l'efficacité des connexions extra-hippocampiques, notamment vers les relais médiateurs de son influence inhibitrice. Bien que la suppression de la neurogenèse ne soit pas suffisante pour atténuer l'inhibition hippocampique de la sécrétion de corticostérone, il est tout de même possible que cela fragilise le système de réponse au stress. On observe en effet chez les souris irradiées un effet additif du SCIM et un basculement vers une diminution de l'activité neuronale induite par la DEX. Ces effets sont en outre associés à un comportement anxieux et une vulnérabilité accrue aux effets comportementaux du SCIM. Bien que ce lien soit seulement corrélatif, il est possible que la suppression de la neurogenèse, en fragilisant la capacité de l'hippocampe à moduler les circuits impliqués dans la réponse au stress mais aussi potentiellement d'autres structures du système limbique avec lesquelles il est connecté, comme le cortex préfrontal, l'amygdale ou le noyau accumbens, vulnérabilise l'individu aux effets du stress et précipite l'apparition d'un phénotype dépressif-like. Sur ce point les résultats des deux articles présentés diffèrent cependant malgré les similitudes méthodologiques, puisque dans le premier article l'irradiation n'amplifie ni ne précipite les effets du SCIM. Cette différence souligne la nécessité de reproduire ces résultats et pourrait être attribuable à d'éventuels effets non-spécifiques de l'irradiation dans **l'article 2** ou des différences dans l'intensité du protocole de SCIM utilisé. En effet si l'intensité du protocole est trop importante un effet plafond peut potentiellement masquer une éventuelle accentuation des effets de l'irradiation chez les souris exposées au SCIM.

Finalement, l'atténuation de la capacité de l'hippocampe à moduler l'activité de l'amBST chez les souris irradiées pourrait potentiellement expliquer que la fluoxétine ne puisse pas correctement rétablir le rétrocontrôle hippocampique chez des animaux stressés en l'absence de neurogenèse.

Cela reste cependant hypothétique et là encore il est nécessaire d'approfondir cette étude, notamment en reproduisant ces résultats et en étudiant les effets de la fluoxétine sur l'activation neuronale chez des souris SCIM irradiées. Il serait aussi important de spécifier le phénotype GABAergique des cellules Fos quantifiées, d'étendre les mesures à d'autres régions connectées à l'hippocampe et régulant l'activité de l'axe HPA mais aussi de quantifier l'activation neuronale dans le PVN et le subiculum ventral.

En définitive, même si nos résultats pointent vers un rôle de la neurogenèse dans la régulation de la réponse au stress, les mécanismes par lesquels cette contribution est possible restent spéculatifs. La caractérisation précise des circuits intra et extra-hippocampiques impliqués dans la régulation hippocampique de l'axe HPA ainsi que des mesures électrophysiologiques de la connectivité fonctionnelle de l'hippocampe avec les structures participant à cette régulation est nécessaire afin de pouvoir réellement étudier la contribution des nouveaux neurones dans cette fonction.

2. Régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal : implications pour la fonction des nouveaux neurones ?

Si des modifications de la neurogenèse hippocampique peuvent jouer un rôle dans la mise en place d'un phénotype dépressif ou dans l'action thérapeutique des antidépresseurs, les fonctions sur lesquelles ces modifications peuvent influencer peuvent être multiples. En effet de même que le rôle de l'hippocampe n'est pas limité à la régulation de l'axe du stress, le rôle de la neurogenèse dans la réponse aux antidépresseurs n'est vraisemblablement pas limité à cette fonction. Les nouveaux neurones semblent notamment participer à l'encodage des informations contextuelles et faciliter l'émergence de représentations distinctes (et donc la discrimination) de contextes ou situations partiellement similaires possiblement en « dé-corrélant » le pattern d'activité du CA3 en réponse à ces contextes (Nakashiba et al., 2012). Cette fonction unique pourrait expliquer la contribution des nouveaux neurones dans la résolution de différentes tâches d'apprentissage (Bruehl-Jung et al., 2007) mais pourrait aussi avoir des implications dans la régulation des états affectifs et dans la réponse au stress. En effet l'incapacité à dissocier des situations qui n'ont pas la même valence émotionnelle pourrait refléter la tendance à la généralisation observée chez les patients dépressifs et anxieux. Hypothétiquement cette fonction pourrait avoir un rôle adaptatif important afin de générer une réponse appropriée face au stress et de sortir d'un schéma cognitif négatif. Parallèlement la neurogenèse a aussi été impliquée dans des tâches de flexibilité cognitive (Burghardt et al., 2012), suggérant peut être une contribution des nouveaux neurones dans les interactions fonctionnelles entre l'hippocampe et les régions sous-tendant cette fonction. Il apparaît donc qu'en plus de leur

éventuelle participation à la régulation hippocampique de l'axe HPA les fonctions dans lesquelles les nouveaux neurones interviennent sont variées. Cela soulève notamment une question majeure : est-ce que cette participation dans différents processus cognitifs et émotionnels est la résultante d'une fonction initiale ou une propriété unique des nouveaux neurones qui leur permet d'affecter de façon générale le fonctionnement de l'hippocampe, ou bien les nouveaux neurones peuvent-ils être engagés dans des fonctions différentes de façon indépendante? Dans ce second cas, en fonction des contraintes environnementales les nouveaux neurones pourraient être recrutés par les antidépresseurs ou des manipulations environnementales pour renforcer préférentiellement certaines fonctions hippocampiques.

Afin d'approcher cette question, bien que de façon indirecte, nous avons étudié la régulation de la neurogenèse à travers la dissociation fonctionnelle de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. En effet le pôle septal de l'hippocampe semble préférentiellement impliqué dans l'encodage contextuel et l'apprentissage tandis que le pôle temporal, de par ses connections avec les circuits de réponse au stress et le système limbique pourrait participer préférentiellement à la régulation du stress et des états affectifs. En partant du postulat que les changements quantitatifs de neurogenèse sont corrélés à leur contribution fonctionnelle, alors des effets pro-neurogéniques régionalisés pourraient indiquer une contribution de la neurogenèse préférentiellement dans certains aspects de la fonction hippocampique.

Malgré les données partiellement contradictoires obtenues dans la littérature et notamment entre **les articles 3 et 4** présentés dans ce manuscrit, potentiellement attribuables à d'importantes différences méthodologiques, nos résultats indiquent que les effets délétères du SCIM sont présents et contrecarrés par la fluoxétine indifféremment tout le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe. Cela suggère que si la diminution de neurogenèse associée au stress a des conséquences fonctionnelles elle pourrait affecter à la fois des aspects cognitifs et émotionnels, et que parallèlement la fluoxétine à travers la neurogenèse serait capable d'influencer ces différents aspects. Ces résultats semblent en accord avec le fait que la dépression est aussi associée à diverses altérations cognitives, notamment des déficits d'apprentissage et que la contribution de la neurogenèse dans les effets des antidépresseurs n'est peut-être pas limitée à la régulation de l'axe HPA.

De façon intéressante si la fluoxétine est capable de contrecarrer les effets du SCIM dans les parties septales et temporales de l'hippocampe ses effets pro-neurogéniques chez des animaux non-stressés sont observés spécifiquement dans les parties temporales. Cela confirme que les antidépresseurs agissent possiblement sur des mécanismes différents en fonction de l'état de l'animal (Surget et al.,

2009) et que les effets pro-neurogéniques de la fluoxétine ne sont pas identiques en situation contrôle ou en cas de challenge environnemental (David et al., 2009). Cet effet différentiel pourrait aussi en partie expliquer pourquoi dans certains tests comportementaux les antidépresseurs ne soient dépendants de la neurogenèse que dans des situations de challenge et non chez des animaux témoins. Malheureusement le manque d'étude étudiant les effets de l'ablation de la neurogenèse sur l'efficacité du traitement antidépresseur à la fois dans des modèles de dépression et chez des animaux témoins ne permet pas d'étayer cette hypothèse. Le NSF et le FST sont des tests dans lesquels les effets de la fluoxétine, mais aussi d'autres classes d'antidépresseurs, semblent particulièrement dépendants de la neurogenèse pour avoir un effet comportemental chez des animaux témoins non-stressés (Santerelli et al., 2003 ; Zhu et al., 2010 ; Jiang et al., 2005 ; Wang et al., 2008 ; Airan et al., 2007). Dans notre étude la fluoxétine ne stimule la neurogenèse chez les animaux témoins que spécifiquement dans l'hippocampe ventral. Il est donc possible que dans ces tests les nouveaux neurones issus de l'hippocampe ventral soient donc particulièrement importants pour les effets de la fluoxétine.

Un des points remarquables retrouvé dans **les articles 3 et 4** est que l'enrichissement du milieu d'hébergement, contrairement à la fluoxétine, semble stimuler la neurogenèse préférentiellement dans les parties septales de l'hippocampe. Il aurait été intéressant d'étudier les effets de l'enrichissement suite à l'exposition au SCIM pour voir si comme la fluoxétine les effets pro-neurogéniques de l'enrichissement étaient dépendant de l'état et pouvaient réverser les altérations induites par le SCIM aussi dans l'hippocampe ventral. Néanmoins ces résultats soulignent un point important. L'enrichissement est connu pour avoir des effets bénéfiques sur l'apprentissage hippocampe-dépendant mais aussi des effets anxiolytiques et antidépresseurs. Ces effets semblent être par ailleurs dépendants de leurs effets pro-neurogéniques (Lehmann et al., poster #899.03, sfn 2012 ; Schloesser et al., 2010 ; Bruel-Jungerman et al., 2005), même si plus d'études sont nécessaires pour confirmer ces résultats. Il apparaît donc que la neurogenèse dans l'hippocampe dorsal et l'hippocampe ventral pourraient participer de façon indépendante à la rémission, peut être en renforçant des fonctions hippocampiques distinctes. Cette idée conforte l'hypothèse présentée dans **l'annexe 1** que de multiples mécanismes sont susceptibles de conduire à la rémission via des voies potentiellement différentes. Ainsi la neurogenèse n'a peut-être pas une fonction unique, et en fonction des contraintes environnementales il est possible que les nouveaux neurones ne contribuent pas de la même façon aux effets des antidépresseurs. Selon cette idée, la participation de la neurogenèse dans la régulation de l'axe HPA engagerait préférentiellement les nouveaux neurones de l'hippocampe ventral quand celle-ci est altérée, tandis que les nouveaux neurones du

pôle septal participeraient peut-être aux effets pro-mnésiques des antidépresseurs ou affecteraient l'encodage et le couplage des informations contextuelles avec l'état émotionnel.

Cette hypothèse a cependant des limites et soulève un certain nombre de questions. La régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal suggère des mécanismes impliqués distincts à la fois entre différents facteurs régulateurs (enrichissement versus fluoxétine) mais aussi pour un même facteur entre les régions septales et temporales. La maturation et la survie des nouveaux neurones étant fortement expérience-dépendante et lié à l'activité du réseau hippocampique (Tashiro et al., 2006 ; Piatti et al., 2011), il est possible qu'en stimulant l'exploration et la navigation spatiale l'enrichissement recrute préférentiellement les circuits dépendants de l'hippocampe dorsal et ainsi stimule le neurogenèse spécifiquement dans cette région, mais cela reste spéculatif. Parallèlement les mécanismes impliqués dans les effets différentiels de la fluoxétine sur la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal sont peu clairs. De nombreux facteurs influent sur la neurogenèse et sa régulation par les antidépresseurs, et notre connaissance des différences potentielles dans l'expression ou la fonction de ces facteurs le long de l'axe septo-temporal est très limitée. Une meilleure caractérisation de ces différences est essentielle afin de mieux appréhender la régulation et la fonction des nouveaux neurones dans les régions septales et temporales de l'hippocampe.

Une limite majeure de cette hypothèse découle du fait que les différences fonctionnelles entre l'hippocampe dorsal et ventral ne permettent pas aussi clairement de dissocier les aspects cognitifs et les aspects émotionnels de la fonction hippocampique. En effet comme vu précédemment les études de manipulations pharmacologiques ou génétiques montrent que l'hippocampe dorsal peut aussi contribuer à la régulation de l'anxiété ou des comportements dépressif-like, inversement l'hippocampe ventral peut aussi contribuer à différentes formes d'apprentissages hippocampe-dépendant. Néanmoins ces deux régions présentent un nombre important de différences anatomiques, cellulaires et moléculaires. Il est vraisemblable qu'elles contribuent donc différemment mais tout de même conjointement à l'expression de comportements complexes, peut-être en permettant l'intégration des aspects contextuels et émotionnels d'une expérience. Le couplage de ces deux aspects paraît en effet essentiel pour l'initiation d'une réponse adaptée quel que soit le type de tâche comportementale ou la situation à laquelle l'individu est confronté. Là encore une meilleure caractérisation de la contribution spécifique de ces deux régions dans les fonctions cognitives et émotionnelles et la façon dont ces deux composantes sont intégrées permettrait de mieux appréhender les conséquences fonctionnelles d'une régulation différentielle de la neurogenèse par les antidépresseurs le long de l'axe septo-temporal. De nouveaux outils sont développés en ce sens, des études préliminaires approchent par exemple la fonction de

l'hippocampe ventral ou dorsal via la stimulation par optogénétique (Hill et al., poster #776.16, sfn 2012 ; Kheirbek et al., poster #68.03, sfn 2012). Ce genre d'outils couplés à différentes tâches comportementales devrait permettre d'éclaircir les différences fonctionnelles entre les régions septales et temporales de l'hippocampe.

Une autre limite de cette approche vient du postulat en lui-même que la fonction des nouveaux neurones découle de celle de la région dans laquelle ils s'intègrent, c'est à dire par exemple que les nouveaux neurones dans l'hippocampe ventral contribuent aux fonctions dans lesquelles l'hippocampe ventral est préférentiellement engagé. Une étude a par exemple montré que les cellules granulaires matures du gyrus denté de l'hippocampe dorsal étaient plus activées que celles de l'hippocampe ventral pendant l'acquisition d'une tâche d'apprentissage spatial, mais qu'inversement la densité de nouveaux neurones activés pendant cette tâche était plus importante dans l'hippocampe ventral (Snyder et al., 2009). Même si le fait que les nouveaux neurones de l'hippocampe ventral soient activés dans cette tâche ne signifie pas forcément qu'ils soient nécessaires à l'acquisition de cette tâche, le fait qu'ils soient activés dans une région différente de l'hippocampe par rapport aux neurones matures montre bien qu'ils pourraient avoir un rôle différent qui ne suit pas nécessairement la même régionalisation fonctionnelle que les neurones matures. Dans ce cadre il semble délicat d'inférer sur les fonctions dans lesquelles peuvent être engagés les nouveaux neurones à partir des modifications régionales de neurogenèse induites par les antidépresseurs ou certaines manipulations environnementales.

Il n'est donc finalement pas sûr que les nouveaux neurones dans les régions septales et temporales de l'hippocampe puissent contribuer différemment aux effets des antidépresseurs et qu'ils aient même une fonction distincte. Il est néanmoins clair que la régulation de la neurogenèse par un certains nombres de composés pharmacologiques et de manipulations environnementales n'est pas uniforme le long de l'axe septo-temporal. Parallèlement le recrutement des nouveaux neurones dans certaines tâches de comportement peut lui aussi être régionalisé (Snyder et al., 2009). Ces données pointent donc tout de même vers des propriétés fonctionnelles potentiellement distinctes. Ces différences pourraient notamment être liées aux gradients de maturation des nouveaux neurones rapportés le long de l'axe septo-temporal (Piatti et al., 2011 ; **article 4**). En effet si les nouveaux neurones sont préférentiellement recrutés du fait d'une plus forte excitabilité pendant leur période de développement, alors un taux de maturation différent dans les régions septales et temporales peut donner lieu à des cohortes de nouveaux neurones susceptibles de participer différemment à l'encodage des informations par l'hippocampe. Nos résultats indiquent par ailleurs que le stress, l'enrichissement et la fluoxetine pourraient avoir des effets sur la maturation des nouveaux neurones de façon différente entre les régions septales et temporales. Dans quelle mesure cela influe sur le

fonctionnement de l'hippocampe et pourrait contribuer à expliquer la participation des nouveaux neurones dans certains effets des antidépresseurs reste cependant une question à laquelle il est actuellement difficile de répondre.

En définitive, si l'étude de la neurogenèse à travers la dissociation fonctionnelle de l'hippocampe est en pleine expansion et peut potentiellement aider à préciser la fonction des nouveaux neurones et leur contribution dans les effets des antidépresseurs, l'approche corrélative en soit n'est clairement pas suffisante. Aucune étude (publiée) n'a pour l'instant utilisé des outils permettant l'ablation de la neurogenèse spécifiquement dans l'hippocampe dorsal ou l'hippocampe ventral. On peut imaginer que si certains gènes sont différenciellement exprimés dans le gyrus denté le long de l'axe septo-temporal il est possible que les précurseurs neuronaux dans les régions septales et temporales aient aussi des profils génétiques différents, ce qui pourrait permettre la génération de KO conditionnels dans l'une ou l'autre région. Parallèlement les injections de virus spécifiques pourraient aussi permettre d'abolir la neurogenèse localement, même si le fait qu'aucune étude n'ait utilisé cette approche suggère peut être des contraintes méthodologiques importantes. Il est en tous cas vraisemblable que de tels outils verront bientôt le jour et ils devraient permettre de mieux comprendre le rôle des nouveaux neurones dans ces deux régions et leur contribution spécifique dans la pathophysiologie de la dépression et les effets des antidépresseurs.

3. Conclusion et perspectives

Nous avons pu confirmer dans ce travail que les nouveaux neurones hippocampiques étaient nécessaires à l'action thérapeutique de la fluoxétine dans le modèle du SCIM et précisé qu'un mécanisme potentiel par lequel ils contribuent à ces effets consiste au renforcement de la capacité de l'hippocampe à inhiber l'axe HPA, possiblement en affectant la capacité de l'hippocampe à moduler l'activité des circuits impliqués dans la réponse au stress. Cependant la neurogenèse ne constitue vraisemblablement qu'un moyen parmi d'autres de normaliser cette fonction étant donné que des composés agissant plus directement sur le système HPA ne nécessitent pas la neurogenèse pour exercer une action thérapeutique. Par ailleurs les altérations de l'axe corticotrope n'étant représentatives que d'une sous population de patients dépressifs, et l'expression phénotypique de la dépression étant très hétérogène, il est possible que les nouveaux neurones ne contribuent à l'action des antidépresseurs que dans des profils particuliers et que la rémission soit possible via un nombre important de mécanismes potentiellement indépendants. Il est nécessaire dans ce sens de développer des modèles animaux permettant de rendre compte de cette hétérogénéité.

Parallèlement, l'hippocampe n'étant pas uniquement impliqué dans la régulation de la réponse au stress, les nouveaux neurones peuvent potentiellement affecter un nombre plus large de fonctions cérébrales pouvant contribuer à la rémission. Nous avons pu montrer que différents facteurs exerçant une action antidépressante régulaient la neurogenèse différenciellement le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe, suggérant des mécanismes de régulation distincts et que la contribution des nouveaux neurones dans les effets des antidépresseurs pourrait être multiple et impliquer des circuits extra-hippocampiques indépendants.

Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives de recherche dans l'étude du lien entre la neurogenèse, les fonctions hippocampiques et les troubles affectifs mais soulèvent un certain nombre de questions. En particulier la façon dont les nouveaux neurones pourraient affecter les fonctions de l'hippocampe demeure toujours largement incertaine. Si les techniques d'ablations permettent d'approcher le rôle des nouveaux neurones, il est nécessaire de mieux caractériser leur dynamique d'activation en réponse à différentes tâches cognitives et lors de l'initiation de la réponse au stress, de préciser comment leur activation peut influencer sur l'activité sortante du gyrus denté, et en quoi ces changements d'activité du réseau hippocampique peuvent au final influencer sur le comportement. Il paraît clair que notre compréhension du rôle des nouveaux neurones est de base limitée par notre manque de connaissance sur le fonctionnement de l'hippocampe en lui-même. Un moyen de mieux définir ce fonctionnement réside potentiellement dans l'étude des différences fonctionnelles entre l'hippocampe dorsal et l'hippocampe ventral et comment ces deux régions permettent l'intégration d'informations contextuelles et émotionnelles et la mise en place de comportements complexes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abela, A.R., Dougherty, S.D., Fagen, E.D., Hill, C.J.R., and Chudasama, Y. (2012). Inhibitory Control Deficits in Rats with Ventral Hippocampal Lesions. *Cerebral Cortex* (New York, N.Y.: 1991).
- Abercrombie, H.C., Schaefer, S.M., Larson, C.L., Oakes, T.R., Lindgren, K.A., Holden, J.E., Perlman, S.B., Turski, P.A., Krahn, D.D., Benca, R.M., et al. (1998). Metabolic rate in the right amygdala predicts negative affect in depressed patients. *Neuroreport* 9, 3301–3307.
- Adams, W., and van den Buuse, M. (2011). Hippocampal serotonin depletion facilitates the enhancement of prepulse inhibition by risperidone: possible role of 5-HT(2C) receptors in the dorsal hippocampus. *Neuropharmacology* 61, 458–467.
- Agid, O., Shapira, B., Zislin, J., Ritsner, M., Hanin, B., Murad, H., Troudart, T., Bloch, M., Heresco-Levy, U., and Lerer, B. (1999). Environment and vulnerability to major psychiatric illness: a case control study of early parental loss in major depression, bipolar disorder and schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 4, 163–172.
- Ago, Y., Arikawa, S., Yata, M., Yano, K., Abe, M., Takuma, K., and Matsuda, T. (2008). Antidepressant-like effects of the glucocorticoid receptor antagonist RU-43044 are associated with changes in prefrontal dopamine in mouse models of depression. *Neuropharmacology* 55, 1355–1363.
- Aguado, T., Monory, K., Palazuelos, J., Stella, N., Cravatt, B., Lutz, B., Marsicano, G., Kokaia, Z., Guzmán, M., and Galve-Roperh, I. (2005). The endocannabinoid system drives neural progenitor proliferation. *FASEB J.* 19, 1704–1706.
- Airan, R.D., Meltzer, L.A., Roy, M., Gong, Y., Chen, H., and Deisseroth, K. (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 317, 819–823.
- Aisa, B., Tordera, R., Lasheras, B., Del Río, J., and Ramírez, M.J. (2008). Effects of maternal separation on hypothalamic-pituitary-adrenal responses, cognition and vulnerability to stress in adult female rats. *Neuroscience* 154, 1218–1226.
- Akiskal, H.S. (1984). The interface of chronic depression with personality and anxiety disorders. *Psychopharmacol Bull* 20, 393–398.
- Alloy, L.B., Abramson, L.Y., Whitehouse, W.G., Hogan, M.E., Tashman, N.A., Steinberg, D.L., Rose, D.T., and Donovan, P. (1999). Depressogenic cognitive styles: predictive validity, information processing and personality characteristics, and developmental origins. *Behav Res Ther* 37, 503–531.
- Almeida, J.R.C. de, Versace, A., Mechelli, A., Hassel, S., Quevedo, K., Kupfer, D.J., and Phillips, M.L. (2009). Abnormal amygdala-prefrontal effective connectivity to happy faces differentiates bipolar from major depression. *Biol. Psychiatry* 66, 451–459.
- Alonso, R., Griebel, G., Pavone, G., Stemmelin, J., Le Fur, G., and Soubrié, P. (2004). Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol. Psychiatry* 9, 278–286, 224.
- Alonso, S.J., Arevalo, R., Afonso, D., and Rodríguez, M. (1991). Effects of maternal stress during pregnancy on forced swimming test behavior of the offspring. *Physiol. Behav.* 50, 511–517.
- Altman, J., and Das, G.D. (1965). Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J. Comp. Neurol.* 124, 319–335.

- Alves, S.H., Pinheiro, G., Motta, V., Landeira-Fernandez, J., and Cruz, A.P.M. (2004). Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT(2C) agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behav Pharmacol* 15, 37–43.
- Amaral, D.G., Ishizuka, N., and Claiborne, B. (1990). Neurons, numbers and the hippocampal network. *Prog. Brain Res.* 83, 1–11.
- Ambrogini, P., Cuppini, R., Cuppini, C., Ciaroni, S., Cecchini, T., Ferri, P., Sartini, S., and Del Grande, P. (2000). Spatial learning affects immature granule cell survival in adult rat dentate gyrus. *Neurosci. Lett.* 286, 21–24.
- Ambrogini, P., Lattanzi, D., Ciuffoli, S., Agostini, D., Bertini, L., Stocchi, V., Santi, S., and Cuppini, R. (2004). Morpho-functional characterization of neuronal cells at different stages of maturation in granule cell layer of adult rat dentate gyrus. *Brain Res.* 1017, 21–31.
- Amilhon, B., Lepicard, E., Renoir, T., Mongeau, R., Popa, D., Poirel, O., Miot, S., Gras, C., Gardier, A.M., Gallego, J., et al. (2010). VGLUT3 (vesicular glutamate transporter type 3) contribution to the regulation of serotonergic transmission and anxiety. *J. Neurosci.* 30, 2198–2210.
- Anacker, C., Zunszain, P.A., Cattaneo, A., Carvalho, L.A., Garabedian, M.J., Thuret, S., Price, J., and Pariante, C.M. (2011). Antidepressants increase human hippocampal neurogenesis by activating the glucocorticoid receptor. *Mol. Psychiatry* 16, 738–750.
- Anand, A., Li, Y., Wang, Y., Wu, J., Gao, S., Bukhari, L., Mathews, V.P., Kalnin, A., and Lowe, M.J. (2005). Antidepressant effect on connectivity of the mood-regulating circuit: an FMRI study. *Neuropsychopharmacology* 30, 1334–1344.
- Angst, J., and Dobler-Mikola, A. (1985). The Zurich Study. VI. A continuum from depression to anxiety disorders? *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 235, 179–186.
- Angst, J., and Merikangas, K.R. (2001). Multi-dimensional criteria for the diagnosis of depression. *J Affect Disord* 62, 7–15.
- Anisman, H. (2009). Cascading effects of stressors and inflammatory immune system activation: implications for major depressive disorder. *J Psychiatry Neurosci* 34, 4–20.
- Anisman, H., and Matheson, K. (2005). Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 525–546.
- Antonijevic, I.A. (2006). Depressive disorders -- is it time to endorse different pathophysiologies? *Psychoneuroendocrinology* 31, 1–15.
- Appelhof, B.C., Huyser, J., Verweij, M., Brouwer, J.P., van Dyck, R., Fliers, E., Hoogendijk, W.J.G., Tijssen, J.G.P., Wiersinga, W.M., and Schene, A.H. (2006). Glucocorticoids and relapse of major depression (dexamethasone/corticotropin-releasing hormone test in relation to relapse of major depression). *Biol. Psychiatry* 59, 696–701.
- Artigas, F., Nutt, D.J., and Shelton, R. (2002). Mechanism of action of antidepressants. *Psychopharmacol Bull* 36 Suppl 2, 123–132.
- Ase, A.R., Reader, T.A., Hen, R., and Descarries, L. (2008). Regionally selective changes in neurotransmitter receptors in the brain of the 5-HT1B knockout mouse. *J. Chem. Neuroanat.* 35, 356–363.

- Avagianou, P.-A., and Zafiropoulou, M. (2008). Parental bonding and depression: personality as a mediating factor. *Int J Adolesc Med Health* 20, 261–269.
- Avisar, S., Nechamkin, Y., Roitman, G., and Schreiber, G. (1997). Reduced G protein functions and immunoreactive levels in mononuclear leukocytes of patients with depression. *Am J Psychiatry* 154, 211–217.
- Azmitia, E.C., and Segal, M. (1978). An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *J. Comp. Neurol.* 179, 641–667.
- Bachis, A., Mallei, A., Cruz, M.I., Wellstein, A., and Mocchetti, I. (2008). Chronic antidepressant treatments increase basic fibroblast growth factor and fibroblast growth factor-binding protein in neurons. *Neuropharmacology* 55, 1114–1120.
- Backhouse, B., Barochovsky, O., Malik, C., Patel, A.J., and Lewis, P.D. (1982). Effects of haloperidol on cell proliferation in the early postnatal rat brain. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 8, 109–116.
- Bai, F., Bergeron, M., and Nelson, D.L. (2003). Chronic AMPA receptor potentiator (LY451646) treatment increases cell proliferation in adult rat hippocampus. *Neuropharmacology* 44, 1013–1021.
- Balu, D.T., and Lucki, I. (2009). Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev* 33, 232–252.
- Banas, S.M., Doly, S., Boutourlinsky, K., Diaz, S.L., Belmer, A., Callebaut, J., Collet, C., Launay, J.-M., and Maroteaux, L. (2011). Deconstructing antiobesity compound action: requirement of serotonin 5-HT_{2B} receptors for dexfenfluramine anorectic effects. *Neuropsychopharmacology* 36, 423–433.
- Banasr, M., and Duman, R.S. (2008). Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol. Psychiatry* 64, 863–870.
- Banasr, M., Hery, M., Brezun, J.M., and Daszuta, A. (2001). Serotonin mediates oestrogen stimulation of cell proliferation in the adult dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci.* 14, 1417–1424.
- 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.
- Banasr, M., Soumier, A., Hery, M., Mocaër, E., and Daszuta, A. (2006). Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol. Psychiatry* 59, 1087–1096.
- Bannerman, D.M., Deacon, R.M.J., Offen, S., Friswell, J., Grubb, M., and Rawlins, J.N.P. (2002). Double dissociation of function within the hippocampus: spatial memory and hyponeophagia. *Behav. Neurosci.* 116, 884–901.
- Bannerman, D.M., Yee, B.K., Good, M.A., Heupel, M.J., Iversen, S.D., and Rawlins, J.N. (1999). Double dissociation of function within the hippocampus: a comparison of dorsal, ventral, and complete hippocampal cytotoxic lesions. *Behav. Neurosci.* 113, 1170–1188.
- Bast, T., Wilson, I.A., Witter, M.P., and Morris, R.G.M. (2009). From rapid place learning to behavioral performance: a key role for the intermediate hippocampus. *PLoS Biol.* 7, e1000089.

- Bast, T., Zhang, W.N., and Feldon, J. (2001). The ventral hippocampus and fear conditioning in rats. Different anterograde amnesias of fear after tetrodotoxin inactivation and infusion of the GABA(A) agonist muscimol. *Exp Brain Res* 139, 39–52.
- Baudry, A., Mouillet-Richard, S., Schneider, B., Launay, J.-M., and Kellermann, O. (2010). miR-16 targets the serotonin transporter: a new facet for adaptive responses to antidepressants. *Science* 329, 1537–1541.
- Beck, A.T. (1969). *Depression*. (London: Staples Press, 1969).
- Bednarczyk, M.R., Aumont, A., Décary, S., Bergeron, R., and Fernandes, K.J.L. (2009). Prolonged voluntary wheel-running stimulates neural precursors in the hippocampus and forebrain of adult CD1 mice. *Hippocampus* 19, 913–927.
- Belanoff, J.K., Flores, B.H., Kalezhan, M., Sund, B., and Schatzberg, A.F. (2001). Rapid reversal of psychotic depression using mifepristone. *J Clin Psychopharmacol* 21, 516–521.
- Belmaker, R.H., and Agam, G. (2008). Major depressive disorder. *N. Engl. J. Med.* 358, 55–68.
- 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.
- Benloucif, S., Keegan, M.J., and Galloway, M.P. (1993). Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 265, 373–377.
- Berridge, K.C., and Whishaw, I.Q. (1992). Cortex, striatum and cerebellum: control of serial order in a grooming sequence. *Exp Brain Res* 90, 275–290.
- Beskow, J., Gottfries, C.G., Roos, B.E., and Winblad, B. (1976). Determination of monoamine and monoamine metabolites in the human brain: post mortem studies in a group of suicides and in a control group. *Acta Psychiatr Scand* 53, 7–20.
- Bessa, J.M., Ferreira, D., Melo, I., Marques, F., Cerqueira, J.J., Palha, J.A., Almeida, O.F.X., and Sousa, N. (2009). The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol. Psychiatry* 14, 764–773, 739.
- Binder, E.B., Salyakina, D., Lichtner, P., Wochnik, G.M., Ising, M., Pütz, B., Papiol, S., Seaman, S., Lucae, S., Kohli, M.A., et al. (2004). Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat. Genet.* 36, 1319–1325.
- Binneman, B., Feltner, D., Kolluri, S., Shi, Y., Qiu, R., and Stiger, T. (2008). A 6-week randomized, placebo-controlled trial of CP-316,311 (a selective CRH1 antagonist) in the treatment of major depression. *Am J Psychiatry* 165, 617–620.
- Björkqvist, K. (2001). Social defeat as a stressor in humans. *Physiol. Behav.* 73, 435–442.
- Blaesse, P., Airaksinen, M.S., Rivera, C., and Kaila, K. (2009). Cation-chloride cotransporters and neuronal function. *Neuron* 61, 820–838.
- Blaha, C.D., Yang, C.R., Floresco, S.B., Barr, A.M., and Phillips, A.G. (1997). Stimulation of the ventral subiculum of the hippocampus evokes glutamate receptor-mediated changes in dopamine efflux in the rat nucleus accumbens. *Eur. J. Neurosci.* 9, 902–911.

Blanchard, D.C., Canteras, N.S., Markham, C.M., Pentkowski, N.S., and Blanchard, R.J. (2005). Lesions of structures showing FOS expression to cat presentation: effects on responsivity to a Cat, Cat odor, and nonpredator threat. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 1243–1253.

Blendy, J.A. (2006). The role of CREB in depression and antidepressant treatment. *Biol. Psychiatry* 59, 1144–1150.

Blier, P., and de Montigny, C. (1980). Effect of chronic tricyclic antidepressant treatment on the serotonergic autoreceptor: a microiontophoretic study in the rat. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 314, 123–128.

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.

Boldrini, M., Hen, R., Underwood, M.D., Rosoklija, G.B., Dwork, A.J., Mann, J.J., and Arango, V. (2012). Hippocampal angiogenesis and progenitor cell proliferation are increased with antidepressant use in major depression. *Biol. Psychiatry* 72, 562–571.

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.

Bolwig, T.G. (2011). How does electroconvulsive therapy work? Theories on its mechanism. *Can J Psychiatry* 56, 13–18.

Bonaguidi, M.A., Wheeler, M.A., Shapiro, J.S., Stadel, R.P., Sun, G.J., Ming, G., and Song, H. (2011). In vivo clonal analysis reveals self-renewing and multipotent adult neural stem cell characteristics. *Cell* 145, 1142–1155.

Bonfanti, L., and Peretto, P. (2011). Adult neurogenesis in mammals--a theme with many variations. *Eur. J. Neurosci.* 34, 930–950.

Bontempi, B., Laurent-Demir, C., Destrade, C., and Jaffard, R. (1999). Time-dependent reorganization of brain circuitry underlying long-term memory storage. *Nature* 400, 671–675.

Botteron, K.N., Raichle, M.E., Drevets, W.C., Heath, A.C., and Todd, R.D. (2002). Volumetric reduction in left subgenual prefrontal cortex in early onset depression. *Biol. Psychiatry* 51, 342–344.

Boyle, M.P., Brewer, J.A., Funatsu, M., Wozniak, D.F., Tsien, J.Z., Izumi, Y., and Muglia, L.J. (2005). Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 473–478.

Bradley, R.G., Binder, E.B., Epstein, M.P., Tang, Y., Nair, H.P., Liu, W., Gillespie, C.F., Berg, T., Evces, M., Newport, D.J., et al. (2008). Influence of child abuse on adult depression: moderation by the corticotropin-releasing hormone receptor gene. *Arch. Gen. Psychiatry* 65, 190–200.

Bramley, J.R., Sollars, P.J., Pickard, G.E., and Dudek, F.E. (2005). 5-HT_{1B} receptor-mediated presynaptic inhibition of GABA release in the suprachiasmatic nucleus. *J. Neurophysiol.* 93, 3157–3164.

Brandt, M.D., Jessberger, S., Steiner, B., Kronenberg, G., Reuter, K., Bick-Sander, A., von der Behrens, W., and Kempermann, G. (2003). Transient calretinin expression defines early postmitotic step of

neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol. Cell. Neurosci.* 24, 603–613.

Brandt, M.D., Maass, A., Kempermann, G., and Storch, A. (2010). Physical exercise increases Notch activity, proliferation and cell cycle exit of type-3 progenitor cells in adult hippocampal neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* 32, 1256–1264.

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.

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.

Brooks, J.M., Pershing, M.L., Thomsen, M.S., Mikkelsen, J.D., Sarter, M., and Bruno, J.P. (2012). Transient Inactivation of the Neonatal Ventral Hippocampus Impairs Attentional Set-Shifting Behavior: Reversal with an $\alpha 7$ Nicotinic Agonist. *Neuropsychopharmacology* 37, 2476–2486.

Brouwer, J.P., Appelhof, B.C., van Rossum, E.F.C., Koper, J.W., Fliers, E., Huyser, J., Schene, A.H., Tijssen, J.G.P., Van Dyck, R., Lamberts, S.W.J., et al. (2006). Prediction of treatment response by HPA-axis and glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Psychoneuroendocrinology* 31, 1154–1163.

Brown, G.W., and Harris, T. (1978). Social origins of depression: a reply. *Psychol Med* 8, 577–588.

Bruel-Jungerman, E., Laroche, S., and Rampon, C. (2005). New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *Eur. J. Neurosci.* 21, 513–521.

Bruel-Jungerman, E., Rampon, C., and Laroche, S. (2007). Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses. *Rev Neurosci* 18, 93–114.

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.

Buijs, R.M., and Kalsbeek, A. (2001). Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 521–526.

Bunney, W.E., Jr, and Davis, J.M. (1965). Norepinephrine in depressive reactions. A review. *Arch. Gen. Psychiatry* 13, 483–494.

Burghardt, N.S., Park, E.H., Hen, R., and Fenton, A.A. (2012). Adult-born hippocampal neurons promote cognitive flexibility in mice. *Hippocampus* 22, 1795–1808.

Burke, H.M., Davis, M.C., Otte, C., and Mohr, D.C. (2005). Depression and cortisol responses to psychological stress: a meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 30, 846–856.

Burnet, P.W., Mefford, I.N., Smith, C.C., Gold, P.W., and Sternberg, E.M. (1992). Hippocampal 8-[3H]hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin binding site densities, serotonin receptor (5-HT1A) messenger ribonucleic acid abundance, and serotonin levels parallel the activity of the hypothalamopituitary-adrenal axis in rat. *J. Neurochem.* 59, 1062–1070.

- Burns, L.H., Annett, L., Kelley, A.E., Everitt, B.J., and Robbins, T.W. (1996). Effects of lesions to amygdala, ventral subiculum, medial prefrontal cortex, and nucleus accumbens on the reaction to novelty: implication for limbic-striatal interactions. *Behav. Neurosci.* *110*, 60–73.
- Burwell, R.D. (2000). The parahippocampal region: corticocortical connectivity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *911*, 25–42.
- Calatayud, F., and Belzung, C. (2001). Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity? *Physiol. Behav.* *74*, 355–362.
- Calatayud, F., Belzung, C., and Aubert, A. (2004). Ethological validation and the assessment of anxiety-like behaviours: methodological comparison of classical analyses and structural approaches. *Behav. Processes* *67*, 195–206.
- Cameron, H.A., and Gould, E. (1994). Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* *61*, 203–209.
- Cameron, H.A., McEwen, B.S., and Gould, E. (1995). Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. *J. Neurosci.* *15*, 4687–4692.
- Cameron, H.A., and McKay, R.D. (2001). Adult neurogenesis produces a large pool of new granule cells in the dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* *435*, 406–417.
- Campbell, S., Marriott, M., Nahmias, C., and MacQueen, G.M. (2004). Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* *161*, 598–607.
- Cao, X., Liu, Z., Xu, C., Li, J., Gao, Q., Sun, N., Xu, Y., Ren, Y., Yang, C., and Zhang, K. (2012). Disrupted resting-state functional connectivity of the hippocampus in medication-naïve patients with major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*.
- Carlsson, A., Corrodi, H., Fuxe, K., and Hökfelt, T. (1969). Effects of some antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain catecholamine stores caused by 4,α-dimethyl-meta-tyramine. *Eur. J. Pharmacol.* *5*, 367–373.
- Carr, G.V., and Lucki, I. (2011). The role of serotonin receptor subtypes in treating depression: a review of animal studies. *Psychopharmacology (Berl.)* *213*, 265–287.
- Carrasco, J.L., and Sandner, C. (2005). Clinical effects of pharmacological variations in selective serotonin reuptake inhibitors: an overview. *Int. J. Clin. Pract.* *59*, 1428–1434.
- Carroll, B.J., Cassidy, F., Naftolowitz, D., Tatham, N.E., Wilson, W.H., Iranmanesh, A., Liu, P.Y., and Veldhuis, J.D. (2007). Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl* *90*–103.
- 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.
- Castro, J.E., Varea, E., Márquez, C., Cordero, M.I., Poirier, G., and Sandi, C. (2010). Role of the amygdala in antidepressant effects on hippocampal cell proliferation and survival and on depression-like behavior in the rat. *PLoS ONE* *5*, e8618.

- Cenquizca, L.A., and Swanson, L.W. (2007). Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Res Rev* 56, 1–26.
- Cerqueira, J.J., Mailliet, F., Almeida, O.F.X., Jay, T.M., and Sousa, N. (2007). The prefrontal cortex as a key target of the maladaptive response to stress. *J. Neurosci.* 27, 2781–2787.
- Chalmers, D.T., López, J.F., Vázquez, D.M., Akil, H., and Watson, S.J. (1994). Regulation of hippocampal 5-HT_{1A} receptor gene expression by dexamethasone. *Neuropsychopharmacology* 10, 215–222.
- Chaouloff, F., and Groc, L. (2011). Temporal modulation of hippocampal excitatory transmission by corticosteroids and stress. *Front Neuroendocrinol* 32, 25–42.
- Chapillon, P., Manneché, C., Belzung, C., and Caston, J. (1999). Rearing environmental enrichment in two inbred strains of mice: 1. Effects on emotional reactivity. *Behav. Genet.* 29, 41–46.
- Chaput, Y., de Montigny, C., and Blier, P. (1986). Effects of a selective 5-HT reuptake blocker, citalopram, on the sensitivity of 5-HT autoreceptors: electrophysiological studies in the rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 333, 342–348.
- Chartoff, E.H., Papadopoulou, M., MacDonald, M.L., Parsegian, A., Potter, D., Konradi, C., and Carlezon, W.A., Jr (2009). Desipramine reduces stress-activated dynorphin expression and CREB phosphorylation in NAc tissue. *Mol. Pharmacol.* 75, 704–712.
- Chen, B., Dowlatsahi, D., MacQueen, G.M., Wang, J.F., and Young, L.T. (2001). Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol. Psychiatry* 50, 260–265.
- Chen, C.-H., Suckling, J., Ooi, C., Fu, C.H.Y., Williams, S.C.R., Walsh, N.D., Mitterschiffthaler, M.T., Pich, E.M., and Bullmore, E. (2008). Functional coupling of the amygdala in depressed patients treated with antidepressant medication. *Neuropsychopharmacology* 33, 1909–1918.
- Christensen, M.V., and Kessing, L.V. (2006). Do personality traits predict first onset in depressive and bipolar disorder? *Nord J Psychiatry* 60, 79–88.
- Chrousos, G.P., and Gold, P.W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA* 267, 1244–1252.
- Chudasama, Y., Doobay, V.M., and Liu, Y. (2012). Hippocampal-prefrontal cortical circuit mediates inhibitory response control in the rat. *J. Neurosci.* 32, 10915–10924.
- Clelland, C.D., Choi, M., Romberg, C., Clemenson, G.D., Jr, Fragniere, A., Tyers, P., Jessberger, S., Saksida, L.M., Barker, R.A., Gage, F.H., et al. (2009). A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation. *Science* 325, 210–213.
- Colombo, M., Fernandez, T., Nakamura, K., and Gross, C.G. (1998). Functional differentiation along the anterior-posterior axis of the hippocampus in monkeys. *J. Neurophysiol.* 80, 1002–1005.
- Compas, B.E., Connor-Smith, J., and Jaser, S.S. (2004). Temperament, stress reactivity, and coping: implications for depression in childhood and adolescence. *J Clin Child Adolesc Psychol* 33, 21–31.

Conrad, C.D., LeDoux, J.E., Magariños, A.M., and McEwen, B.S. (1999). Repeated restraint stress facilitates fear conditioning independently of causing hippocampal CA3 dendritic atrophy. *Behav. Neurosci.* *113*, 902–913.

Coppen, A. (1967). The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry* *113*, 1237–1264.

Corrigan, M.H., Denahan, A.Q., Wright, C.E., Ragual, R.J., and Evans, D.L. (2000). Comparison of pramipexole, fluoxetine, and placebo in patients with major depression. *Depress Anxiety* *11*, 58–65.

Coryell, W., Nopoulos, P., Drevets, W., Wilson, T., and Andreasen, N.C. (2005). Subgenual prefrontal cortex volumes in major depressive disorder and schizophrenia: diagnostic specificity and prognostic implications. *Am J Psychiatry* *162*, 1706–1712.

Couillard-Despres, S., Wuertinger, C., Kandasamy, M., Caioni, M., Stadler, K., Aigner, R., Bogdahn, U., and Aigner, L. (2009). Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis. *Mol. Psychiatry* *14*, 856–864.

Coupland, N.J., Ogilvie, C.J., Hegadoren, K.M., Seres, P., Hanstock, C.C., and Allen, P.S. (2005). Decreased prefrontal Myo-inositol in major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* *57*, 1526–1534.

Cowen, P.J., Parry-Billings, M., and Newsholme, E.A. (1989). Decreased plasma tryptophan levels in major depression. *J Affect Disord* *16*, 27–31.

Croarkin, P.E., Levinson, A.J., and Daskalakis, Z.J. (2011). Evidence for GABAergic inhibitory deficits in major depressive disorder. *Neurosci Biobehav Rev* *35*, 818–825.

Cryan, J.F., and Holmes, A. (2005). The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. *Nat Rev Drug Discov* *4*, 775–790.

Cryan, J.F., Markou, A., and Lucki, I. (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* *23*, 238–245.

Cryan, J.F., and Mombereau, C. (2004). In search of a depressed mouse: utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice. *Mol. Psychiatry* *9*, 326–357.

Cryan, J.F., O’Leary, O.F., Jin, S.-H., Friedland, J.C., Ouyang, M., Hirsch, B.R., Page, M.E., Dalvi, A., Thomas, S.A., and Lucki, I. (2004). Norepinephrine-deficient mice lack responses to antidepressant drugs, including selective serotonin reuptake inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *101*, 8186–8191.

Czéh, B., Michaelis, T., Watanabe, T., Frahm, J., de Biurrun, G., van Kampen, M., Bartolomucci, A., and Fuchs, E. (2001). Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *98*, 12796–12801.

Czéh, B., Welt, T., Fischer, A.K., Erhardt, A., Schmitt, W., Müller, M.B., Toschi, N., Fuchs, E., and Keck, M.E. (2002). Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biol. Psychiatry* *52*, 1057–1065.

Dalla, C., Papachristos, E.B., Whetstone, A.S., and Shors, T.J. (2009). Female rats learn trace memories better than male rats and consequently retain a greater proportion of new neurons in their hippocampi. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *106*, 2927–2932.

- David, D.J., Klemenhagen, K.C., Holick, K.A., Saxe, M.D., Mendez, I., Santarelli, L., Craig, D.A., Zhong, H., Swanson, C.J., Hegde, L.G., et al. (2007). Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-{[4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl]methyl}(4-piperidyl))-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *321*, 237–248.
- 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.
- Davidson, R.J., Irwin, W., Anderle, M.J., and Kalin, N.H. (2003). The neural substrates of affective processing in depressed patients treated with venlafaxine. *Am J Psychiatry* *160*, 64–75.
- Dawirs, R.R., Hildebrandt, K., and Teuchert-Noodt, G. (1998). Adult treatment with haloperidol increases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus. *J Neural Transm* *105*, 317–327.
- Deakin, J.F., Pennell, I., Upadhyaya, A.J., and Lofthouse, R. (1990). A neuroendocrine study of 5HT function in depression: evidence for biological mechanisms of endogenous and psychosocial causation. *Psychopharmacology (Berl.)* *101*, 85–92.
- Degroot, A., and Treit, D. (2004). Anxiety is functionally segregated within the septo-hippocampal system. *Brain Res.* *1001*, 60–71.
- Deisseroth, K., Singla, S., Toda, H., Monje, M., Palmer, T.D., and Malenka, R.C. (2004). Excitation-neurogenesis coupling in adult neural stem/progenitor cells. *Neuron* *42*, 535–552.
- Delgado, P.L. (2000). Depression: the case for a monoamine deficiency. *J Clin Psychiatry* *61 Suppl 6*, 7–11.
- Delgado, P.L., Charney, D.S., Price, L.H., Aghajanian, G.K., Landis, H., and Heninger, G.R. (1990). Serotonin function and the mechanism of antidepressant action. Reversal of antidepressant-induced remission by rapid depletion of plasma tryptophan. *Arch. Gen. Psychiatry* *47*, 411–418.
- Delgado, P.L., Miller, H.L., Salomon, R.M., Licinio, J., Heninger, G.R., Gelenberg, A.J., and Charney, D.S. (1993). Monoamines and the mechanism of antidepressant action: effects of catecholamine depletion on mood of patients treated with antidepressants. *Psychopharmacol Bull* *29*, 389–396.
- Delgado, P.L., Miller, H.L., Salomon, R.M., Licinio, J., Krystal, J.H., Moreno, F.A., Heninger, G.R., and Charney, D.S. (1999). Tryptophan-depletion challenge in depressed patients treated with desipramine or fluoxetine: implications for the role of serotonin in the mechanism of antidepressant action. *Biol. Psychiatry* *46*, 212–220.
- Deng, W., Aimone, J.B., and Gage, F.H. (2010). New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat. Rev. Neurosci.* *11*, 339–350.
- Derijk, R.H., and de Kloet, E.R. (2008). Corticosteroid receptor polymorphisms: determinants of vulnerability and resilience. *Eur. J. Pharmacol.* *583*, 303–311.
- DeRubeis, R.J., Gelfand, L.A., Tang, T.Z., and Simons, A.D. (1999). Medications versus cognitive behavior therapy for severely depressed outpatients: mega-analysis of four randomized comparisons. *Am J Psychiatry* *156*, 1007–1013.

- Devenport, L.D., Devenport, J.A., and Holloway, F.A. (1981). Reward-induced stereotypy: modulation by the hippocampus. *Science* *212*, 1288–1289.
- 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.
- 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.
- Dijkstra, I., Binnekade, R., and Tilders, F.J. (1996). Diurnal variation in resting levels of corticosterone is not mediated by variation in adrenal responsiveness to adrenocorticotropin but involves splanchnic nerve integrity. *Endocrinology* *137*, 540–547.
- Doetsch, F. (2003). The glial identity of neural stem cells. *Nat. Neurosci.* *6*, 1127–1134.
- Doetsch, F., and Alvarez-Buylla, A. (1996). Network of tangential pathways for neuronal migration in adult mammalian brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* *93*, 14895–14900.
- Dolorfo, C.L., and Amaral, D.G. (1998). Entorhinal cortex of the rat: organization of intrinsic connections. *J. Comp. Neurol.* *398*, 49–82.
- Doly, S., Valjent, E., Setola, V., Callebert, J., Hervé, D., Launay, J.-M., and Maroteaux, L. (2008). Serotonin 5-HT_{2B} receptors are required for 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced hyperlocomotion and 5-HT release in vivo and in vitro. *J. Neurosci.* *28*, 2933–2940.
- Dorey, R., Piérard, C., Chauveau, F., David, V., and Béracochéa, D. (2012). Stress-Induced Memory Retrieval Impairments: Different Time-Course Involvement of Corticosterone and Glucocorticoid Receptors in Dorsal and Ventral Hippocampus. *Neuropsychopharmacology*.
- 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.
- Drevets, W.C. (2000). Functional anatomical abnormalities in limbic and prefrontal cortical structures in major depression. *Prog. Brain Res.* *126*, 413–431.
- Drevets, W.C. (2003). Neuroimaging abnormalities in the amygdala in mood disorders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *985*, 420–444.
- Drevets, W.C., Price, J.L., and Furey, M.L. (2008). Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Struct Funct* *213*, 93–118.
- Drevets, W.C., Thase, M.E., Moses-Kolko, E.L., Price, J., Frank, E., Kupfer, D.J., and Mathis, C. (2007). Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl. Med. Biol.* *34*, 865–877.
- Drugan, R.C., Ryan, S.M., Minor, T.R., and Maier, S.F. (1984). Librium prevents the analgesia and shuttlebox escape deficit typically observed following inescapable shock. *Pharmacol. Biochem. Behav.* *21*, 749–754.

- Duan, X., Kang, E., Liu, C.Y., Ming, G.-L., and Song, H. (2008). Development of neural stem cell in the adult brain. *Curr. Opin. Neurobiol.* *18*, 108–115.
- Ducottet, C., Aubert, A., and Belzung, C. (2004). Susceptibility to subchronic unpredictable stress is related to individual reactivity to threat stimuli in mice. *Behav. Brain Res.* *155*, 291–299.
- Ducottet, C., and Belzung, C. (2004). Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. *Physiol. Behav.* *81*, 417–426.
- Ducottet, C., Griebel, G., and Belzung, C. (2003). Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* *27*, 625–631.
- Dudley, K.J., Li, X., Kobor, M.S., Kippin, T.E., and Bredy, T.W. (2011). Epigenetic mechanisms mediating vulnerability and resilience to psychiatric disorders. *Neurosci Biobehav Rev* *35*, 1544–1551.
- Dulawa, S.C., and Hen, R. (2005). Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. *Neurosci Biobehav Rev* *29*, 771–783.
- Duman, R.S., and Monteggia, L.M. (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol. Psychiatry* *59*, 1116–1127.
- Dupret, D., Montaron, M.-F., Drapeau, E., Aurousseau, C., Le Moal, M., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2005). Methylazoxymethanol acetate does not fully block cell genesis in the young and aged dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci.* *22*, 778–783.
- 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.
- Dziedzicka-Wasylewska, M., Willner, P., and Papp, M. (1997). Changes in dopamine receptor mRNA expression following chronic mild stress and chronic antidepressant treatment. *Behav Pharmacol* *8*, 607–618.
- Earnheart, J.C., Schweizer, C., Crestani, F., Iwasato, T., Itohara, S., Mohler, H., and Lüscher, B. (2007). GABAergic control of adult hippocampal neurogenesis in relation to behavior indicative of trait anxiety and depression states. *J. Neurosci.* *27*, 3845–3854.
- Egan, M.F., Kojima, M., Callicott, J.H., Goldberg, T.E., Kolachana, B.S., Bertolino, A., Zaitsev, E., Gold, B., Goldman, D., Dean, M., et al. (2003). The BDNF val66met polymorphism affects activity-dependent secretion of BDNF and human memory and hippocampal function. *Cell* *112*, 257–269.
- Ehrhart-Bornstein, M., Hinson, J.P., Bornstein, S.R., Scherbaum, W.A., and Vinson, G.P. (1998). Intraadrenal interactions in the regulation of adrenocortical steroidogenesis. *Endocr. Rev.* *19*, 101–143.
- Eichenbaum, H. (2003). How does the hippocampus contribute to memory? *Trends Cogn. Sci. (Regul. Ed.)* *7*, 427–429.
- Elizalde, N., García-García, A.L., Totterdell, S., Gendive, N., Venzala, E., Ramirez, M.J., Del Rio, J., and Tordera, R.M. (2010). Sustained stress-induced changes in mice as a model for chronic depression. *Psychopharmacology (Berl.)* *210*, 393–406.

Emsley, J.G., and Hagg, T. (2003). Endogenous and exogenous ciliary neurotrophic factor enhances forebrain neurogenesis in adult mice. *Exp. Neurol.* 183, 298–310.

Encinas, J.M., and Enikolopov, G. (2008). Identifying and quantitating neural stem and progenitor cells in the adult brain. *Methods Cell Biol.* 85, 243–272.

Encinas, J.M., Vaahtokari, A., and Enikolopov, G. (2006). Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 8233–8238.

Engin, E., and Treit, D. (2007). The role of hippocampus in anxiety: intracerebral infusion studies. *Behav Pharmacol* 18, 365–374.

Engin, E., and Treit, D. (2008). Dissociation of the anxiolytic-like effects of Avpr1a and Avpr1b receptor antagonists in the dorsal and ventral hippocampus. *Neuropeptides* 42, 411–421.

Enns, M.W., and Cox, B.J. (1997). Personality dimensions and depression: review and commentary. *Can J Psychiatry* 42, 274–284.

Epstein, J., Pan, H., Kocsis, J.H., Yang, Y., Butler, T., Chusid, J., Hochberg, H., Murrough, J., Strohmayer, E., Stern, E., et al. (2006). Lack of ventral striatal response to positive stimuli in depressed versus normal subjects. *Am J Psychiatry* 163, 1784–1790.

Espósito, M.S., Piatti, V.C., Laplagne, D.A., Morgenstern, N.A., Ferrari, C.C., Pitossi, F.J., and Schinder, A.F. (2005). Neuronal differentiation in the adult hippocampus recapitulates embryonic development. *J. Neurosci.* 25, 10074–10086.

Fanselow, M.S., and Dong, H.-W. (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7–19.

Farley, S., Apazoglou, K., Witkin, J.M., Giros, B., and Tzavara, E.T. (2010). Antidepressant-like effects of an AMPA receptor potentiator under a chronic mild stress paradigm. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13, 1207–1218.

Farley, S., Dumas, S., El Mestikawy, S., and Giros, B. (2012). Increased expression of the Vesicular Glutamate Transporter-1 (VGLUT1) in the prefrontal cortex correlates with differential vulnerability to chronic stress in various mouse strains: effects of fluoxetine and MK-801. *Neuropharmacology* 62, 503–517.

Farmer, A.E., and McGuffin, P. (2003). Humiliation, loss and other types of life events and difficulties: a comparison of depressed subjects, healthy controls and their siblings. *Psychol Med* 33, 1169–1175.

Faulkner, R.L., Jang, M.-H., Liu, X.-B., Duan, X., Sailor, K.A., Kim, J.Y., Ge, S., Jones, E.G., Ming, G., Song, H., et al. (2008). Development of hippocampal mossy fiber synaptic outputs by new neurons in the adult brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 14157–14162.

Faure, J., Uys, J.D.K., Marais, L., Stein, D.J., and Daniels, W.M.U. (2007). Early maternal separation alters the response to traumatization: resulting in increased levels of hippocampal neurotrophic factors. *Metab Brain Dis* 22, 183–195.

Feldman, S., and Weidenfeld, J. (2001). Electrical stimulation of the dorsal hippocampus caused a long lasting inhibition of ACTH and adrenocortical responses to photic stimuli in freely moving rats. *Brain Res.* 911, 22–26.

- Felice, D., O'Leary, O.F., Pizzo, R.C., and Cryan, J.F. (2012). Blockade of the GABA(B) receptor increases neurogenesis in the ventral but not dorsal adult hippocampus: Relevance to antidepressant action. *Neuropharmacology*.
- Ferbinteanu, J., Ray, C., and McDonald, R.J. (2003). Both dorsal and ventral hippocampus contribute to spatial learning in Long-Evans rats. *Neurosci. Lett.* *345*, 131–135.
- Ferland, R.J., Gross, R.A., and Applegate, C.D. (2002). Differences in hippocampal mitotic activity within the dorsal and ventral hippocampus following flurothyl seizures in mice. *Neurosci. Lett.* *332*, 131–135.
- File, S.E., and Gonzalez, L.E. (1996). Anxiolytic effects in the plus-maze of 5-HT_{1A}-receptor ligands in dorsal raphe and ventral hippocampus. *Pharmacol. Biochem. Behav.* *54*, 123–128.
- Filippov, V., Kronenberg, G., Pivneva, T., Reuter, K., Steiner, B., Wang, L.P., Yamaguchi, M., Kettenmann, H., and Kempermann, G. (2003). Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Mol. Cell. Neurosci.* *23*, 373–382.
- Fitzsimons, C.P., van Hooijdonk, L.W.A., Schouten, M., Zalachoras, I., Brinks, V., Zheng, T., Schouten, T.G., Saaltink, D.J., Dijkmans, T., Steindler, D.A., et al. (2012). Knockdown of the glucocorticoid receptor alters functional integration of newborn neurons in the adult hippocampus and impairs fear-motivated behavior. *Mol. Psychiatry*.
- Flores, B.H., Kenna, H., Keller, J., Solvason, H.B., and Schatzberg, A.F. (2006). Clinical and biological effects of mifepristone treatment for psychotic depression. *Neuropsychopharmacology* *31*, 628–636.
- Floresco, S.B., Todd, C.L., and Grace, A.A. (2001). Glutamatergic afferents from the hippocampus to the nucleus accumbens regulate activity of ventral tegmental area dopamine neurons. *J. Neurosci.* *21*, 4915–4922.
- Fowler, C.D., Liu, Y., Ouimet, C., and Wang, Z. (2002). The effects of social environment on adult neurogenesis in the female prairie vole. *J. Neurobiol.* *51*, 115–128.
- Fox, C., Merali, Z., and Harrison, C. (2006). Therapeutic and protective effect of environmental enrichment against psychogenic and neurogenic stress. *Behav. Brain Res.* *175*, 1–8.
- Francis, F., Koulakoff, A., Boucher, D., Chafey, P., Schaar, B., Vinet, M.C., Friocourt, G., McDonnell, N., Reiner, O., Kahn, A., et al. (1999). Doublecortin is a developmentally regulated, microtubule-associated protein expressed in migrating and differentiating neurons. *Neuron* *23*, 247–256.
- Frank, E., Kupfer, D.J., Perel, J.M., Cornes, C., Jarrett, D.B., Mallinger, A.G., Thase, M.E., McEachran, A.B., and Grochocinski, V.J. (1990). Three-year outcomes for maintenance therapies in recurrent depression. *Arch. Gen. Psychiatry* *47*, 1093–1099.
- Frank, E., Novick, D., and Kupfer, D.J. (2005). Antidepressants and psychotherapy: a clinical research review. *Dialogues Clin Neurosci* *7*, 263–272.
- Frank, L.M., Stanley, G.B., and Brown, E.N. (2004). Hippocampal plasticity across multiple days of exposure to novel environments. *J. Neurosci.* *24*, 7681–7689.
- Frankland, P.W., Bontempi, B., Talton, L.E., Kaczmarek, L., and Silva, A.J. (2004). The involvement of the anterior cingulate cortex in remote contextual fear memory. *Science* *304*, 881–883.

Frasure-Smith, N., Lespérance, F., and Talajic, M. (1993). Depression following myocardial infarction. Impact on 6-month survival. *JAMA* 270, 1819–1825.

FREIS, E.D. (1954). Mental depression in hypertensive patients treated for long periods with large doses of reserpine. *N. Engl. J. Med.* 251, 1006–1008.

Frodl, T., Meisenzahl, E.M., Zetzsche, T., Born, C., Jäger, M., Groll, C., Bottlender, R., Leinsinger, G., and Möller, H.-J. (2003). Larger amygdala volumes in first depressive episode as compared to recurrent major depression and healthy control subjects. *Biol. Psychiatry* 53, 338–344.

Fu, C.H.Y., Williams, S.C.R., Cleare, A.J., Brammer, M.J., Walsh, N.D., Kim, J., Andrew, C.M., Pich, E.M., Williams, P.M., Reed, L.J., et al. (2004). Attenuation of the neural response to sad faces in major depression by antidepressant treatment: a prospective, event-related functional magnetic resonance imaging study. *Arch. Gen. Psychiatry* 61, 877–889.

Fuchs, E., Czéh, B., Michaelis, T., de Biurrun, G., Watanabe, T., and Frahm, J. (2002). Synaptic plasticity and tianeptine: structural regulation. *Eur. Psychiatry* 17 Suppl 3, 311–317.

Funato, H., Kobayashi, A., and Watanabe, Y. (2006). Differential effects of antidepressants on dexamethasone-induced nuclear translocation and expression of glucocorticoid receptor. *Brain Res.* 1117, 125–134.

Fuss, J., Ben Abdallah, N.M.B., Hensley, F.W., Weber, K.-J., Hellweg, R., and Gass, P. (2010). Deletion of running-induced hippocampal neurogenesis by irradiation prevents development of an anxious phenotype in mice. *PLoS ONE* 5,.

Gage, F.H., and Thompson, R.G. (1980). Differential distribution of norepinephrine and serotonin along the dorsal-ventral axis of the hippocampal formation. *Brain Res. Bull.* 5, 771–773.

Gama Sosa, M.A., Wen, P.H., De Gasperi, R., Perez, G.M., Senturk, E., Friedrich, V.L., Jr, and Elder, G.A. (2004). Entorhinal cortex lesioning promotes neurogenesis in the hippocampus of adult mice. *Neuroscience* 127, 881–891.

Garcia, A., Steiner, B., Kronenberg, G., Bick-Sander, A., and Kempermann, G. (2004a). Age-dependent expression of glucocorticoid- and mineralocorticoid receptors on neural precursor cell populations in the adult murine hippocampus. *Aging Cell* 3, 363–371.

Garcia, A.D.R., Doan, N.B., Imura, T., Bush, T.G., and Sofroniew, M.V. (2004b). GFAP-expressing progenitors are the principal source of constitutive neurogenesis in adult mouse forebrain. *Nat. Neurosci.* 7, 1233–1241.

Gatt, J.M., Nemeroff, C.B., Dobson-Stone, C., Paul, R.H., Bryant, R.A., Schofield, P.R., Gordon, E., Kemp, A.H., and Williams, L.M. (2009). Interactions between BDNF Val66Met polymorphism and early life stress predict brain and arousal pathways to syndromal depression and anxiety. *Mol. Psychiatry* 14, 681–695.

Ge, S., Goh, E.L.K., Sailor, K.A., Kitabatake, Y., Ming, G., and Song, H. (2006). GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* 439, 589–593.

Ge, S., Sailor, K.A., Ming, G., and Song, H. (2008). Synaptic integration and plasticity of new neurons in the adult hippocampus. *J. Physiol. (Lond.)* 586, 3759–3765.

- Ge, S., Yang, C.-H., Hsu, K.-S., Ming, G.-L., and Song, H. (2007). A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron* 54, 559–566.
- Ghose, S., Winter, M.K., McCarson, K.E., Tamminga, C.A., and Enna, S.J. (2011). The GABA_A receptor as a target for antidepressant drug action. *Br. J. Pharmacol.* 162, 1–17.
- Gibbons, R.D., and Davis, J.M. (1986). Consistent evidence for a biological subtype of depression characterized by low CSF monoamine levels. *Acta Psychiatr Scand* 74, 8–12.
- Glassman, A.H., and Shapiro, P.A. (1998). Depression and the course of coronary artery disease. *Am J Psychiatry* 155, 4–11.
- Gobbi, G., and Blier, P. (2005). Effect of neurokinin-1 receptor antagonists on serotonergic, noradrenergic and hippocampal neurons: comparison with antidepressant drugs. *Peptides* 26, 1383–1393.
- Goddard, A.W., Ball, S.G., Martinez, J., Robinson, M.J., Yang, C.R., Russell, J.M., and Shekhar, A. (2010). Current perspectives of the roles of the central norepinephrine system in anxiety and depression. *Depress Anxiety* 27, 339–350.
- Goldberg, J.F., Frye, M.A., and Dunn, R.T. (1999). Pramipexole in refractory bipolar depression. *Am J Psychiatry* 156, 798.
- Gorzalka, B.B., and Hill, M.N. (2011). Putative role of endocannabinoid signaling in the etiology of depression and actions of antidepressants. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 35, 1575–1585.
- Goshen, I., Kreisel, T., Ben-Menachem-Zidon, O., Licht, T., Weidenfeld, J., Ben-Hur, T., and Yirmiya, R. (2008). Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Mol. Psychiatry* 13, 717–728.
- Gould, E. (1994). The effects of adrenal steroids and excitatory input on neuronal birth and survival. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 743, 73–92; discussion 92–93.
- Gould, E., McEwen, B.S., Tanapat, P., Galea, L.A., and Fuchs, E. (1997). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J. Neurosci.* 17, 2492–2498.
- Grabiec, M., Turlejski, K., and Djavadian, R.L. (2009). The partial 5-HT_{1A} receptor agonist buspirone enhances neurogenesis in the opossum (*Monodelphis domestica*). *Eur Neuropsychopharmacol* 19, 431–439.
- Gray, J.A. (1971). *The psychology of fear and stress* (London: Weidenfeld and Nicolson).
- Greenberg, B.D., Li, Q., Lucas, F.R., Hu, S., Sirota, L.A., Benjamin, J., Lesch, K.P., Hamer, D., and Murphy, D.L. (2000). Association between the serotonin transporter promoter polymorphism and personality traits in a primarily female population sample. *Am. J. Med. Genet.* 96, 202–216.
- Greicius, M.D., Krasnow, B., Boyett-Anderson, J.M., Eliez, S., Schatzberg, A.F., Reiss, A.L., and Menon, V. (2003). Regional analysis of hippocampal activation during memory encoding and retrieval: fMRI study. *Hippocampus* 13, 164–174.

- Gross, C., Santarelli, L., Brunner, D., Zhuang, X., and Hen, R. (2000). Altered fear circuits in 5-HT(1A) receptor KO mice. *Biol. Psychiatry* *48*, 1157–1163.
- Guiard, B.P., El Mansari, M., and Blier, P. (2008). Cross-talk between dopaminergic and noradrenergic systems in the rat ventral tegmental area, locus ceruleus, and dorsal hippocampus. *Mol. Pharmacol.* *74*, 1463–1475.
- Guiard, B.P., El Mansari, M., and 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, J.-P., David, D.J.P., Xia, L., Nguyen, H.T., Rainer, Q., Guiard, B.P., Repérant, C., Deltheil, T., Toth, M., Hen, R., et al. (2011a). Characterization of 5-HT(1A/1B)-/- mice: an animal model sensitive to anxiolytic treatments. *Neuropharmacology* *61*, 478–488.
- Guilloux, J.-P., Douillard-Guilloux, G., Kota, R., Wang, X., Gardier, A.M., Martinowich, K., Tseng, G.C., Lewis, D.A., and Sibille, E. (2011b). Molecular evidence for BDNF- and GABA-related dysfunctions in the amygdala of female subjects with major depression. *Mol. Psychiatry*.
- Gurden, H., Takita, M., and Jay, T.M. (2000). Essential role of D1 but not D2 receptors in the NMDA receptor-dependent long-term potentiation at hippocampal-prefrontal cortex synapses in vivo. *J. Neurosci.* *20*, RC106.
- Haddjeri, N., Blier, P., and de Montigny, C. (1998). Acute and long-term actions of the antidepressant drug mirtazapine on central 5-HT neurotransmission. *J Affect Disord* *51*, 255–266.
- Hajós, M., Fleishaker, J.C., Filipiak-Reisner, J.K., Brown, M.T., and Wong, E.H.F. (2004). The selective norepinephrine reuptake inhibitor antidepressant reboxetine: pharmacological and clinical profile. *CNS Drug Rev* *10*, 23–44.
- Halim, N.D., Weickert, C.S., McClintock, B.W., Weinberger, D.R., and Lipska, B.K. (2004). Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* *29*, 1063–1069.
- Hamani, C., and Nóbrega, J.N. (2010). Deep brain stimulation in clinical trials and animal models of depression. *Eur. J. Neurosci.* *32*, 1109–1117.
- Harker, K.T., and Whishaw, I.Q. (2004). Impaired place navigation in place and matching-to-place swimming pool tasks follows both retrosplenial cortex lesions and cingulum bundle lesions in rats. *Hippocampus* *14*, 224–231.
- Harkness, K.L., and Monroe, S.M. (2006). Severe melancholic depression is more vulnerable than non-melancholic depression to minor precipitating life events. *J Affect Disord* *91*, 257–263.
- Hartley, T., Maguire, E.A., Spiers, H.J., and Burgess, N. (2003). The well-worn route and the path less traveled: distinct neural bases of route following and wayfinding in humans. *Neuron* *37*, 877–888.
- Hashimoto, K. (2009). Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder. *Brain Res Rev* *61*, 105–123.
- Hashimoto, K., and Kita, H. (2008). Serotonin activates presynaptic and postsynaptic receptors in rat globus pallidus. *J. Neurophysiol.* *99*, 1723–1732.

- Hasler, G., Drevets, W.C., Manji, H.K., and Charney, D.S. (2004). Discovering endophenotypes for major depression. *Neuropsychopharmacology* 29, 1765–1781.
- Hasler, G., Fromm, S., Alvarez, R.P., Luckenbaugh, D.A., Drevets, W.C., and Grillon, C. (2007). Cerebral blood flow in immediate and sustained anxiety. *J. Neurosci.* 27, 6313–6319.
- Hasler, G., and Northoff, G. (2011). Discovering imaging endophenotypes for major depression. *Mol. Psychiatry* 16, 604–619.
- Hastings, N.B., and Gould, E. (1999). Rapid extension of axons into the CA3 region by adult-generated granule cells. *J. Comp. Neurol.* 413, 146–154.
- Hawley, D.F., and Leasure, J.L. (2012). Region-specific response of the hippocampus to chronic unpredictable stress. *Hippocampus* 22, 1338–1349.
- Hebb, D. (1947). The effects of early experience on problem solving at maturity. *Am Psychol* 2, 306–307.
- Heim, C., and Nemeroff, C.B. (2002). Neurobiology of early life stress: clinical studies. *Semin Clin Neuropsychiatry* 7, 147–159.
- Heine, V.M., Maslam, S., Joëls, M., and Lucassen, P.J. (2004). Prominent decline of newborn cell proliferation, differentiation, and apoptosis in the aging dentate gyrus, in absence of an age-related hypothalamus-pituitary-adrenal axis activation. *Neurobiol. Aging* 25, 361–375.
- Heisler, L.K., Chu, H.M., Brennan, T.J., Danao, J.A., Bajwa, P., Parsons, L.H., and Tecott, L.H. (1998). Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 15049–15054.
- Herman, J.P., and Cullinan, W.E. (1997). Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.* 20, 78–84.
- Herman, J.P., Cullinan, W.E., Morano, M.I., Akil, H., and Watson, S.J. (1995). Contribution of the ventral subiculum to inhibitory regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J. Neuroendocrinol.* 7, 475–482.
- Herman, J.P., and Mueller, N.K. (2006). Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behav. Brain Res.* 174, 215–224.
- Herman, J.P., Ostrander, M.M., Mueller, N.K., and Figueiredo, H. (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 1201–1213.
- Hill, M.N., Titterness, A.K., Morrish, A.C., Carrier, E.J., Lee, T.T.-Y., Gil-Mohapel, J., Gorzalka, B.B., Hillard, C.J., and Christie, B.R. (2010). Endogenous cannabinoid signaling is required for voluntary exercise-induced enhancement of progenitor cell proliferation in the hippocampus. *Hippocampus* 20, 513–523.
- Hirayasu, Y., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Kwon, J.S., Wible, C.G., Fischer, I.A., Yurgelun-Todd, D., Zarate, C., Kikinis, R., Jolesz, F.A., et al. (1999). Subgenual cingulate cortex volume in first-episode psychosis. *Am J Psychiatry* 156, 1091–1093.

- Ho, Y.C., and Wang, S. (2010). Adult neurogenesis is reduced in the dorsal hippocampus of rats displaying learned helplessness behavior. *Neuroscience* 171, 153–161.
- Hock, B.J., Jr, and Bunsey, M.D. (1998). Differential effects of dorsal and ventral hippocampal lesions. *J. Neurosci.* 18, 7027–7032.
- Höglinger, G.U., Rizk, P., Muriel, M.P., Duyckaerts, C., Oertel, W.H., Caille, I., and Hirsch, E.C. (2004). Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat. Neurosci.* 7, 726–735.
- Holick, K.A., Lee, D.C., Hen, R., and Dulawa, S.C. (2008). Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/cJ mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 33, 406–417.
- Holmes, A., le Guisquet, A.M., Vogel, E., Millstein, R.A., Leman, S., and Belzung, C. (2005). Early life genetic, epigenetic and environmental factors shaping emotionality in rodents. *Neurosci Biobehav Rev* 29, 1335–1346.
- Holmes, A., Heilig, M., Rupniak, N.M.J., Steckler, T., and Griebel, G. (2003). Neuropeptide systems as novel therapeutic targets for depression and anxiety disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 24, 580–588.
- Holmes, M.C., Yau, J.L., French, K.L., and Seckl, J.R. (1995). The effect of adrenalectomy on 5-hydroxytryptamine and corticosteroid receptor subtype messenger RNA expression in rat hippocampus. *Neuroscience* 64, 327–337.
- Holsboer, F. (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 23, 477–501.
- Holsboer, F., and Barden, N. (1996). Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr. Rev.* 17, 187–205.
- Holsboer, F., and Ising, M. (2008). Central CRH system in depression and anxiety--evidence from clinical studies with CRH1 receptor antagonists. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 350–357.
- Holsboer, F., Lauer, C.J., Schreiber, W., and Krieg, J.C. (1995). Altered hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation in healthy subjects at high familial risk for affective disorders. *Neuroendocrinology* 62, 340–347.
- Holtzheimer, P.E., and Mayberg, H.S. (2011). Stuck in a rut: rethinking depression and its treatment. *Trends Neurosci.* 34, 1–9.
- Horn, D.I., Yu, C., Steiner, J., Buchmann, J., Kaufmann, J., Osoba, A., Eckert, U., Zierhut, K.C., Schiltz, K., He, H., et al. (2010). Glutamatergic and resting-state functional connectivity correlates of severity in major depression - the role of pregenual anterior cingulate cortex and anterior insula. *Front Syst Neurosci* 4,.
- Van den Hove, D.L.A., Lauder, J.M., Scheepens, A., Prickaerts, J., Blanco, C.E., and Steinbusch, H.W.M. (2006). Prenatal stress in the rat alters 5-HT1A receptor binding in the ventral hippocampus. *Brain Res.* 1090, 29–34.
- de Hoz, L., Knox, J., and Morris, R.G.M. (2003). Longitudinal axis of the hippocampus: both septal and temporal poles of the hippocampus support water maze spatial learning depending on the training protocol. *Hippocampus* 13, 587–603.

- Hu, X.J., Wang, F.-H., Stenfors, C., Ogren, S.O., and Kehr, J. (2007). Effects of the 5-HT_{1B} receptor antagonist NAS-181 on extracellular levels of acetylcholine, glutamate and GABA in the frontal cortex and ventral hippocampus of awake rats: a microdialysis study. *Eur Neuropsychopharmacol* 17, 580–586.
- Huang, G.-J., Bannerman, D., and Flint, J. (2008). Chronic fluoxetine treatment alters behavior, but not adult hippocampal neurogenesis, in BALB/cJ mice. *Mol. Psychiatry* 13, 119–121.
- Huang, G.-J., and Herbert, J. (2006). Stimulation of neurogenesis in the hippocampus of the adult rat by fluoxetine requires rhythmic change in corticosterone. *Biol. Psychiatry* 59, 619–624.
- Hughes, K.R. (1965). Dorsal and ventral hippocampus lesions and maze learning: influence of preoperative environment. *Can J Psychol* 19, 325–332.
- Huhman, K.L. (2006). Social conflict models: can they inform us about human psychopathology? *Horm Behav* 50, 640–646.
- Hunsaker, M.R., and Kesner, R.P. (2008). Dissociations across the dorsal-ventral axis of CA3 and CA1 for encoding and retrieval of contextual and auditory-cued fear. *Neurobiol Learn Mem* 89, 61–69.
- Ibarguen-Vargas, Y., Surget, A., Touma, C., Palme, R., and Belzung, C. (2008). Multifaceted strain-specific effects in a mouse model of depression and of antidepressant reversal. *Psychoneuroendocrinology* 33, 1357–1368.
- Ide, Y., Fujiyama, F., Okamoto-Furuta, K., Tamamaki, N., Kaneko, T., and Hisatsune, T. (2008). Rapid integration of young newborn dentate gyrus granule cells in the adult hippocampal circuitry. *Eur. J. Neurosci.* 28, 2381–2392.
- Ikegaya, Y., Saito, H., and Abe, K. (1996). Dentate gyrus field potentials evoked by stimulation of the basolateral amygdaloid nucleus in anesthetized rats. *Brain Res.* 718, 53–60.
- Imayoshi, I., Sakamoto, M., and Kageyama, R. (2011). Genetic methods to identify and manipulate newly born neurons in the adult brain. *Front Neurosci* 5, 64.
- Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (France), Fondation MGEN pour la santé publique, and Institut de veille sanitaire (France) (2009). La dépression en France : enquête Anadep 2005 (Saint-Denis: INPES).
- Ishikawa, A., and Nakamura, S. (2006). Ventral hippocampal neurons project axons simultaneously to the medial prefrontal cortex and amygdala in the rat. *J. Neurophysiol.* 96, 2134–2138.
- Ising, M., Horstmann, S., Kloiber, S., Lucae, S., Binder, E.B., Kern, N., Kunzel, H.E., Pfennig, A., Uhr, M., and Holsboer, F. (2007). Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression - a potential biomarker? *Biol. Psychiatry* 62, 47–54.
- Jaako-Movits, K., and Zharkovsky, A. (2005). Impaired fear memory and decreased hippocampal neurogenesis following olfactory bulbectomy in rats. *Eur. J. Neurosci.* 22, 2871–2878.
- 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.

- Jakovljević, M., Mück-Seler, D., Pivac, N., Ljubicić, D., Bujas, M., and Dodig, G. (1997). Seasonal influence on platelet 5-HT levels in patients with recurrent major depression and schizophrenia. *Biol. Psychiatry* *41*, 1028–1034.
- Jarrard, L.E., Luu, L.P., and Davidson, T.L. (2012). A study of hippocampal structure-function relations along the septo-temporal axis. *Hippocampus* *22*, 680–692.
- Jayatissa, M.N., Bisgaard, C., Tingström, A., Papp, M., and Wiborg, O. (2006). Hippocampal cytogenesis correlates to escitalopram-mediated recovery in a chronic mild stress rat model of depression. *Neuropsychopharmacology* *31*, 2395–2404.
- 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.
- Jesberger, J.A., and Richardson, J.S. (1985). Animal models of depression: parallels and correlates to severe depression in humans. *Biol. Psychiatry* *20*, 764–784.
- Jessberger, S., Zhao, C., Toni, N., Clemenson, G.D., Jr, Li, Y., and Gage, F.H. (2007). Seizure-associated, aberrant neurogenesis in adult rats characterized with retrovirus-mediated cell labeling. *J. Neurosci.* *27*, 9400–9407.
- 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.
- Jiang, W., Zhang, Y., Xiao, L., Van Cleemput, J., Ji, S.-P., Bai, G., and Zhang, X. (2005). Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J. Clin. Invest.* *115*, 3104–3116.
- Jin, K., Xie, L., Kim, S.H., Parmentier-Batteur, S., Sun, Y., Mao, X.O., Childs, J., and Greenberg, D.A. (2004). Defective adult neurogenesis in CB1 cannabinoid receptor knockout mice. *Mol. Pharmacol.* *66*, 204–208.
- Jinno, S. (2011a). Decline in adult neurogenesis during aging follows a topographic pattern in the mouse hippocampus. *J. Comp. Neurol.* *519*, 451–466.
- Jinno, S. (2011b). Topographic differences in adult neurogenesis in the mouse hippocampus: a stereology-based study using endogenous markers. *Hippocampus* *21*, 467–480.
- Joëls, M., and Baram, T.Z. (2009). The neuro-symphony of stress. *Nat. Rev. Neurosci.* *10*, 459–466.
- John, C.S., Smith, K.L., Van't Veer, A., Gompf, H.S., Carlezon, W.A., Jr, Cohen, B.M., Ongür, D., and Bechtholt-Gompf, A.J. (2012). Blockade of astrocytic glutamate uptake in the prefrontal cortex induces anhedonia. *Neuropsychopharmacology* *37*, 2467–2475.
- Jones, M.W., and Wilson, M.A. (2005). Theta rhythms coordinate hippocampal-prefrontal interactions in a spatial memory task. *PLoS Biol.* *3*, e402.
- Juhasz, G., Chase, D., Pegg, E., Downey, D., Toth, Z.G., Stones, K., Platt, H., Mekli, K., Payton, A., Elliott, R., et al. (2009). CNR1 gene is associated with high neuroticism and low agreeableness and interacts with recent negative life events to predict current depressive symptoms. *Neuropsychopharmacology* *34*, 2019–2027.

- Jung, M.W., Wiener, S.I., and McNaughton, B.L. (1994). Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *J. Neurosci.* *14*, 7347–7356.
- Kalueff, A.V., and Tuohimaa, P. (2005). Contrasting grooming phenotypes in three mouse strains markedly different in anxiety and activity (129S1, BALB/c and NMRI). *Behav. Brain Res.* *160*, 1–10.
- Kametani, H. (1988). Analysis of age-related changes in stress-induced grooming in the rat. Differential behavioral profile of adaptation to stress. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *525*, 101–113.
- Kaplan, R.D., and Mann, J.J. (1982). Altered platelet serotonin uptake kinetics in schizophrenia and depression. *Life Sci.* *31*, 583–588.
- Karege, F., Vaudan, G., Schwald, M., Perroud, N., and La Harpe, R. (2005). Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs. *Brain Res. Mol. Brain Res.* *136*, 29–37.
- Karg, K., Burmeister, M., Shedden, K., and Sen, S. (2011). The serotonin transporter promoter variant (5-HTTLPR), stress, and depression meta-analysis revisited: evidence of genetic moderation. *Arch. Gen. Psychiatry* *68*, 444–454.
- Katz, R.J., Roth, K.A., and Carroll, B.J. (1981). Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* *5*, 247–251.
- Kee, N., Teixeira, C.M., Wang, A.H., and Frankland, P.W. (2007). Preferential incorporation of adult-generated granule cells into spatial memory networks in the dentate gyrus. *Nat. Neurosci.* *10*, 355–362.
- Keilhoff, G., Grecksch, G., Bernstein, H.-G., Roskoden, T., and Becker, A. (2010). Risperidone and haloperidol promote survival of stem cells in the rat hippocampus. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* *260*, 151–162.
- Kempermann, G., and Gage, F.H. (2002). Genetic influence on phenotypic differentiation in adult hippocampal neurogenesis. *Brain Res. Dev. Brain Res.* *134*, 1–12.
- 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.
- Kendler, K.S., and Gardner, C.O. (2011). A longitudinal etiologic model for symptoms of anxiety and depression in women. *Psychol Med* *41*, 2035–2045.
- Kendler, K.S., Gardner, C.O., and Prescott, C.A. (2006). Toward a comprehensive developmental model for major depression in men. *Am J Psychiatry* *163*, 115–124.
- Kheirbek, M.A., and Hen, R. (2011). Dorsal vs ventral hippocampal neurogenesis: implications for cognition and mood. *Neuropsychopharmacology* *36*, 373–374.
- Kim, H.J., and Sun, W. (2012). Adult neurogenesis in the central and peripheral nervous systems. *Int Neurol* *16*, 57–61.
- Kim, J.J., and Diamond, D.M. (2002). The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nat. Rev. Neurosci.* *3*, 453–462.

- Kim, J.J., and Fanselow, M.S. (1992). Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science* 256, 675–677.
- Kim, W.R., Chun, S.K., Kim, T.W., Kim, H., Ono, K., Takebayashi, H., Ikenaka, K., Oppenheim, R.W., and Sun, W. (2011). Evidence for the spontaneous production but massive programmed cell death of new neurons in the subcallosal zone of the postnatal mouse brain. *Eur. J. Neurosci.* 33, 599–611.
- Kimble, D.P., and Kimble, R.J. (1965). Hippocampectomy and response perseveration in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 60, 474–476.
- Kirby, E.D., Friedman, A.R., Covarrubias, D., Ying, C., Sun, W.G., Goosens, K.A., Sapolsky, R.M., and Kaufer, D. (2012). Basolateral amygdala regulation of adult hippocampal neurogenesis and fear-related activation of newborn neurons. *Mol. Psychiatry* 17, 527–536.
- Kishi, T., Tsumori, T., Ono, K., Yokota, S., Ishino, H., and Yasui, Y. (2000). Topographical organization of projections from the subiculum to the hypothalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 419, 205–222.
- Kitchener, P., Di Blasi, F., Borrelli, E., and Piazza, P.V. (2004). Differences between brain structures in nuclear translocation and DNA binding of the glucocorticoid receptor during stress and the circadian cycle. *Eur. J. Neurosci.* 19, 1837–1846.
- Kjelstrup, K.B., Solstad, T., Brun, V.H., Hafting, T., Leutgeb, S., Witter, M.P., Moser, E.I., and Moser, M.-B. (2008). Finite scale of spatial representation in the hippocampus. *Science* 321, 140–143.
- Kjelstrup, K.G., Tuvnes, F.A., Steffenach, H.-A., Murison, R., Moser, E.I., and Moser, M.-B. (2002). Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 10825–10830.
- Klemenhagen, K.C., Gordon, J.A., David, D.J., Hen, R., and Gross, C.T. (2006). Increased fear response to contextual cues in mice lacking the 5-HT1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 31, 101–111.
- Klempin, F., Babu, H., De Pietri Tonelli, D., Alarcon, E., Fabel, K., and Kempermann, G. (2010). Oppositional effects of serotonin receptors 5-HT1a, 2, and 2c in the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *Front Mol Neurosci* 3,.
- De Kloet, E.R., and Derijk, R. (2004). Signaling pathways in brain involved in predisposition and pathogenesis of stress-related disease: genetic and kinetic factors affecting the MR/GR balance. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1032, 14–34.
- de Kloet, E.R., de Jong, I.E.M., and Oitzl, M.S. (2008). Neuropharmacology of glucocorticoids: focus on emotion, cognition and cocaine. *Eur. J. Pharmacol.* 585, 473–482.
- Klur, S., Muller, C., Pereira de Vasconcelos, A., Ballard, T., Lopez, J., Galani, R., Certa, U., and Cassel, J.-C. (2009). Hippocampal-dependent spatial memory functions might be lateralized in rats: An approach combining gene expression profiling and reversible inactivation. *Hippocampus* 19, 800–816.
- Kobilo, T., Liu, Q.-R., Gandhi, K., Mughal, M., Shaham, Y., and van Praag, H. (2011). Running is the neurogenic and neurotrophic stimulus in environmental enrichment. *Learn. Mem.* 18, 605–609.
- Köhler, C., and Steinbusch, H. (1982). Identification of serotonin and non-serotonin-containing neurons of the mid-brain raphe projecting to the entorhinal area and the hippocampal formation. *A*

combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat brain. *Neuroscience* 7, 951–975.

Kokoeva, M.V., Yin, H., and Flier, J.S. (2005). Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. *Science* 310, 679–683.

Koo, J.W., and Duman, R.S. (2008). IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 751–756.

Koponen, E., Rantamäki, T., Voikar, V., Saarelainen, T., MacDonald, E., and Castrén, E. (2005). Enhanced BDNF signaling is associated with an antidepressant-like behavioral response and changes in brain monoamines. *Cell. Mol. Neurobiol.* 25, 973–980.

Kronenberg, G., Reuter, K., Steiner, B., Brandt, M.D., Jessberger, S., Yamaguchi, M., and Kempermann, G. (2003). Subpopulations of proliferating cells of the adult hippocampus respond differently to physiologic neurogenic stimuli. *J. Comp. Neurol.* 467, 455–463.

Kryukov, V.I. (2008). The role of the hippocampus in long-term memory: is it memory store or comparator? *J. Integr. Neurosci.* 7, 117–184.

Kuhn, H.G., Dickinson-Anson, H., and Gage, F.H. (1996). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J. Neurosci.* 16, 2027–2033.

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.

Kumaran, D., Summerfield, J.J., Hassabis, D., and Maguire, E.A. (2009). Tracking the emergence of conceptual knowledge during human decision making. *Neuron* 63, 889–901.

Kunugi, H., Ida, I., Owashi, T., Kimura, M., Inoue, Y., Nakagawa, S., Yabana, T., Urushibara, T., Kanai, R., Aihara, M., et al. (2006). Assessment of the dexamethasone/CRH test as a state-dependent marker for hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis abnormalities in major depressive episode: a Multicenter Study. *Neuropsychopharmacology* 31, 212–220.

Lacefield, C.O., Itskov, V., Reardon, T., Hen, R., and Gordon, J.A. (2012). Effects of adult-generated granule cells on coordinated network activity in the dentate gyrus. *Hippocampus* 22, 106–116.

Ladd, C.O., Huot, R.L., Thirivikraman, K.V., Nemeroff, C.B., Meaney, M.J., and Plotsky, P.M. (2000). Long-term behavioral and neuroendocrine adaptations to adverse early experience. *Prog. Brain Res.* 122, 81–103.

Lagace, D.C., Donovan, M.H., DeCarolis, N.A., Farnbauch, L.A., Malhotra, S., Berton, O., Nestler, E.J., Krishnan, V., and Eisch, A.J. (2010). Adult hippocampal neurogenesis is functionally important for stress-induced social avoidance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 107, 4436–4441.

Lajud, N., Roque, A., Cajero, M., Gutiérrez-Ospina, G., and Torner, L. (2012). Periodic maternal separation decreases hippocampal neurogenesis without affecting basal corticosterone during the stress hypo-responsive period, but alters HPA axis and coping behavior in adulthood. *Psychoneuroendocrinology* 37, 410–420.

- Lambert, G., Johansson, M., Agren, H., and Friberg, P. (2000). Reduced brain norepinephrine and dopamine release in treatment-refractory depressive illness: evidence in support of the catecholamine hypothesis of mood disorders. *Arch. Gen. Psychiatry* 57, 787–793.
- Larsen, M.H., Mikkelsen, J.D., Hay-Schmidt, A., and Sandi, C. (2010). Regulation of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in the chronic unpredictable stress rat model and the effects of chronic antidepressant treatment. *J Psychiatr Res* 44, 808–816.
- Lattanzi, L., Dell’Osso, L., Cassano, P., Pini, S., Rucci, P., Houck, P.R., Gemignani, A., Battistini, G., Bassi, A., Abelli, M., et al. (2002). Pramipexole in treatment-resistant depression: a 16-week naturalistic study. *Bipolar Disord* 4, 307–314.
- Lavenex, P.B., Amaral, D.G., and Lavenex, P. (2006). Hippocampal lesion prevents spatial relational learning in adult macaque monkeys. *J. Neurosci.* 26, 4546–4558.
- Laviola, G., Hannan, A.J., Macrì, S., Solinas, M., and Jaber, M. (2008). Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol. Dis.* 31, 159–168.
- Lazarini, F., and Lledo, P.-M. (2011). Is adult neurogenesis essential for olfaction? *Trends Neurosci.* 34, 20–30.
- Lee, I., and Kesner, R.P. (2004). Encoding versus retrieval of spatial memory: double dissociation between the dentate gyrus and the perforant path inputs into CA3 in the dorsal hippocampus. *Hippocampus* 14, 66–76.
- Lee, J.-S., Jang, D.-J., Lee, N., Ko, H.-G., Kim, H., Kim, Y.-S., Kim, B., Son, J., Kim, S.H., Chung, H., et al. (2009). Induction of neuronal vascular endothelial growth factor expression by cAMP in the dentate gyrus of the hippocampus is required for antidepressant-like behaviors. *J. Neurosci.* 29, 8493–8505.
- Legault, M., Rompré, P.P., and Wise, R.A. (2000). Chemical stimulation of the ventral hippocampus elevates nucleus accumbens dopamine by activating dopaminergic neurons of the ventral tegmental area. *J. Neurosci.* 20, 1635–1642.
- Leuner, B., Kozorovitskiy, Y., Gross, C.G., and Gould, E. (2007). Diminished adult neurogenesis in the marmoset brain precedes old age. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 17169–17173.
- LEVINE, S., ALPERT, M., and LEWIS, G.W. (1957). Infantile experience and the maturation of the pituitary adrenal axis. *Science* 126, 1347.
- Levitan, R.D., Vaccarino, F.J., Brown, G.M., and Kennedy, S.H. (2002). Low-dose dexamethasone challenge in women with atypical major depression: pilot study. *J Psychiatry Neurosci* 27, 47–51.
- Li, Y., Luikart, B.W., Birnbaum, S., Chen, J., Kwon, C.-H., Kernie, S.G., Bassel-Duby, R., and Parada, L.F. (2008). TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron* 59, 399–412.
- Lin, Y.-L., Lin, S.-Y., and Wang, S. (2012). Prenatal lipopolysaccharide exposure increases anxiety-like behaviors and enhances stress-induced corticosterone responses in adult rats. *Brain Behav. Immun.* 26, 459–468.
- Linnoila, M., Karoum, F., Miller, T., and Potter, W.Z. (1983). Reliability of urinary monoamine and metabolite output measurements in depressed patients. *Am J Psychiatry* 140, 1055–1057.

- Liu, S., Wang, J., Zhu, D., Fu, Y., Lukowiak, K., and Lu, Y.M. (2003). Generation of functional inhibitory neurons in the adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 23, 732–736.
- Liu, Y., Fujise, N., and Kosaka, T. (1996). Distribution of calretinin immunoreactivity in the mouse dentate gyrus. I. General description. *Exp Brain Res* 108, 389–403.
- Lodge, D.J., and Grace, A.A. (2006). The hippocampus modulates dopamine neuron responsivity by regulating the intensity of phasic neuron activation. *Neuropsychopharmacology* 31, 1356–1361.
- Loureiro, M., Lecourtier, L., Engeln, M., Lopez, J., Cosquer, B., Geiger, K., Kelche, C., Cassel, J.-C., and Pereira de Vasconcelos, A. (2012). The ventral hippocampus is necessary for expressing a spatial memory. *Brain Struct Funct* 217, 93–106.
- 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.
- Lucassen, P.J., Stumpel, M.W., Wang, Q., and Aronica, E. (2010). Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. *Neuropharmacology* 58, 940–949.
- Lugert, S., Basak, O., Knuckles, P., Haussler, U., Fabel, K., Götz, M., Haas, C.A., Kempermann, G., Taylor, V., and Giachino, C. (2010). Quiescent and active hippocampal neural stem cells with distinct morphologies respond selectively to physiological and pathological stimuli and aging. *Cell Stem Cell* 6, 445–456.
- Luzzati, F., De Marchis, S., Fasolo, A., and Peretto, P. (2006). Neurogenesis in the caudate nucleus of the adult rabbit. *J. Neurosci.* 26, 609–621.
- Maas, J.W., Fawcett, J.A., and Dekirmenjian, H. (1972). Catecholamine metabolism, depressive illness, and drug response. *Arch. Gen. Psychiatry* 26, 252–262.
- Maccari, S., Darnaudery, M., Morley-Fletcher, S., Zuena, A.R., Cinque, C., and Van Reeth, O. (2003). Prenatal stress and long-term consequences: implications of glucocorticoid hormones. *Neurosci Biobehav Rev* 27, 119–127.
- MacQueen, G.M., Campbell, S., McEwen, B.S., Macdonald, K., Amano, S., Joffe, R.T., Nahmias, C., and Young, L.T. (2003). Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 1387–1392.
- MacQueen, G.M., Yucel, K., Taylor, V.H., Macdonald, K., and Joffe, R. (2008). Posterior hippocampal volumes are associated with remission rates in patients with major depressive disorder. *Biol. Psychiatry* 64, 880–883.
- Madaan, V., and Wilson, D.R. (2009). Neuropeptides: relevance in treatment of depression and anxiety disorders. *Drug News Perspect.* 22, 319–324.
- Maes, M., Vandewoude, M., Schotte, C., Martin, M., D’Hondt, P., Scharpe, S., and Blockx, P. (1990). The decreased availability of L-tryptophan in depressed females: clinical and biological correlates. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 14, 903–919.
- Maggio, N., and Segal, M. (2012). Steroid modulation of hippocampal plasticity: switching between cognitive and emotional memories. *Front Cell Neurosci* 6, 12.

- Maguire, E.A., Frackowiak, R.S., and Frith, C.D. (1997). Recalling routes around london: activation of the right hippocampus in taxi drivers. *J. Neurosci.* 17, 7103–7110.
- Maguire, E.A., Gadian, D.G., Johnsrude, I.S., Good, C.D., Ashburner, J., Frackowiak, R.S., and Frith, C.D. (2000). Navigation-related structural change in the hippocampi of taxi drivers. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 4398–4403.
- Mahar, I., Tan, S., Davoli, M.A., Dominguez-Lopez, S., Qiang, C., Rachalski, A., Turecki, G., and Mechawar, N. (2011). Subchronic peripheral neuregulin-1 increases ventral hippocampal neurogenesis and induces antidepressant-like effects. *PLoS ONE* 6, e26610.
- Maier, S.F. (1984). Learned helplessness and animal models of depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 8, 435–446.
- 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., Platt, B., Rizzo, S.J.S., Ring, R.H., Lucki, I., Schechter, L.E., and Rosenzweig-Lipson, S. (2007). Increasing the levels of insulin-like growth factor-I by an IGF binding protein inhibitor produces anxiolytic and antidepressant-like effects. *Neuropsychopharmacology* 32, 2360–2368.
- Manganas, L.N., Zhang, X., Li, Y., Hazel, R.D., Smith, S.D., Wagshul, M.E., Henn, F., Benveniste, H., Djuric, P.M., Enikolopov, G., et al. (2007). Magnetic resonance spectroscopy identifies neural progenitor cells in the live human brain. *Science* 318, 980–985.
- Mangiavacchi, S., Masi, F., Scheggi, S., Leggio, B., De Montis, M.G., and Gambarana, C. (2001). Long-term behavioral and neurochemical effects of chronic stress exposure in rats. *J. Neurochem.* 79, 1113–1121.
- Manji, H.K., Moore, G.J., and Chen, G. (2000). Lithium up-regulates the cytoprotective protein Bcl-2 in the CNS in vivo: a role for neurotrophic and neuroprotective effects in manic depressive illness. *J Clin Psychiatry* 61 Suppl 9, 82–96.
- Mann, J.J. (2003). Neurobiology of suicidal behaviour. *Nat. Rev. Neurosci.* 4, 819–828.
- Mann, J.J. (2005). The medical management of depression. *N. Engl. J. Med.* 353, 1819–1834.
- Mann, J.J., Henteloff, R.A., Lagattuta, T.F., Perper, J.A., Li, S., and Arango, V. (1996). Lower 3H-paroxetine binding in cerebral cortex of suicide victims is partly due to fewer high affinity, non-transporter sites. *J Neural Transm* 103, 1337–1350.
- Manosevitz, M. (1970). Prolonged aperiodic feeding and adult hoarding in mice. *J Comp Physiol Psychol* 70, 228–234.
- Marais, L., van Rensburg, S.J., van Zyl, J.M., Stein, D.J., and Daniels, W.M.U. (2008). Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. *Neurosci. Res.* 61, 106–112.
- Marchalant, Y., Brothers, H.M., and Wenk, G.L. (2009). New neuron production can be increased in the hippocampus of aged rats following cannabinoid treatment. *Mol. Psychiatry* 14, 1067, 1068–1069.

- Maren, S., and Fanselow, M.S. (1996). The amygdala and fear conditioning: has the nut been cracked? *Neuron* 16, 237–240.
- Maren, S., and Holt, W.G. (2004). Hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats: muscimol infusions into the ventral, but not dorsal, hippocampus impair the acquisition of conditional freezing to an auditory conditional stimulus. *Behav. Neurosci.* 118, 97–110.
- Markwardt, S.J., Wadiche, J.I., and Overstreet-Wadiche, L.S. (2009). Input-specific GABAergic signaling to newborn neurons in adult dentate gyrus. *J. Neurosci.* 29, 15063–15072.
- Maroun, M., and Richter-Levin, G. (2003). Exposure to acute stress blocks the induction of long-term potentiation of the amygdala-prefrontal cortex pathway in vivo. *J. Neurosci.* 23, 4406–4409.
- Martin, P., Beninger, R.J., Hamon, M., and Puech, A.J. (1990). Antidepressant-like action of 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist, in the learned helplessness paradigm: evidence for a postsynaptic mechanism. *Behav. Brain Res.* 38, 135–144.
- Martinsen, E.W. (2008). Physical activity in the prevention and treatment of anxiety and depression. *Nord J Psychiatry* 62 Suppl 47, 25–29.
- Maslova, L.N., and Bulygina, V.V. (2002). [Chronic stress and forming of psychoemotional state during prepubertal period in rats]. *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova* 52, 97–103.
- Massa, F., Koehl, M., Koehl, M., Wiesner, T., Grosjean, N., Revest, J.-M., Piazza, P.-V., Abrous, D.N., and Oliet, S.H.R. (2011). Conditional reduction of adult neurogenesis impairs bidirectional hippocampal synaptic plasticity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 6644–6649.
- Masuda, T., Nakagawa, S., Boku, S., Nishikawa, H., Takamura, N., Kato, A., Inoue, T., and Koyama, T. (2012). Noradrenaline increases neural precursor cells derived from adult rat dentate gyrus through β_2 receptor. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 36, 44–51.
- Mathews, A., and MacLeod, C. (2005). Cognitive vulnerability to emotional disorders. *Annu Rev Clin Psychol* 1, 167–195.
- Mayer, J.L., Klumpers, L., Maslam, S., de Kloet, E.R., Joëls, M., and Lucassen, P.J. (2006). Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalises the corticosterone-induced reduction of adult hippocampal neurogenesis. *J. Neuroendocrinol.* 18, 629–631.
- Mayo, W., Lemaire, V., Malaterre, J., Rodriguez, J.J., Cayre, M., Stewart, M.G., Kharouby, M., Rougon, G., Le Moal, M., Piazza, P.V., et al. (2005). Pregnenolone sulfate enhances neurogenesis and PSA-NCAM in young and aged hippocampus. *Neurobiol. Aging* 26, 103–114.
- McEwen, B.S., and Olié, J.P. (2005). Neurobiology of mood, anxiety, and emotions as revealed by studies of a unique antidepressant: tianeptine. *Mol. Psychiatry* 10, 525–537.
- McHugh, S.B., Deacon, R.M.J., Rawlins, J.N.P., and Bannerman, D.M. (2004). Amygdala and ventral hippocampus contribute differentially to mechanisms of fear and anxiety. *Behav. Neurosci.* 118, 63–78.
- McHugh, S.B., Fillenz, M., Lowry, J.P., Rawlins, J.N.P., and 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.

- McKinnon, M.C., Yucel, K., Nazarov, A., and MacQueen, G.M. (2009). A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *J Psychiatry Neurosci* 34, 41–54.
- Meltzer, C.C., Price, J.C., Mathis, C.A., Butters, M.A., Ziolkowski, S.K., Moses-Kolko, E., Mazumdar, S., Mulsant, B.H., Houck, P.R., Lopresti, B.J., et al. (2004). Serotonin 1A receptor binding and treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 29, 2258–2265.
- Meltzer, H.Y., Arora, R.C., Baber, R., and Tricou, B.J. (1981). Serotonin uptake in blood platelets of psychiatric patients. *Arch. Gen. Psychiatry* 38, 1322–1326.
- Merali, Z., Kent, P., Du, L., Hrdina, P., Palkovits, M., Faludi, G., Poulter, M.O., Bédard, T., and Anisman, H. (2006). Corticotropin-releasing hormone, arginine vasopressin, gastrin-releasing peptide, and neuromedin B alterations in stress-relevant brain regions of suicides and control subjects. *Biol. Psychiatry* 59, 594–602.
- Merali, Z., Levac, C., and Anisman, H. (2003). Validation of a simple, ethologically relevant paradigm for assessing anxiety in mice. *Biol. Psychiatry* 54, 552–565.
- Merikangas, K.R., Zhang, H., Avenevoli, S., Acharyya, S., Neuenschwander, M., and Angst, J. (2003). Longitudinal trajectories of depression and anxiety in a prospective community study: the Zurich Cohort Study. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 993–1000.
- Meshi, D., Drew, M.R., Saxe, M., Ansorge, M.S., David, D., Santarelli, L., Malapani, C., Moore, H., and Hen, R. (2006). Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat. Neurosci.* 9, 729–731.
- 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.
- Meynen, G., Unmehopa, U.A., van Heerikhuizen, J.J., Hofman, M.A., Swaab, D.F., and Hoogendijk, W.J.G. (2006). Increased arginine vasopressin mRNA expression in the human hypothalamus in depression: A preliminary report. *Biol. Psychiatry* 60, 892–895.
- Miczek, K.A., Yap, J.J., and Covington, H.E., 3rd (2008). Social stress, therapeutics and drug abuse: preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacol. Ther.* 120, 102–128.
- Milad, M.R., and Rauch, S.L. (2007). The role of the orbitofrontal cortex in anxiety disorders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1121, 546–561.
- Millan, M.J. (2006). Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacol. Ther.* 110, 135–370.
- Miller, A.H., Vogt, G.J., and Pearce, B.D. (2002). The phosphodiesterase type 4 inhibitor, rolipram, enhances glucocorticoid receptor function. *Neuropsychopharmacology* 27, 939–948.
- Miller, B.H., Schultz, L.E., Gulati, A., Cameron, M.D., and Pletcher, M.T. (2008). Genetic regulation of behavioral and neuronal responses to fluoxetine. *Neuropsychopharmacology* 33, 1312–1322.

- Miller, H.L., Delgado, P.L., Salomon, R.M., Berman, R., Krystal, J.H., Heninger, G.R., and Charney, D.S. (1996). Clinical and biochemical effects of catecholamine depletion on antidepressant-induced remission of depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 53, 117–128.
- Mineur, Y.S., Belzung, C., and Crusio, W.E. (2006). Effects of unpredictable chronic mild stress on anxiety and depression-like behavior in mice. *Behav. Brain Res.* 175, 43–50.
- Mineur, Y.S., Prasol, D.J., Belzung, C., and Crusio, W.E. (2003). Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice. *Behav. Genet.* 33, 513–519.
- Ming, G.-L., and Song, H. (2011). Adult neurogenesis in the mammalian brain: significant answers and significant questions. *Neuron* 70, 687–702.
- Mintz, M., Rüedi-Bettschen, D., Feldon, J., and Pryce, C.R. (2005). Early social and physical deprivation leads to reduced social motivation in adulthood in Wistar rats. *Behav. Brain Res.* 156, 311–320.
- Mirescu, C., Peters, J.D., Noiman, L., and Gould, E. (2006). Sleep deprivation inhibits adult neurogenesis in the hippocampus by elevating glucocorticoids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 19170–19175.
- Mizoguchi, K., Ishige, A., Aburada, M., and Tabira, T. (2003). Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* 119, 887–897.
- Modell, S., Yassouridis, A., Huber, J., and Holsboer, F. (1997). Corticosteroid receptor function is decreased in depressed patients. *Neuroendocrinology* 65, 216–222.
- Mongiat, L.A., Espósito, M.S., Lombardi, G., and Schinder, A.F. (2009). Reliable activation of immature neurons in the adult hippocampus. *PLoS ONE* 4, e5320.
- Monje, M.L., Mizumatsu, S., Fike, J.R., and Palmer, T.D. (2002). Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction. *Nat. Med.* 8, 955–962.
- Montaron, M.F., Piazza, P.V., Aurousseau, C., Urani, A., Le Moal, M., and Abrous, D.N. (2003). Implication of corticosteroid receptors in the regulation of hippocampal structural plasticity. *Eur. J. Neurosci.* 18, 3105–3111.
- Montgomery, S.A., Baldwin, D.S., Blier, P., Fineberg, N.A., Kasper, S., Lader, M., Lam, R.W., Lépine, J.-P., Möller, H.-J., Nutt, D.J., et al. (2007). Which antidepressants have demonstrated superior efficacy? A review of the evidence. *Int Clin Psychopharmacol* 22, 323–329.
- Moreau, J.L. (1997). [Validation of an animal model of anhedonia, a major symptom of depression]. *Encephale* 23, 280–289.
- Moreau, J.L., Jenck, F., Martin, J.R., Mortas, P., and Haefely, W.E. (1992). Antidepressant treatment prevents chronic unpredictable mild stress-induced anhedonia as assessed by ventral tegmentum self-stimulation behavior in rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 2, 43–49.
- Morley-Fletcher, S., Darnaudery, M., Koehl, M., Casolini, P., Van Reeth, O., and Maccari, S. (2003). Prenatal stress in rats predicts immobility behavior in the forced swim test. Effects of a chronic treatment with tianeptine. *Brain Res.* 989, 246–251.

- Morley-Fletcher, S., Mairesse, J., Soumier, A., Banasr, M., Fagioli, F., Gabriel, C., Mocaer, E., Daszuta, A., McEwen, B., Nicoletti, F., et al. (2011). Chronic agomelatine treatment corrects behavioral, cellular, and biochemical abnormalities induced by prenatal stress in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 217, 301–313.
- Morley-Fletcher, S., Puopolo, M., Gentili, S., Gerra, G., Macchia, T., and Laviola, G. (2004). Prenatal stress affects 3,4-methylenedioxymethamphetamine pharmacokinetics and drug-induced motor alterations in adolescent female rats. *Eur. J. Pharmacol.* 489, 89–92.
- Mortola, J.F., Liu, J.H., Gillin, J.C., Rasmussen, D.D., and Yen, S.S. (1987). Pulsatile rhythms of adrenocorticotropin (ACTH) and cortisol in women with endogenous depression: evidence for increased ACTH pulse frequency. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 65, 962–968.
- Moser, E., Moser, M.B., and Andersen, P. (1993). Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *J. Neurosci.* 13, 3916–3925.
- Moser, M.B., Moser, E.I., Forrest, E., Andersen, P., and Morris, R.G. (1995). Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92, 9697–9701.
- Moutsimilli, L., Farley, S., Dumas, S., El Mestikawy, S., Giros, B., and Tzavara, E.T. (2005). Selective cortical VGLUT1 increase as a marker for antidepressant activity. *Neuropharmacology* 49, 890–900.
- Mück-Seler, D., Jakovljević, M., and Pivac, N. (1996). Platelet 5-HT concentrations and suicidal behaviour in recurrent major depression. *J Affect Disord* 39, 73–80.
- Mueller, N.K., Dolgas, C.M., and Herman, J.P. (2004). Stressor-selective role of the ventral subiculum in regulation of neuroendocrine stress responses. *Endocrinology* 145, 3763–3768.
- Mulert, C., Juckel, G., Brunmeier, M., Karch, S., Leicht, G., Mergl, R., Möller, H.-J., Hegerl, U., and Pogarell, O. (2007). Rostral anterior cingulate cortex activity in the theta band predicts response to antidepressive medication. *Clin EEG Neurosci* 38, 78–81.
- Müller, M.B., Zimmermann, S., Sillaber, I., Hagemeyer, T.P., Deussing, J.M., Timpl, P., Kormann, M.S.D., Droste, S.K., Kühn, R., Reul, J.M.H.M., et al. (2003). Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. *Nat. Neurosci.* 6, 1100–1107.
- Muller, R.U., Stead, M., and Pach, J. (1996). The hippocampus as a cognitive graph. *J. Gen. Physiol.* 107, 663–694.
- Muñoz, M., and Coveñas, R. (2011). NK-1 receptor antagonists: a new paradigm in pharmacological therapy. *Curr. Med. Chem.* 18, 1820–1831.
- Muscat, R., Sampson, D., and Willner, P. (1990). Dopaminergic mechanism of imipramine action in an animal model of depression. *Biol. Psychiatry* 28, 223–230.
- Muscat, R., Stamford, J., Kruk, Z., and Willner, P. (1992). Similar effects of chronic unpredictable mild stress and chronic imipramine administration on release of mesolimbic dopamine. *J. Psychopharmacol. (Oxford)* 6, 114.

- Naber, P.A., Lopes da Silva, F.H., and Witter, M.P. (2001). Reciprocal connections between the entorhinal cortex and hippocampal fields CA1 and the subiculum are in register with the projections from CA1 to the subiculum. *Hippocampus* 11, 99–104.
- Nácher, J., Varea, E., Miguel Blasco-Ibáñez, J., Gómez-Climent, M.A., Castillo-Gómez, E., Crespo, C., Martínez-Guijarro, F.J., and McEwen, B.S. (2007). N-methyl-D-aspartate receptor expression during adult neurogenesis in the rat dentate gyrus. *Neuroscience* 144, 855–864.
- Nakashiba, T., Cushman, J.D., Pelkey, K.A., Renaudineau, S., Buhl, D.L., McHugh, T.J., Rodriguez Barrera, V., Chittajallu, R., Iwamoto, K.S., McBain, C.J., et al. (2012). Young dentate granule cells mediate pattern separation, whereas old granule cells facilitate pattern completion. *Cell* 149, 188–201.
- Nascimento Häckl, L.P., and Carobrez, A.P. (2007). Distinct ventral and dorsal hippocampus AP5 anxiolytic effects revealed in the elevated plus-maze task in rats. *Neurobiol Learn Mem* 88, 177–185.
- Nauta, W.J., and Domesick, V.B. (1984). Afferent and efferent relationships of the basal ganglia. *Ciba Found. Symp.* 107, 3–29.
- Navailles, S., Hof, P.R., and Schmauss, C. (2008). Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J. Comp. Neurol.* 509, 372–381.
- Neeper, S.A., Gómez-Pinilla, F., Choi, J., and Cotman, C.W. (1996). Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res.* 726, 49–56.
- Nemeroff, C.B., and Vale, W.W. (2005). The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drug discovery. *J Clin Psychiatry* 66 Suppl 7, 5–13.
- Nemeroff, C.B., Widerlöv, E., Bissette, G., Walléus, H., Karlsson, I., Eklund, K., Kilts, C.D., Loosen, P.T., and Vale, W. (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* 226, 1342–1344.
- Nestler, E.J., and Carlezon, W.A., Jr (2006). The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol. Psychiatry* 59, 1151–1159.
- Nestler, E.J., and Hyman, S.E. (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat. Neurosci.* 13, 1161–1169.
- Newton, S.S., Thome, J., Wallace, T.L., Shirayama, Y., Schlesinger, L., Sakai, N., Chen, J., Neve, R., Nestler, E.J., and Duman, R.S. (2002). Inhibition of cAMP response element-binding protein or dynorphin in the nucleus accumbens produces an antidepressant-like effect. *J. Neurosci.* 22, 10883–10890.
- Nibuya, M., Nestler, E.J., and Duman, R.S. (1996). Chronic antidepressant administration increases the expression of cAMP response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J. Neurosci.* 16, 2365–2372.
- Nielsen, C.K., Arnt, J., and Sánchez, C. (2000). Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and interindividual differences. *Behav. Brain Res.* 107, 21–33.

- Nollet, M., Gaillard, P., Tanti, A., Girault, V., Belzung, C., and Leman, S. (2012). Neurogenesis-independent antidepressant-like effects on behavior and stress axis response of a dual orexin receptor antagonist in a rodent model of depression. *Neuropsychopharmacology* 37, 2210–2221.
- Nonneman, A.J., Voigt, J., and Kolb, B.E. (1974). Comparisons of behavioral effects of hippocampal and prefrontal cortex lesions in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 87, 249–260.
- Nutt, D.J. (2002). The neuropharmacology of serotonin and noradrenaline in depression. *Int Clin Psychopharmacol* 17 Suppl 1, S1–12.
- O’Keefe, J. (1979). A review of the hippocampal place cells. *Prog. Neurobiol.* 13, 419–439.
- O’Leary, O.F., O’Connor, R.M., and Cryan, J.F. (2012). Lithium-induced effects on adult hippocampal neurogenesis are topographically segregated along the dorso-ventral axis of stressed mice. *Neuropharmacology* 62, 247–255.
- Oitzl, M.S., and de Kloet, E.R. (1992). Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behav. Neurosci.* 106, 62–71.
- Oler, J.A., Fox, A.S., Shelton, S.E., Rogers, J., Dyer, T.D., Davidson, R.J., Shelledy, W., Oakes, T.R., Blangero, J., and Kalin, N.H. (2010). Amygdalar and hippocampal substrates of anxious temperament differ in their heritability. *Nature* 466, 864–868.
- Ongür, D., Ferry, A.T., and Price, J.L. (2003). Architectonic subdivision of the human orbital and medial prefrontal cortex. *J. Comp. Neurol.* 460, 425–449.
- Onksen, J.L., Brown, E.J., and Blendy, J.A. (2011). Selective deletion of a cell cycle checkpoint kinase (ATR) reduces neurogenesis and alters responses in rodent models of behavioral affect. *Neuropsychopharmacology* 36, 960–969.
- Oomen, C.A., Mayer, J.L., de Kloet, E.R., Joëls, M., and Lucassen, P.J. (2007). Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalizes the reduction in neurogenesis after chronic stress. *Eur. J. Neurosci.* 26, 3395–3401.
- Oomen, C.A., Soeters, H., Audureau, N., Vermunt, L., van Hasselt, F.N., Manders, E.M.M., Joëls, M., Lucassen, P.J., and Krugers, H. (2010). Severe early life stress hampers spatial learning and neurogenesis, but improves hippocampal synaptic plasticity and emotional learning under high-stress conditions in adulthood. *J. Neurosci.* 30, 6635–6645.
- Overstreet Wadiche, L., Bromberg, D.A., Bensen, A.L., and Westbrook, G.L. (2005). GABAergic signaling to newborn neurons in dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* 94, 4528–4532.
- Owens, D.F., and Kriegstein, A.R. (2002). Is there more to GABA than synaptic inhibition? *Nat. Rev. Neurosci.* 3, 715–727.
- Palmer, T.D., Willhoite, A.R., and Gage, F.H. (2000). Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J. Comp. Neurol.* 425, 479–494.
- Pandis, C., Sotiriou, E., Kouvaras, E., Asprodini, E., Papatheodoropoulos, C., and Angelatou, F. (2006). Differential expression of NMDA and AMPA receptor subunits in rat dorsal and ventral hippocampus. *Neuroscience* 140, 163–175.

- Papp, M., Moryl, E., and Willner, P. (1996). Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *Eur. J. Pharmacol.* 296, 129–136.
- Parent, J.M., Yu, T.W., Leibowitz, R.T., Geschwind, D.H., Sloviter, R.S., and Lowenstein, D.H. (1997). Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 17, 3727–3738.
- Pariante, C.M. (2006). The glucocorticoid receptor: part of the solution or part of the problem? *J. Psychopharmacol. (Oxford)* 20, 79–84.
- Pariante, C.M., Kim, R.B., Makoff, A., and Kerwin, R.W. (2003). Antidepressant fluoxetine enhances glucocorticoid receptor function in vitro by modulating membrane steroid transporters. *Br. J. Pharmacol.* 139, 1111–1118.
- Pariante, C.M., Makoff, A., Lovestone, S., Feroli, S., Heyden, A., Miller, A.H., and Kerwin, R.W. (2001). Antidepressants enhance glucocorticoid receptor function in vitro by modulating the membrane steroid transporters. *Br. J. Pharmacol.* 134, 1335–1343.
- Parihar, V.K., Hattiangady, B., Kuruba, R., Shuai, B., and Shetty, A.K. (2011). Predictable chronic mild stress improves mood, hippocampal neurogenesis and memory. *Mol. Psychiatry* 16, 171–183.
- Paz, R., Pelletier, J.G., Bauer, E.P., and Paré, D. (2006). Emotional enhancement of memory via amygdala-driven facilitation of rhinal interactions. *Nat. Neurosci.* 9, 1321–1329.
- Peleg-Raibstein, D., and Feldon, J. (2006). Effects of dorsal and ventral hippocampal NMDA stimulation on nucleus accumbens core and shell dopamine release. *Neuropharmacology* 51, 947–957.
- Peleg-Raibstein, D., Pezze, M.A., Ferger, B., Zhang, W.-N., Murphy, C.A., Feldon, J., and Bast, T. (2005). Activation of dopaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex by N-methyl-D-aspartate stimulation of the ventral hippocampus in rats. *Neuroscience* 132, 219–232.
- Pentkowski, N.S., Blanchard, D.C., Lever, C., Litvin, Y., and Blanchard, R.J. (2006). Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. *Eur. J. Neurosci.* 23, 2185–2196.
- Petrik, D., Lagace, D.C., and Eisch, A.J. (2012). The neurogenesis hypothesis of affective and anxiety disorders: are we mistaking the scaffolding for the building? *Neuropharmacology* 62, 21–34.
- Pezawas, L., Meyer-Lindenberg, A., Drabant, E.M., Verchinski, B.A., Munoz, K.E., Kolachana, B.S., Egan, M.F., Mattay, V.S., Hariri, A.R., and Weinberger, D.R. (2005). 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nat. Neurosci.* 8, 828–834.
- 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.
- Piatti, V.C., Davies-Sala, M.G., Espósito, M.S., Mongiat, L.A., Trincherro, M.F., and Schinder, A.F. (2011). The timing for neuronal maturation in the adult hippocampus is modulated by local network activity. *J. Neurosci.* 31, 7715–7728.
- Piatti, V.C., Espósito, M.S., and Schinder, A.F. (2006). The timing of neuronal development in adult hippocampal neurogenesis. *Neuroscientist* 12, 463–468.

- Pitkänen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N., and Ylinen, A. (2000). Reciprocal connections between the amygdala and the hippocampal formation, perirhinal cortex, and postrhinal cortex in rat. A review. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* *911*, 369–391.
- Pittenger, C., and Duman, R.S. (2008). Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* *33*, 88–109.
- Pizzagalli, D., Pascual-Marqui, R.D., Nitschke, J.B., Oakes, T.R., Larson, C.L., Abercrombie, H.C., Schaefer, S.M., Koger, J.V., Benca, R.M., and Davidson, R.J. (2001). Anterior cingulate activity as a predictor of degree of treatment response in major depression: evidence from brain electrical tomography analysis. *Am J Psychiatry* *158*, 405–415.
- Plotsky, P.M., and Meaney, M.J. (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* *18*, 195–200.
- Pollak, D.D., Monje, F.J., Zuckerman, L., Denny, C.A., Drew, M.R., and Kandel, E.R. (2008). An animal model of a behavioral intervention for depression. *Neuron* *60*, 149–161.
- Poltyrev, T., and Weinstock, M. (2004). Gender difference in the prevention of hyperanxiety in adult prenatally stressed rats by chronic treatment with amitriptyline. *Psychopharmacology (Berl.)* *171*, 270–276.
- Porsolt, R.D., Bertin, A., and Jalfre, M. (1977). Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther* *229*, 327–336.
- Poschel, B.P. (1971). A simple and specific screen for benzodiazepine-like drugs. *Psychopharmacologia* *19*, 193–198.
- Pothion, S., Bizot, J.-C., Trovero, F., and Belzung, C. (2004). Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behav. Brain Res.* *155*, 135–146.
- Pothuizen, H.H.J., Zhang, W.-N., Jongen-Rêlo, A.L., Feldon, J., and Yee, B.K. (2004). Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat: a within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *Eur. J. Neurosci.* *19*, 705–712.
- van Praag, H., Kempermann, G., and Gage, F.H. (1999). Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat. Neurosci.* *2*, 266–270.
- Pratt, L.A., Ford, D.E., Crum, R.M., Armenian, H.K., Gallo, J.J., and Eaton, W.W. (1996). Depression, psychotropic medication, and risk of myocardial infarction. Prospective data from the Baltimore ECA follow-up. *Circulation* *94*, 3123–3129.
- Prins, J., Olivier, B., and Korte, S.M. (2011). Triple reuptake inhibitors for treating subtypes of major depressive disorder: the monoamine hypothesis revisited. *Expert Opin Investig Drugs* *20*, 1107–1130.
- Rabheru, K. (2012). Maintenance electroconvulsive therapy (M-ECT) after acute response: examining the evidence for who, what, when, and how? *J ECT* *28*, 39–47.
- Racagni, G., Riva, M.A., Molteni, R., Musazzi, L., Calabrese, F., Popoli, M., and Tardito, D. (2011). Mode of action of agomelatine: synergy between melatonergic and 5-HT_{2C} receptors. *World J. Biol. Psychiatry* *12*, 574–587.

Radley, J.J., Sisti, H.M., Hao, J., Rocher, A.B., McCall, T., Hof, P.R., McEwen, B.S., and Morrison, J.H. (2004). Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 125, 1–6.

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.

Rainer, Q., Xia, L., Guilloux, J.-P., Gabriel, C., Mocaër, E., Hen, R., Enhamre, E., Gardier, A.M., and David, D.J. (2011). Beneficial behavioural and neurogenic effects of agomelatine in a model of depression/anxiety. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 1–15.

Raison, C.L., and Miller, A.H. (2011). Is depression an inflammatory disorder? *Curr Psychiatry Rep* 13, 467–475.

Ramboz, S., Oosting, R., Amara, D.A., Kung, H.F., Blier, P., Mendelsohn, M., Mann, J.J., Brunner, D., and Hen, R. (1998). Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 14476–14481.

Rao, M.S., and Shetty, A.K. (2004). Efficacy of doublecortin as a marker to analyse the absolute number and dendritic growth of newly generated neurons in the adult dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci.* 19, 234–246.

Rao, U., Dahl, R.E., Ryan, N.D., Birmaher, B., Williamson, D.E., Giles, D.E., Rao, R., Kaufman, J., and Nelson, B. (1996). The relationship between longitudinal clinical course and sleep and cortisol changes in adolescent depression. *Biol. Psychiatry* 40, 474–484.

Rasmusson, A.M., Shi, L., and Duman, R. (2002). Downregulation of BDNF mRNA in the hippocampal dentate gyrus after re-exposure to cues previously associated with footshock. *Neuropsychopharmacology* 27, 133–142.

Rawlins, J.N., Feldon, J., Ursin, H., and Gray, J.A. (1985). Resistance to extinction after schedules of partial delay or partial reinforcement in rats with hippocampal lesions. *Exp Brain Res* 59, 273–281.

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.

Ressler, K.J., and Mayberg, H.S. (2007). Targeting abnormal neural circuits in mood and anxiety disorders: from the laboratory to the clinic. *Nat. Neurosci.* 10, 1116–1124.

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.

Revest, J.-M., Dupret, D., Koehl, M., Funk-Reiter, C., Grosjean, N., Piazza, P.-V., and Abrous, D.N. (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol. Psychiatry* 14, 959–967.

Reynolds, C.F., 3rd, Frank, E., Perel, J.M., Imber, S.D., Cornes, C., Miller, M.D., Mazumdar, S., Houck, P.R., Dew, M.A., Stack, J.A., et al. (1999). Nortriptyline and interpersonal psychotherapy as maintenance therapies for recurrent major depression: a randomized controlled trial in patients older than 59 years. *JAMA* 281, 39–45.

Ribeiro, S.C., Tandon, R., Grunhaus, L., and Greden, J.F. (1993). The DST as a predictor of outcome in depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* 150, 1618–1629.

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-HT_{1A} autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. *Neuron* 65, 40–52.

Robertson, D.A.F., Beattie, J.E., Reid, I.C., and Balfour, D.J.K. (2005). Regulation of corticosteroid receptors in the rat brain: the role of serotonin and stress. *Eur. J. Neurosci.* 21, 1511–1520.

Rocher, C., Spedding, M., Munoz, C., and Jay, T.M. (2004). Acute stress-induced changes in hippocampal/prefrontal circuits in rats: effects of antidepressants. *Cereb. Cortex* 14, 224–229.

Rogers, M.A., Kasai, K., Koji, M., Fukuda, R., Iwanami, A., Nakagome, K., Fukuda, M., and Kato, N. (2004). Executive and prefrontal dysfunction in unipolar depression: a review of neuropsychological and imaging evidence. *Neurosci. Res.* 50, 1–11.

Roiser, J.P., Elliott, R., and Sahakian, B.J. (2012). Cognitive mechanisms of treatment in depression. *Neuropsychopharmacology* 37, 117–136.

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.

Roy, A. (1981). Vulnerability factors and depression in men. *Br J Psychiatry* 138, 75–77.

Roy, A., Linnoila, M., Karoum, F., and Pickar, D. (1986a). Urinary excretion of free tyramine and of norepinephrine and its metabolites in unipolar depressed patients. *Biol. Psychiatry* 21, 221–224.

Roy, A., Pickar, D., Douillet, P., Karoum, F., and Linnoila, M. (1986b). Urinary monoamines and monoamine metabolites in subtypes of unipolar depressive disorder and normal controls. *Psychol Med* 16, 541–546.

Roy, A., Pickar, D., De Jong, J., Karoum, F., and Linnoila, M. (1988). Norepinephrine and its metabolites in cerebrospinal fluid, plasma, and urine. Relationship to hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 45, 849–857.

Rüedi-Bettschen, D., Pedersen, E.-M., Feldon, J., and Pryce, C.R. (2005). Early deprivation under specific conditions leads to reduced interest in reward in adulthood in Wistar rats. *Behav. Brain Res.* 156, 297–310.

Ruhé, H.G., Mason, N.S., and Schene, A.H. (2007). Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol. Psychiatry* 12, 331–359.

Rutz, S., Riegert, C., Rothmaier, A.K., Buhot, M.-C., Cassel, J.-C., and Jackisch, R. (2006). Presynaptic serotonergic modulation of 5-HT and acetylcholine release in the hippocampus and the cortex of 5-HT_{1B}-receptor knockout mice. *Brain Res. Bull.* 70, 81–93.

Ruzankina, Y., Pinzon-Guzman, C., Asare, A., Ong, T., Pontano, L., Cotsarelis, G., Zediak, V.P., Velez, M., Bhandoola, A., and Brown, E.J. (2007). Deletion of the developmentally essential gene ATR in adult mice leads to age-related phenotypes and stem cell loss. *Cell Stem Cell* 1, 113–126.

- 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.
- Sachs, B.D. (1988). The development of grooming and its expression in adult animals. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 525, 1–17.
- Sahay, A., Scobie, K.N., Hill, A.S., O’Carroll, C.M., Kheirbek, M.A., Burghardt, N.S., Fenton, A.A., Dranovsky, A., and Hen, R. (2011). Increasing adult hippocampal neurogenesis is sufficient to improve pattern separation. *Nature* 472, 466–470.
- 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.
- Salm, A.K., Pavelko, M., Krouse, E.M., Webster, W., Kraszpulski, M., and Birkle, D.L. (2004). Lateral amygdaloid nucleus expansion in adult rats is associated with exposure to prenatal stress. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 148, 159–167.
- Salomé, N., Stemmelin, J., Cohen, C., and Griebel, G. (2006). Differential roles of amygdaloid nuclei in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of the V1b receptor antagonist, SSR149415, in rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 187, 237–244.
- Salvadore, G., Cornwell, B.R., Colon-Rosario, V., Coppola, R., Grillon, C., Zarate, C.A., Jr, and Manji, H.K. (2009). Increased anterior cingulate cortical activity in response to fearful faces: a neurophysiological biomarker that predicts rapid antidepressant response to ketamine. *Biol. Psychiatry* 65, 289–295.
- Sampson, D., Willner, P., and Muscat, R. (1991). Reversal of antidepressant action by dopamine antagonists in an animal model of depression. *Psychopharmacology (Berl.)* 104, 491–495.
- Sanacora, G., Zarate, C.A., Krystal, J.H., and Manji, H.K. (2008). Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov* 7, 426–437.
- 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.
- Sapolsky, R.M. (2000). Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch. Gen. Psychiatry* 57, 925–935.
- Sapolsky, R.M., Krey, L.C., and McEwen, B.S. (1984). Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81, 6174–6177.
- Savitz, J., Lucki, I., and Drevets, W.C. (2009). 5-HT(1A) receptor function in major depressive disorder. *Prog. Neurobiol.* 88, 17–31.
- Saxe, M.D., Battaglia, F., Wang, J.-W., Malleret, G., David, D.J., Monckton, J.E., Garcia, A.D.R., Sofroniew, M.V., Kandel, E.R., Santarelli, L., et al. (2006). Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 17501–17506.

- Saxena, S., Brody, A.L., Ho, M.L., Alborzian, S., Maidment, K.M., Zohrabi, N., Ho, M.K., Huang, S.-C., Wu, H.-M., and Baxter, L.R., Jr (2002). Differential cerebral metabolic changes with paroxetine treatment of obsessive-compulsive disorder vs major depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 59, 250–261.
- Schildkraut, J.J. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122, 509–522.
- Schlessinger, A.R., Cowan, W.M., and Gottlieb, D.I. (1975). An autoradiographic study of the time of origin and the pattern of granule cell migration in the dentate gyrus of the rat. *J. Comp. Neurol.* 159, 149–175.
- 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.
- Schloesser, R.J., Manji, H.K., and Martinowich, K. (2009). Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport* 20, 553–557.
- Seligman, M.E., and Beagley, G. (1975). Learned helplessness in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 88, 534–541.
- Seligman, M.E., and Maier, S.F. (1967). Failure to escape traumatic shock. *J Exp Psychol* 74, 1–9.
- Sen, S., Nesse, R.M., Stoltenberg, S.F., Li, S., Gleiberman, L., Chakravarti, A., Weder, A.B., and Burmeister, M. (2003). A BDNF coding variant is associated with the NEO personality inventory domain neuroticism, a risk factor for depression. *Neuropsychopharmacology* 28, 397–401.
- Seri, B., García-Verdugo, J.M., Collado-Morente, L., McEwen, B.S., and Alvarez-Buylla, A. (2004). Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *J. Comp. Neurol.* 478, 359–378.
- Sevy, S., Papadimitriou, G.N., Surmont, D.W., Goldman, S., and Mendlewicz, J. (1989). Noradrenergic function in generalized anxiety disorder, major depressive disorder, and healthy subjects. *Biol. Psychiatry* 25, 141–152.
- 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.
- 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.
- Shen, K.-Z., and Johnson, S.W. (2008). 5-HT inhibits synaptic transmission in rat subthalamic nucleus neurons in vitro. *Neuroscience* 151, 1029–1033.
- Sherman, A.D., Sacquitne, J.L., and Petty, F. (1982). Specificity of the learned helplessness model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 16, 449–454.
- Shimazaki, T., Yoshimizu, T., and Chaki, S. (2006). Melanin-concentrating hormone MCH1 receptor antagonists: a potential new approach to the treatment of depression and anxiety disorders. *CNS Drugs* 20, 801–811.

Shimon, H., Agam, G., Belmaker, R.H., Hyde, T.M., and Kleinman, J.E. (1997). Reduced frontal cortex inositol levels in postmortem brain of suicide victims and patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry* 154, 1148–1150.

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.

Shors, T.J., Townsend, D.A., Zhao, M., Kozorovitskiy, Y., and Gould, E. (2002). Neurogenesis may relate to some but not all types of hippocampal-dependent learning. *Hippocampus* 12, 578–584.

Sienaert, P. (2011). What we have learned about electroconvulsive therapy and its relevance for the practising psychiatrist. *Can J Psychiatry* 56, 5–12.

Silva, R., Lu, J., Wu, Y., Martins, L., Almeida, O.F.X., and Sousa, N. (2006). Mapping cellular gains and losses in the postnatal dentate gyrus: implications for psychiatric disorders. *Exp. Neurol.* 200, 321–331.

Silva, R., Mesquita, A.R., Bessa, J., Sousa, J.C., Sotiropoulos, I., Leão, P., Almeida, O.F.X., and Sousa, N. (2008). Lithium blocks stress-induced changes in depressive-like behavior and hippocampal cell fate: the role of glycogen-synthase-kinase-3beta. *Neuroscience* 152, 656–669.

Simon, G.E., and VonKorff, M. (1995). Recall of psychiatric history in cross-sectional surveys: implications for epidemiologic research. *Epidemiol Rev* 17, 221–227.

Sinnamon, H.M., Freniere, S., and Kootz, J. (1978). Rat hippocampus and memory for places of changing significance. *J Comp Physiol Psychol* 92, 142–155.

Slavich, G.M., Monroe, S.M., and Gotlib, I.H. (2011). Early parental loss and depression history: associations with recent life stress in major depressive disorder. *J Psychiatr Res* 45, 1146–1152.

Snyder, J.S., Choe, J.S., Clifford, M.A., Jeurling, S.I., Hurley, P., Brown, A., Kamhi, J.F., and Cameron, H.A. (2009a). Adult-born hippocampal neurons are more numerous, faster maturing, and more involved in behavior in rats than in mice. *J. Neurosci.* 29, 14484–14495.

Snyder, J.S., Kee, N., and Wojtowicz, J.M. (2001). Effects of adult neurogenesis on synaptic plasticity in the rat dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* 85, 2423–2431.

Snyder, J.S., Radik, R., Wojtowicz, J.M., and Cameron, H.A. (2009b). Anatomical gradients of adult neurogenesis and activity: young neurons in the ventral dentate gyrus are activated by water maze training. *Hippocampus* 19, 360–370.

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.

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.

Sotiriou, E., Papatheodoropoulos, C., and Angelatou, F. (2005). Differential expression of gamma-aminobutyric acid--a receptor subunits in rat dorsal and ventral hippocampus. *J. Neurosci. Res.* 82, 690–700.

- Soubrié, P., Simon, P., and Boissier, J.R. (1975). [Effects of diazepam on six drug-induced locomotor hyperactivities in mice (author's transl)]. *Psychopharmacologia* 45, 197–201.
- Soumier, A., Banasr, M., Goff, L.K.-L., and Daszuta, A. (2010). Region- and phase-dependent effects of 5-HT(1A) and 5-HT(2C) receptor activation on adult neurogenesis. *Eur Neuropsychopharmacol* 20, 336–345.
- Soumier, A., Banasr, M., Lortet, S., Masméjean, F., Bernard, N., Kerkerian-Le-Goff, L., Gabriel, C., Millan, M.J., Mocaer, E., and Daszuta, A. (2009). Mechanisms contributing to the phase-dependent regulation of neurogenesis by the novel antidepressant, agomelatine, in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34, 2390–2403.
- Spiers, H.J., and Maguire, E.A. (2006). Thoughts, behaviour, and brain dynamics during navigation in the real world. *Neuroimage* 31, 1826–1840.
- Sporn, J., Ghaemi, S.N., Sambur, M.R., Rankin, M.A., Recht, J., Sachs, G.S., Rosenbaum, J.F., and Fava, M. (2000). Pramipexole augmentation in the treatment of unipolar and bipolar depression: a retrospective chart review. *Ann Clin Psychiatry* 12, 137–140.
- Spruijt, B.M., van Hooff, J.A., and Gispen, W.H. (1992). Ethology and neurobiology of grooming behavior. *Physiol. Rev.* 72, 825–852.
- Stahn, C., and Buttgereit, F. (2008). Genomic and nongenomic effects of glucocorticoids. *Nat Clin Pract Rheumatol* 4, 525–533.
- 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.
- Stemmelin, J., Lukovic, L., Salome, N., and Griebel, G. (2005). Evidence that the lateral septum is involved in the antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415. *Neuropsychopharmacology* 30, 35–42.
- Sterner, E.Y., and Kalynchuk, L.E. (2010). Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: relevance to depression. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 34, 777–790.
- 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.
- Stevens, R., and Cowey, A. (1973). Effects of dorsal and ventral hippocampal lesions on spontaneous alternation, learned alternation and probability learning in rats. *Brain Res.* 52, 203–224.
- 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.
- Ströhle, A. (2009). Physical activity, exercise, depression and anxiety disorders. *J Neural Transm* 116, 777–784.
- Sugar, J., Witter, M.P., van Strien, N.M., and Cappaert, N.L.M. (2011). The retrosplenial cortex: intrinsic connectivity and connections with the (para)hippocampal region in the rat. An interactive connectome. *Front Neuroinform* 5, 7.

- Suh, H., Consiglio, A., Ray, J., Sawai, T., D'Amour, K.A., and Gage, F.H. (2007). In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 1, 515–528.
- Suh, H., Deng, W., and Gage, F.H. (2009). Signaling in adult neurogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 25, 253–275.
- Sullivan, P.F., Neale, M.C., and Kendler, K.S. (2000). Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 157, 1552–1562.
- 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.
- Surget, A., Tanti, A., Leonardo, E.D., Laugeray, A., Rainer, Q., Touma, C., Palme, R., Griebel, G., Ibarguen-Vargas, Y., Hen, R., et al. (2011). Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. *Mol. Psychiatry* 16, 1177–1188.
- Surget, A., Wang, Y., Leman, S., Ibarguen-Vargas, Y., Edgar, N., Griebel, G., Belzung, C., and Sibille, E. (2009). Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal. *Neuropsychopharmacology* 34, 1363–1380.
- Swanson, L.W. (2000). Cerebral hemisphere regulation of motivated behavior. *Brain Res.* 886, 113–164.
- Taliaz, D., Stall, N., Dar, D.E., and Zangen, A. (2010). Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis. *Mol. Psychiatry* 15, 80–92.
- Tamamaki, N., and Nojyo, Y. (1995). Preservation of topography in the connections between the subiculum, field CA1, and the entorhinal cortex in rats. *J. Comp. Neurol.* 353, 379–390.
- Tanaka, K.F., Samuels, B.A., and Hen, R. (2012). Serotonin receptor expression along the dorsal-ventral axis of mouse hippocampus. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 367, 2395–2401.
- Tanti, A., and Belzung, C. (2010). Open questions in current models of antidepressant action. *Br. J. Pharmacol.* 159, 1187–1200.
- 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.
- Tarullo, A.R., and Gunnar, M.R. (2006). Child maltreatment and the developing HPA axis. *Horm Behav* 50, 632–639.
- Tashiro, A., Makino, H., and Gage, F.H. (2007). Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J. Neurosci.* 27, 3252–3259.
- Tashiro, A., Sandler, V.M., Toni, N., Zhao, C., and Gage, F.H. (2006a). NMDA-receptor-mediated, cell-specific integration of new neurons in adult dentate gyrus. *Nature* 442, 929–933.

- Tashiro, A., Zhao, C., and Gage, F.H. (2006b). Retrovirus-mediated single-cell gene knockout technique in adult newborn neurons in vivo. *Nat Protoc* 1, 3049–3055.
- Taube, J.S. (2007). The head direction signal: origins and sensory-motor integration. *Annu. Rev. Neurosci.* 30, 181–207.
- Thierry, A.M., Gioanni, Y., Dégénétais, E., and Glowinski, J. (2000). Hippocampo-prefrontal cortex pathway: anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus* 10, 411–419.
- Tiemens, B.G., Ormel, J., and Simon, G.E. (1996). Occurrence, recognition, and outcome of psychological disorders in primary care. *Am J Psychiatry* 153, 636–644.
- Toni, N., Laplagne, D.A., Zhao, C., Lombardi, G., Ribak, C.E., Gage, F.H., and Schinder, A.F. (2008). Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nat. Neurosci.* 11, 901–907.
- Toni, N., Teng, E.M., Bushong, E.A., Aimone, J.B., Zhao, C., Consiglio, A., van Praag, H., Martone, M.E., Ellisman, M.H., and Gage, F.H. (2007). Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat. Neurosci.* 10, 727–734.
- Tozuka, Y., Fukuda, S., Namba, T., Seki, T., and Hisatsune, T. (2005). GABAergic excitation promotes neuronal differentiation in adult hippocampal progenitor cells. *Neuron* 47, 803–815.
- Trivedi, M.A., and Coover, G.D. (2004). Lesions of the ventral hippocampus, but not the dorsal hippocampus, impair conditioned fear expression and inhibitory avoidance on the elevated T-maze. *Neurobiol Learn Mem* 81, 172–184.
- Trivedi, M.H., Rush, A.J., Wisniewski, S.R., Nierenberg, A.A., Warden, D., Ritz, L., Norquist, G., Howland, R.H., Lebowitz, B., McGrath, P.J., et al. (2006). Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. *Am J Psychiatry* 163, 28–40.
- Trull, T.J., and Durrett, C.A. (2005). Categorical and dimensional models of personality disorder. *Annu Rev Clin Psychol* 1, 355–380.
- Tsankova, N.M., Berton, O., Renthal, W., Kumar, A., Neve, R.L., and Nestler, E.J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat. Neurosci.* 9, 519–525.
- Uchida, S., Hara, K., Kobayashi, A., Fujimoto, M., Otsuki, K., Yamagata, H., Hobara, T., Abe, N., Higuchi, F., Shibata, T., et al. (2011). Impaired hippocampal spinogenesis and neurogenesis and altered affective behavior in mice lacking heat shock factor 1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 1681–1686.
- Valdizán, E.M., Gutierrez, O., and Pazos, A. (2003). Adenylate cyclase activity in postmortem brain of suicide subjects: reduced response to beta-adrenergic stimulation. *Biol. Psychiatry* 54, 1457–1464.
- Vann, S.D., Brown, M.W., Erichsen, J.T., and Aggleton, J.P. (2000). Fos imaging reveals differential patterns of hippocampal and parahippocampal subfield activation in rats in response to different spatial memory tests. *J. Neurosci.* 20, 2711–2718.
- Vertes, R.P. (1991). A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the rat. *J. Comp. Neurol.* 313, 643–668.

- Viard, A., Piolino, P., Desgranges, B., Chételat, G., Lebreton, K., Landeau, B., Young, A., De La Sayette, V., and Eustache, F. (2007). Hippocampal activation for autobiographical memories over the entire lifetime in healthy aged subjects: an fMRI study. *Cereb. Cortex* 17, 2453–2467.
- Videbech, P., Ravnkilde, B., Fiirgaard, B., Clemmensen, K., Egander, A., Rasmussen, N.A., Christensen, T., Sangill, R., and Rosenberg, R. (2001). Structural brain abnormalities in unselected in-patients with major depression. *Acta Psychiatr Scand* 103, 282–286.
- Vreeburg, S.A., Hoogendijk, W.J.G., van Pelt, J., Derijk, R.H., Verhagen, J.C.M., van Dyck, R., Smit, J.H., Zitman, F.G., and Penninx, B.W.J.H. (2009). Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study. *Arch. Gen. Psychiatry* 66, 617–626.
- Vyas, A., Bernal, S., and Chattarji, S. (2003). Effects of chronic stress on dendritic arborization in the central and extended amygdala. *Brain Res.* 965, 290–294.
- Vyas, A., Pillai, A.G., and Chattarji, S. (2004). Recovery after chronic stress fails to reverse amygdaloid neuronal hypertrophy and enhanced anxiety-like behavior. *Neuroscience* 128, 667–673.
- Wang, H.-D., Dunnavant, F.D., Jarman, T., and Deutch, A.Y. (2004). Effects of antipsychotic drugs on neurogenesis in the forebrain of the adult rat. *Neuropsychopharmacology* 29, 1230–1238.
- 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.
- Warner-Schmidt, J.L., and Duman, R.S. (2007). VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 4647–4652.
- Weaver, I.C.G., Cervoni, N., Champagne, F.A., D’Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M., and Meaney, M.J. (2004). Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat. Neurosci.* 7, 847–854.
- Webster, M.J., Knable, M.B., O’Grady, J., Orthmann, J., and Weickert, C.S. (2002). Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. *Mol. Psychiatry* 7, 985–994, 924.
- Whitnall, M.H., Kiss, A., and Aguilera, G. (1993). Contrasting effects of central alpha-1-adrenoreceptor activation on stress-responsive and stress-nonresponsive subpopulations of corticotropin-releasing hormone neurosecretory cells in the rat. *Neuroendocrinology* 58, 42–48.
- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 52, 90–110.
- Willner, P., Hale, A.S., and Argyropoulos, S. (2005). Dopaminergic mechanism of antidepressant action in depressed patients. *J Affect Disord* 86, 37–45.
- Willner, P., Muscat, R., and Papp, M. (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 16, 525–534.
- Willner, P., Sanger, D., and Oglesby, M. (1997). The behavioural pharmacology of anxiety and depression. *Behav Pharmacol* 8, 475–476.

- Willner, P., Towell, A., Sampson, D., Sophokleous, S., and Muscat, R. (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl.)* 93, 358–364.
- Windle, R.J., Wood, S.A., Shanks, N., Lightman, S.L., and Ingram, C.D. (1998). Ultradian rhythm of basal corticosterone release in the female rat: dynamic interaction with the response to acute stress. *Endocrinology* 139, 443–450.
- de Winter, R.F.P., van Hemert, A.M., DeRijk, R.H., Zwinderman, K.H., Frankhuijzen-Sierevogel, A.C., Wiegant, V.M., and Goekoop, J.G. (2003). Anxious-retarded depression: relation with plasma vasopressin and cortisol. *Neuropsychopharmacology* 28, 140–147.
- Wolf, S.A., Bick-Sander, A., Fabel, K., Leal-Galicia, P., Tauber, S., Ramirez-Rodriguez, G., Müller, A., Melnik, A., Waltinger, T.P., Ullrich, O., et al. (2010). Cannabinoid receptor CB1 mediates baseline and activity-induced survival of new neurons in adult hippocampal neurogenesis. *Cell Commun. Signal* 8, 12.
- Wong, M.L., and Licinio, J. (2001). Research and treatment approaches to depression. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 343–351.
- Wu, Y.C., Hill, R.A., Klug, M., and van den Buuse, M. (2012). Sex-specific and region-specific changes in BDNF-TrkB signalling in the hippocampus of 5-HT_{1A} receptor and BDNF single and double mutant mice. *Brain Res.* 1452, 10–17.
- Wulsin, A.C., Herman, J.P., and Solomon, M.B. (2010). Mifepristone decreases depression-like behavior and modulates neuroendocrine and central hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis responsiveness to stress. *Psychoneuroendocrinology* 35, 1100–1112.
- Wurtman, R.J. (2005). Genes, stress, and depression. *Metab. Clin. Exp.* 54, 16–19.
- Wyatt, R.J., Portnoy, B., Kupfer, D.J., Snyder, F., and Engelman, K. (1971). Resting plasma catecholamine concentrations in patients with depression and anxiety. *Arch. Gen. Psychiatry* 24, 65–70.
- Xia, L., Deloménie, C., David, I., Rainer, Q., Marouard, M., Delacroix, H., David, D.J., Gardier, A.M., and Guilloux, J.-P. (2012). Ventral hippocampal molecular pathways and impaired neurogenesis associated with 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors disruption in mice. *Neurosci. Lett.* 521, 20–25.
- Yalcin, I., Aksu, F., and Belzung, C. (2005). Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol. *Eur. J. Pharmacol.* 514, 165–174.
- Yang, P., Arnold, S.A., Habas, A., Hetman, M., and Hagg, T. (2008). Ciliary neurotrophic factor mediates dopamine D2 receptor-induced CNS neurogenesis in adult mice. *J. Neurosci.* 28, 2231–2241.
- 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.
- Yoon, T., and Otto, T. (2007). Differential contributions of dorsal vs. ventral hippocampus to auditory trace fear conditioning. *Neurobiol Learn Mem* 87, 464–475.

- Yoshimizu, T., and Chaki, S. (2004). Increased cell proliferation in the adult mouse hippocampus following chronic administration of group II metabotropic glutamate receptor antagonist, MGS0039. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 315, 493–496.
- Young, A.H., Gallagher, P., Watson, S., Del-Estal, D., Owen, B.M., and Ferrier, I.N. (2004). Improvements in neurocognitive function and mood following adjunctive treatment with mifepristone (RU-486) in bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology* 29, 1538–1545.
- Zarate, C.A., Jr, Singh, J.B., Carlson, P.J., Brutsche, N.E., Ameli, R., Luckenbaugh, D.A., Charney, D.S., and Manji, H.K. (2006). A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch. Gen. Psychiatry* 63, 856–864.
- Zhang, T.-Y., Bagot, R., Parent, C., Nesbitt, C., Bredy, T.W., Caldji, C., Fish, E., Anisman, H., Szyf, M., and Meaney, M.J. (2006). Maternal programming of defensive responses through sustained effects on gene expression. *Biol Psychol* 73, 72–89.
- Zhang, W.N., Bast, T., and Feldon, J. (2001). The ventral hippocampus and fear conditioning in rats: different anterograde amnesias of fear after infusion of N-methyl-D-aspartate or its noncompetitive antagonist MK-801 into the ventral hippocampus. *Behav. Brain Res.* 126, 159–174.
- Zhang, X., Beaulieu, J.-M., Sotnikova, T.D., Gainetdinov, R.R., and Caron, M.G. (2004). Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science* 305, 217.
- Zhang, X., Gainetdinov, R.R., Beaulieu, J.-M., Sotnikova, T.D., Burch, L.H., Williams, R.B., Schwartz, D.A., Krishnan, K.R.R., and Caron, M.G. (2005). Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron* 45, 11–16.
- Zhao, C., Deng, W., and Gage, F.H. (2008). Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 132, 645–660.
- Zhao, C., Teng, E.M., Summers, R.G., Jr, Ming, G.-L., and Gage, F.H. (2006). Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J. Neurosci.* 26, 3–11.
- Zhao, M., Li, D., Shimazu, K., Zhou, Y.-X., Lu, B., and Deng, C.-X. (2007). Fibroblast growth factor receptor-1 is required for long-term potentiation, memory consolidation, and neurogenesis. *Biol. Psychiatry* 62, 381–390.
- Zhu, X.-H., Yan, H.-C., Zhang, J., Qu, H.-D., Qiu, X.-S., Chen, L., Li, S.-J., Cao, X., Bean, J.C., Chen, L.-H., et al. (2010). Intermittent hypoxia promotes hippocampal neurogenesis and produces antidepressant-like effects in adult rats. *J. Neurosci.* 30, 12653–12663.
- Zimmerman, M., Galione, J.N., Chelminski, I., Young, D., Dalrymple, K., and Ruggero, C.J. (2010). Sustained unemployment in psychiatric outpatients with bipolar disorder: frequency and association with demographic variables and comorbid disorders. *Bipolar Disord* 12, 720–726.
- Zobel, A.W., Nickel, T., Sonntag, A., Uhr, M., Holsboer, F., and Ising, M. (2001). Cortisol response in the combined dexamethasone/CRH test as predictor of relapse in patients with remitted depression. a prospective study. *J Psychiatr Res* 35, 83–94.
- Zuena, A.R., Mairesse, J., Casolini, P., Cinque, C., Alemà, G.S., Morley-Fletcher, S., Chiodi, V., Spagnoli, L.G., Gradini, R., Catalani, A., et al. (2008). Prenatal restraint stress generates two distinct behavioral and neurochemical profiles in male and female rats. *PLoS ONE* 3, e2170.

ANNEXES

**Annexe 1 - Open questions in current models of antidepressant
actions**

Tanti et Belzung, 2010

REVIEW

Open questions in current models of antidepressant action

A Tanti and C Belzung

INSERM U-930, Université François Rabelais Tours, UFR Sciences et Techniques, Parc Grandmont, Tours, France

Research on depression and antidepressant drugs is necessary, as many patients display poor response to therapy. Different symptomatic and pathophysiological features have been proposed as end points of the depressive phenotype and of the antidepressant action, including anhedonia, depressed mood, alterations in morphology and activity of some brain areas (amygdala, nucleus accumbens, hippocampus, prefrontal cortex and cingulate cortex), modifications in the connectivity between brain structures, changes in neurotransmitters (serotonin, noradrenaline, glutamate and neuropeptides), brain plasticity (neurogenesis, neurotrophins) and abnormal function of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. However, few models have been proposed to describe how these end points could induce the depressive phenotype and are involved in the mechanism of action of antidepressants. Here we propose a connectionist-inspired network of depression and antidepressant action, in which the different aetiological factors participating in the release of a depressive episode are represented by input nodes, the different symptomatic as well as pathophysiological end points are represented by an intermediate layer, and the onset of depression or of comorbid disease is represented by the output node. The occurrence of depression and the mechanism of the antidepressant action thus depend upon the weight of the interactions between the different end points, none of them being *per se* crucial to the onset of a depressive phenotype or to the antidepressant action. This model is heuristic to draw future lines of research concerning new antidepressant therapies, designing new animal models of depression and for a better understanding of the depressive pathology and of its comorbid pathology such as anxiety disorders.

British Journal of Pharmacology (2010) **159**, 1187–1200; doi:10.1111/j.1476-5381.2009.00585.x; published online 2 February 2010

Keywords: antidepressant; hypothalamic-pituitary-adrenal axis; neuroplasticity; glutamate; serotonin; hippocampus; prefrontal cortex; amygdala; cingulate cortex; depression

Abbreviations: 5-HT, 5-hydroxytryptamine; ACTH, adrenocorticotropin; AD, antidepressant; AMPA, α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate; Cg25, subgenual cingulate cortex; CRF, corticotrophin-releasing factor; Dbh, dopamine beta-hydroxylase gene; ECT, electroconvulsive therapy; GABA, gamma-aminobutyric acid; GAD, generalized anxiety disorder; GR, glucocorticoid receptor; HPA, hypothalamic-pituitary-adrenal; LTD, long-term depression; LTP, long-term potentiation; NMDA, N-methyl-D-aspartate; PFC, prefrontal cortex; SNP, single nucleotide polymorphism; SSRIs, selective serotonin reuptake inhibitors; TPH1, tryptophan hydroxylase-1; UCMS, unpredictable chronic mild stress

Introduction

The lifetime prevalence for major depression is estimated as high as 16.2% in the USA (Greenberg *et al.*, 2003; Kessler *et al.*, 2003) and according to the World Health Organization, it will be the second most prevalent cause of illness-induced disability by 2020 (Murray and Lopez, 1997). The nosography

of this disease encompasses various symptoms including anhedonia, depressed mood, fatigue, increased stress sensitivity, thoughts of worthlessness, inappropriate guilt, helplessness, apathy, shift towards negative emotions (sadness, emotional blunting, irritability and anxiety), cognitive alterations (impaired working memory, bias towards negative stimuli), body weight and sleep pattern abnormalities (see Table 1). Anhedonia and depressed mood are considered as core symptoms present in all patients, while other alterations vary among patients, so that the disease displays high symptomatic heterogeneity. This symptomatic variability sometimes raises the question of the construct validity of depression as a relevant entity, related to a monolithic pattern of biological alterations. To further complicate the picture, some of these symptoms also occur in other diagnostic

Correspondence: C Belzung, INSERM U-930, Université François Rabelais Tours, UFR Sciences et Techniques, Parc Grandmont, F37200 Tours, France. E-mail: catherine.belzung@univ-tours.fr

As to the receptor nomenclature, we used *BJP's* Guide to Receptors and Channels (Alexander *et al.*, 2008) and NC-IUPHAR (<http://iuphar-db.org>).

Received 18 March 2009; revised 9 September 2009; accepted 13 October 2009

categories, raising the question whether these symptoms are specific to each disease. For example, depressive episodes are also found in disorders from the 'bipolar spectrum', characterized by a cycling between depressive periods and mania or hypomania. Additionally, some disorders not only share symptoms found in major depression, but are also comorbid with the depressive pathology. For example, some symptoms of major depression overlap with those of generalized anxiety disorder (GAD), and high comorbidity among both pathologies is well established (Moller, 2002), suggesting common aetiological factors. Factors conferring a high vulnerability to major depression and/or anxiety disorders can be either genetic or environmental (i.e. poor maternal care or perinatal

stress) in origin (Figure 1). Interestingly, twin studies (Kendler *et al.*, 1992; 2007; Roy *et al.*, 1995; Kendler, 1996) found consistent evidence that major depression and GAD share genetic risk factors such as polymorphism of the serotonin (5-HT: 5-hydroxytryptamine) transporter (serotonin transporter: SERT). Indeed, this polymorphism is associated to predisposition traits favouring depression (Schinka *et al.*, 2004; Sen *et al.*, 2004) and GAD (Wray *et al.*, 2009). Such relationship is also found for polymorphism of the catechol-O-methyl transferase gene, of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene and of the tryptophan hydroxylase-1 (TPH1) gene (see Hettema, 2008 for a review).

Major depression can be treated using antidepressant (AD) pharmacotherapy, particularly by manipulating monoaminergic targets. For example, selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) block the SERT thus increasing 5-HT, and monoamine oxidase inhibitors target monoamine oxidase, the enzyme metabolizing monoamines, also increasing 5-HT and/or noradrenergic neurotransmission. It is generally admitted that the aetiological factors involved in the release of a depressive episode might cause changes in specific end points. An end point is defined here as alterations that are targeted by the different therapies. These alterations are almost pathophysiological changes, but neuropsychological alterations can also be considered as end points as they can be targeted by behavioural therapies such as emotional regulation or cognitive and behavioural therapy. The different treatments act to reverse the alterations of these different end points (Figure 1), but the relevance of that for depression is unclear due to the heterogeneity of this disease and its high

Table 1 Diagnostic criteria for major depression

Depressed mood

Decreased interest in pleasurable activities and ability to experience pleasure (anhedonia)

Weight loss or weight gain, increased or decreased appetite
Insomnia or hypersomnia
Psychomotor agitation or retardation
Fatigue or loss of energy
Feelings of hopelessness, worthlessness and guilt
Decreased ability to think or concentrate
Recurrent thoughts of death and suicide
Decreased ability to perform daily tasks efficiently

Diagnostic for major depression is made according to the criteria defined by the Diagnostic Statistical Manual of Mental Disorders if a minimum of five symptoms (including at least one of the bolded symptoms) from the above list have been present during the same 2 week period and disrupt normal occupational and social functioning. (Bolded symptoms are considered cardinal and more specific signs of depression.)

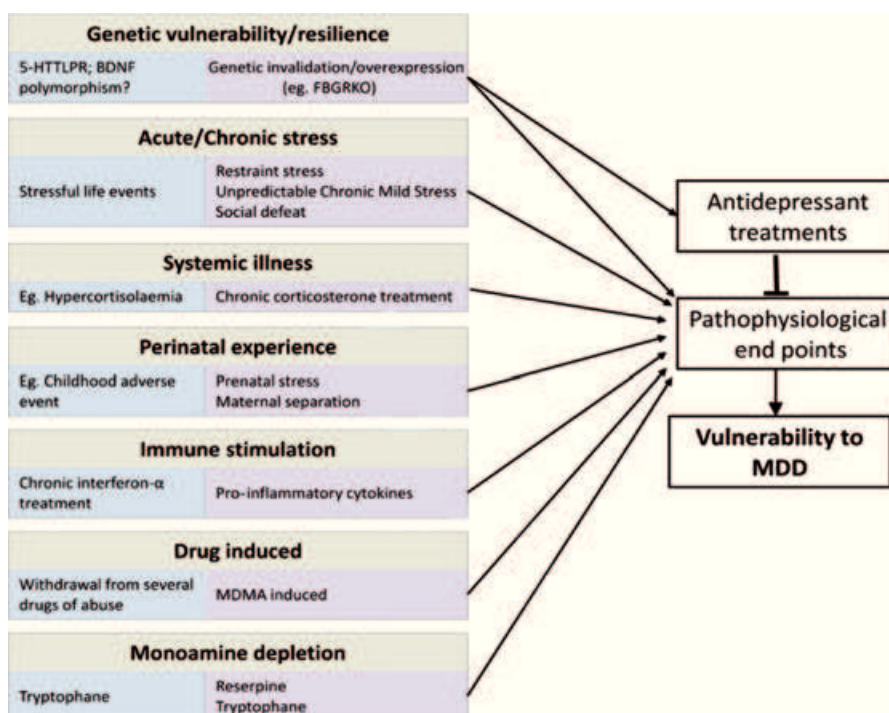


Figure 1 Representation of aetiological factors involved in depression. Examples of triggers in humans are given in blue boxes. Examples of experimental models used in animals to reproduce these triggers are given in purple boxes. These aetiological factors are thought to induce changes in pathophysiological end points precipitating a depression. Antidepressant treatments may act by reversing these changes. BDNF, brain-derived neurotrophic factor; MDD, major depressive disorder; MDMA, methylenedioxymethamphetamine.

comorbidity. Indeed, do the therapies act by relieving the pathophysiological expression of a crucial end point recapitulating major depression or do they target several end points each related to particular symptoms, some of them also being present in comorbid pathologies? This paper is aimed at challenging these issues, describing the different proposed end points and trying to construct a theoretical model of their involvement in the pathophysiology of depression and in the AD's action. Data from the clinic will be discussed, but in some cases research is rather based upon data from preclinical studies, using animal models. Indeed, such models enable to elucidate the causal involvement of a given target by using invasive techniques (lesion of a brain structure, invalidation of a given gene and so forth) and permit a description of the end point pointing to cellular or molecular processes that cannot be studied in humans. Therefore we will briefly describe the animal models that are sometimes used to resolve these issues before describing the end points and presenting our model.

Animal models

An animal model of a psychiatric pathology has to meet several validity criteria in order to be relevant to the clinic. It first has to satisfy face validity that is to provoke changes (behavioural as well as pathophysiological) considered as equivalent to those observed in the human pathology. These alterations might be measured via species-specific methodologies (questionnaires, behaviour, imaging, biochemical dosage and so forth). For example, in humans, anhedonia can be assessed via anhedonia scales (Chapman *et al.*, 1976) while in rodents it will be evaluated via reward-based tests. Some end points are not measurable in preclinical models, as they involve cognitive processes that are present only in higher primates (Belzung and Philippot, 2007) such as the excessive culpability seen in depression. On the other side, some end points cannot be assessed in humans, as for example the ones that can only be detected via immunohistochemistry. A list of the different end points, proposed by the clinical as well as the preclinical literature is presented in Table 2. The animal model has also to fulfil a second validity criterion: the construct validity that is similarity in causation and in the theoretical construct. Indeed, in animals, the depressive-like phenotype has to be elicited by experimental manipulations considered as isomorphic to the factors involved in the etiology of the human disease (Figure 1). As depression is related to a complex aetiology, including developmental as well as triggering factors (stress), animal models are based upon induction of vulnerability during the developmental period (genetic overexpression or invalidation, maternal separation), on learning-related changes of coping (learned helplessness) or on application of mild stressors in adult subjects [social stress, unpredictable chronic mild stress (UCMS), Figure 1]. A third issue an animal model has to address is the predictive validity criterion. This means that treatments that counteract the human pathology should also reverse the alterations observed in the animal model: for example, chronic (but not acute) ADs or electroconvulsive therapy (ECT) should be effective in the animal model.

End points of the antidepressant action: do they target a final common pathway?

If ADs target pathophysiological end points, the question is whether some pathways underlying the therapeutic effects can be considered as crucial, explaining *per se* the AD effect, or whether the ADs rather target a combination of end points to achieve recovery. The first hypothesis is based on the assumption that a unique final common pathway underlies the therapeutic effects. In regard to the symptomatic heterogeneity of the disease, this appears as illusory. However, it can be that a given treatment acts on a core symptom of the disease, so that it might induce remission via this end point, the other associated symptoms remaining unchanged. As to the second option, explanations should be provided on the mechanisms explaining how an effect on this combination of end points may induce remission. In order to better understand this issue, it seems necessary to use some examples from the literature. It is beyond the scope of this paper to provide an exhaustive picture of all the end points that have been studied (see Figure 1 and Table 2) but we might rather

Table 2 Examples of potential end points for antidepressant treatments based on clinical or preclinical data

Altered cortico-limbic processing
Cg25
Hippocampus
Amygdala
Prefrontal cortex
Nucleus accumbens/ventral tegmental area
Neuroplasticity
Neurotrophins
BDNF, VEGF and associated intracellular pathways
LTP, LTD
Neurogenesis
Glial pathology
Neurotransmitter changes
Serotonin
Dopamine
Glutamate
GABA
Noradrenaline
HPA axis dys-regulations
Hypercortisolemia
Decreased glucocorticoids-induced negative feedback
Altered glucocorticoids receptors function/expression
Neuropeptides
Corticotrophin-releasing factor
Vasopressin
Neuropeptide Y
Hypocretin
Immune system
Pro-inflammatory cytokines
Biological rhythms dys-regulations
Sleep/wake cycle
Others
Melatonin
Histone deacetylation
Cognitive traits and behavioural adaptation
Stress coping
Emotional regulation
Executive function
Motivation/apathy (e.g. self-care behaviour/grooming behaviour)

BDNF, brain-derived neurotrophic factor; GABA, gamma amino butyric acid; HPA, hypothalamic-pituitary adrenal; LTD, long-term depression; LTP, long-term potentiation; VEGF, vascular endothelial growth factor.

illustrate our argument using some specific examples, such as brain areas, brain connectivity, neurotransmission, neuroplasticity and hypothalamic-pituitary adrenal (HPA) axis.

Brain circuitry and connectivity

A first well-described end point concerns brain circuitry. Here, we will focus on the macroscopic alterations observed in depression such as modifications in the volume of an area measured by magnetic resonance imaging or in the activity of a region studied via functional magnetic resonance imaging or positron emission tomography. As to the functional aspect, the experimental approach used is often to try to investigate brain area activation during a particular situation, thus establishing a relationship between this task and a brain structure. For example, anhedonia can be related to altered functioning of the nucleus accumbens (Nestler and Carlezon, 2006), depressed mood with altered activity of the anterior cingulate cortex (Drevets *et al.*, 2008), cognitive dysfunction to altered processing in the hippocampus (Spedding *et al.*, 2003) and in the prefrontal cortex (PFC) (Rogers *et al.*, 2004). If ADs target some brain alterations underlying particular symptoms, rather than depression *per se*, it is possible that it may also relieve alterations present in the comorbid pathologies. This is the reason why we will also discuss the presence of the changes in comorbid disorders, focusing on the example of GAD.

In major depression, several morphological alterations have been reported in cortical areas such as the PFC and the subgenual cingulate cortex (Cg25) as well as in some subcortical areas, including the hippocampus and the amygdala (Ressler and Mayberg, 2007). For example, hippocampal volume decrease is found in patients who suffered multiple depression episodes (MacQueen *et al.*, 2003) while amygdala is enlarged in first episode patients and reduced in recurrent depression (Frodl *et al.*, 2002; Frodl *et al.*, 2003). As to functional alterations, depression is associated with decreased baseline activity in the temporal cortex and in the insula, increased activity in the cerebellum (Fitzgerald *et al.*, 2008), in the ventromedial PFC (see Koenigs and Grafman, 2009, for a review) and in the anterior cingulate cortex (Drevets, 2000). Most of the depression-related changes in brain activity are abolished in remittent patients, indicating that these changes are state markers. For example, paroxetine treatment reverses the frontal, the cingulate and the hippocampal changes seen in depressed patients (Goldapple *et al.*, 2004). Convergent data can be found from animal studies. For example, using c-fos immunostaining, it has been shown that chronic fluoxetine reverses the pattern of activation induced by the novelty suppression of feeding test in the cingulate cortex and the hippocampus but also in the bed nucleus of the stria terminalis, the nucleus accumbens and the piriform cortex (Bechtolt *et al.*, 2008).

However, are these alterations crucial for the AD's action? This seems true in the case of some cerebral end points underlying core symptoms of depression, such as the anterior cingulate cortex activity. Indeed, theta activity increase (Pizzagalli *et al.*, 2001; Mulert *et al.*, 2007) as well as activation detected by neuroimaging at baseline (Mayberg *et al.*, 1997; Saxena *et al.*, 2003) or during precise tasks (Davidson *et al.*,

2003) in this area predict the outcome to monoaminergic ADs but also to putative ADs such as the N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonist ketamine (Salvadore *et al.*, 2009) or to non-pharmacological therapies including sleep deprivation (Wu *et al.*, 1999) or cognitive behavioural therapy (Fu *et al.*, 2008). All these findings support the idea of cingulate cortex activity as a crucial end point of the depressive pathology and the AD's action. However, the picture is more complex as greater pretreatment activity of this area is also found in those GAD patients better responding to venlafaxine (Whalen *et al.*, 2008). In the case of GAD, other end points seem crucial as amygdala activity is also a marker of the outcome to fluoxetine therapy (Whalen *et al.*, 2008). Other pathophysiological AD-sensitive features seem crucial to particular symptoms, rather than to the disease. For example, altered activity of the cortico-limbic network when confronted to facial expressions of joy (Fu *et al.*, 2007), altered activity in the anterior cingulate cortex and the insula when faced with facial expression of sadness (Chen *et al.*, 2007), modified activity pattern in the PFC following painful stimulus (Schweinhardt *et al.*, 2008) and attenuated nucleus accumbens activation in response to positive stimuli (Epstein *et al.*, 2006) have all been described in depressed patients. These specific changes are reversed by ADs: for example, the cortico-limbic changes observed when depressed subjects are confronted to facial expression of joy are reversed by fluoxetine (Fu *et al.*, 2007).

Some of the above-mentioned cerebral alterations could be related not to a modified activity within the targeted brain area *per se*, but to altered excitatory or inhibitory input to this structure. For example, perception of a threatening stimulus is associated with increased activation of the amygdala (Davis and Whalen, 2001). In normal subjects, an inhibitory feedback from cortical areas limits this increased amygdala activity, and this might be dysfunctional in subjects vulnerable to depression such as carriers of the short variant of the SERT gene (Pezawas *et al.*, 2005). Similar results are found in GAD patients as weaker negative connectivity between amygdala and ventrolateral PFC has been described in these patients independently from the comorbid diagnosis of depression (Monk *et al.*, 2008). Therefore, connectivity between amygdala and PFC cannot be considered as an end point crucial for depression, but rather as an end point of a particular symptom seen in depressed as well as in comorbid patients. Further, depressed subjects display increased activity in the extended amygdala when confronted to emotional facial expressions; this is correlated to activity in the anterior cingulate cortex and this correlation is decreased in depressed patients (Anand *et al.*, 2005). Again, rodent models might help in describing the synaptic process underlying such modifications, as changes in brain connectivity can be assessed via long-term potentiation (LTP) and long-term depression (LTD). Indeed, LTP and LTD correspond to semi-permanent changes in connectivity between brain regions (as between the hippocampus and the PFC) or within subareas of a region (as between CA3 and CA1 within the hippocampus). Interestingly, in rodents, exposure to stress impairs LTP in the hippocampal-medial PFC pathway (Rocher *et al.*, 2004; Cerqueira *et al.*, 2007), an effect reversed by ADs (Rocher *et al.*, 2004). Stress also blocks the induction of LTP at the projection from the amygdala to the PFC (Maroun and Richter-Levin,

2003), and at the reverse projection, from PFC to amygdala, stress induces the promotion of LTP and inhibition of LTD (Maroun, 2006). Similar changes have also been observed within the hippocampus. Indeed, stress deteriorates hippocampal LTP while AD from different pharmacological classes such as SSRIs or tianeptine but also ECT increase LTP (Shakesby *et al.*, 2002; Pittenger and Duman, 2008). AD-related alterations in LTD have also been observed in the hippocampus as chronic stress facilitates LTD, an effect prevented by chronic fluvoxamine (Holderbach *et al.*, 2007). These data indicate that it is rather difficult to isolate one particular end point. It would rather be relevant to elucidate the function of these connectivity changes. Indeed, Airan *et al.* (2007) found that dentate gyrus activity is reduced in chronically stressed animals, whereas CA1 activity is increased, suggesting elevated hippocampal output, and reduced hippocampal activity in depressed-like rodents. This is reversed after AD. Interestingly, the activity propagation in the dentate gyrus relative to CA1 provides a reliable indicator of the behavioural phenotype. Authors suggest that depression-like behaviour could thus be associated with altered dentate gyrus associative/predictive activity or increased error signals from CA1, resulting in the failure to adapt to environmental changes.

Neurotransmission changes

Inappropriate functioning and connectivity among key cortico-limbic systems might be related to impaired neurotransmission among brain structures. Several neurotransmitter systems have been involved in depression and in AD response, including the monoaminergic, and more recently the glutamatergic systems.

As all used ADs target monoaminergic neurotransmission, particularly 5-HT and noradrenaline, these systems have been proposed to be the crucial end point underlying recovery. Indeed, brain 5-HT availability is increased by most ADs and associated with modulation of 5-HT receptors, particularly desensitization of the 5-HT_{1A} autoreceptor (Chaput *et al.*, 1991; Blier and de Montigny, 1998). Is this crucial for AD effects? This seems to be the case as depletion of 5-HT completely blocks the effects of SSRIs (Redrobe *et al.*, 2005; O'Leary *et al.*, 2007). Further, a single nucleotide polymorphism (SNP) for the SERT, the 5-HT_{1A}, the 5-HT_{2A} or the 5-HT_{3A} receptors, or for enzymes involved in the biosynthesis of 5-HT (TPH) are all associated with altered response to monoaminergic ADs (Kato and Serretti, 2008), supporting the view of the 5-HT system as the crucial target of the AD response. However, this is a simplification. Indeed, while rapid depletion of 5-HT can induce a relapse in patients responsive to fluoxetine, no effect is found in patients successfully treated with an AD having a strong noradrenergic component (Delgado *et al.*, 1999). Moreover, mice having targeted invalidation of the 5-HT_{1A} receptors gene become insensitive to the effects of fluoxetine in the novelty suppression of feeding test, while still responding to imipramine, again a compound whose action is not only affecting 5-HT transmission (Santarelli *et al.*, 2003). Therefore, 5-HT seems causally involved in the effects of 5-HT-acting ADs, but is not crucial for the effects of other ADs. Further, 5-HT is not critical

in the pathophysiology of depression as most studies investigating 5-HT function in depression provide equivocal results. For example, unaltered platelet 5-HT concentration has been repeatedly reported in depressed patients (Muck-Seler *et al.*, 1991; Muck-Seler *et al.*, 1996; Jakovljevic *et al.*, 1997; Pivac *et al.*, 1997). However, other studies report 5-HT-related changes. For example, decreased plasma tryptophan levels (Coppen *et al.*, 1973; Cowen *et al.*, 1989), reduced cerebrospinal fluid 5-hydroxyindoleacetic acid (metabolite of 5-HT) (Asberg *et al.*, 1976), reduced 5-HT_{1A} receptor binding potential in the raphe, the cingulate cortex and the insula (Drevets *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 2000; Meltzer *et al.*, 2004; Drevets *et al.*, 2007) have been reported. Finally, some of these pathophysiological alterations are not crucial for the AD's effects. For example, the change in 5-HT_{1A} receptors is not reversed by AD (Drevets *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 2000).

Cryan *et al.* (2004) highlighted the role of noradrenaline in the effects of several ADs as mice unable to synthesize noradrenaline due to targeted disruption of the dopamine beta-hydroxylase gene (*Dbh*^{-/-}) fail to respond to several noradrenergic-acting ADs in the tail suspension test but also to the ones of a monoamine oxydase inhibitor and of several SSRIs, suggesting a major role of noradrenaline in AD effects.

Recently research pointed to glutamatergic targets, as this neurotransmitter is the major brain excitatory amino-acid, involved in connectivity among brain areas and LTP. Interestingly, altered levels of glutamate have been seen in cortico-limbic structures found to be dys-regulated in depression (Sanacora *et al.*, 2008). Conversely, ADs might work by stabilizing glutamatergic transmission (Bonanno *et al.*, 2005; Hashimoto, 2009). At the receptor level, alterations are mainly described in the expression of NMDA receptors (reduction in NMDA receptor binding in the frontal cortex and in NR1 subunit in the temporal cortex) and/or the α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) receptors. Further, glutamatergic agents elicit AD properties (Sanacora *et al.*, 2008). Indeed, ketamine, a NMDA antagonist, elicits AD effects in depressed patients (Zarate *et al.*, 2006). In animal studies, mGlu1/mGlu5 and mGlu2/mGlu3 antagonists have AD-like properties. However, these glutamatergic targets are not causally involved in the effects of monoaminergic ADs. Indeed, deletion of the gene encoding the mGlu5 protein alters the AD effects of the mGlu5 antagonist 6-methyl-2-(phenylethynyl)pyridine (MPEP) in the forced swim test, but not the ones of imipramine (Li *et al.*, 2006). Similarly, mGlu7 receptor knockout mice are insensitive to the AD effects of an mGlu7 ligand in the tail suspension test while the effects of imipramine are still present (Palucha *et al.*, 2007).

All together, these data indicate that changes in neurotransmission are observed in depressed patients and are targeted by ADs, but generally the therapeutic effects are specific to the targeted system: 5-HT-related end points are targeted by 5-HT ADs, glutamatergic targets by glutamatergic ADs and so on. One can assume that the neurotransmission alterations provoke the dysfunction of particular brain areas, and the reversal of this pattern can be achieved targeting the neurotransmission via system-specific tools.

Neuroplasticity

When a subject is faced with environmental challenges, network construction and reorganization occurs leading to neuronal remodelling, formation of novel synapses and birth of new neurons: all these modifications can be grouped under the term neuroplasticity. Recently, the idea that neuroplasticity might be considered as an end point of the AD's action has prompted much enthusiasm. Indeed, altered plasticity may provoke dysfunction of brain structure activity as well as in communication among brain areas. Two neuroplasticity-related targets have received major interest: neurogenesis and neurotrophic factors.

Concerning neurotrophic factors, a particular focus has been on BDNF, not only because it stimulates LTP but also because most monoaminergic ADs but also putative ADs (such as NMDA antagonist memantine), as well as non-pharmacological therapy (ECT and transcranial magnetic stimulation) all promote expression of BDNF in the hippocampus (Duman and Monteggia, 2006). Infusions of BDNF into the hippocampus can mimic AD-like effects (reviewed in Duman and Monteggia, 2006), and overexpression of the TrkB receptor (the primary receptor of BDNF) in mice induces AD-like effects in the forced swim test (Koponen *et al.*, 2005). Moreover, social defeat stress, an animal model of depression, decreases BDNF in the hippocampus (Tsankova *et al.*, 2006). Can BDNF be considered as a crucial end point in the depressive-like phenotype and in AD action? In any case, such formulation is an oversimplification, as the reverse pattern is observed in another brain region: indeed, social defeat leads to a BDNF increase in the nucleus accumbens that is prevented by AD treatment (Berton *et al.*, 2006). A relevant formulation might be that plasticity *per se* requires BDNF, and that plasticity is a medium to remission or to recovery of some depressive-related symptoms in specific areas. For example, BDNF polymorphism seems associated with particular forms of depression or symptoms, such as depression associated to fatigue (Utge *et al.*, 2009) or poorer working memory, slowed response speed, neuroticism, elevations in autonomic arousal and higher anxiety (Gatt *et al.*, 2009). Studies also pointed to involvement of BDNF polymorphism in other pathologies, such as some markers of psychosis (Golimbet *et al.*, 2008; Rybakowski, 2008), substance dependence (Jiang *et al.*, 2009; Wojnar *et al.*, 2009) and Alzheimer disease (Huang *et al.*, 2007). Further, it is also associated with some non-psychiatric/neurologic disease that can increase vulnerability to depression, such as type 2 diabetes (Krabbe *et al.*, 2007).

Another plasticity-related process that received much attention is adult hippocampal neurogenesis. It is now well established that chronic monoaminergic ADs induce an increase in the number of new hippocampal neurons (Malberg *et al.*, 2000; Manev *et al.*, 2001). Similar effects are reported with putative ADs acting via other pathways such as glutamatergic ligands (Yoshimizu and Chaki, 2004), a synthetic cannabinoid (Jiang *et al.*, 2005), tianeptine (Czeh *et al.*, 2001; McEwen *et al.*, 2002), corticotrophin-releasing factor 1 (CRF1) or vasopressin 1b (V1b) receptor antagonists (Alonso *et al.*, 2004) or a melanin-concentrating hormone antagonist (David *et al.*, 2007) as well as with non-pharmacological therapy, such as ECT (Malberg *et al.*, 2000). In some cases, neurogenic effects of ADs are observed in normal animals

(Malberg *et al.*, 2000) and in other cases AD restore a decrease in neurogenesis induced by stress (Alonso *et al.*, 2004). Enthusiasm for this target became higher with the observation that AD's effects are prevented by X-ray hippocampal irradiation, which abolishes neurogenesis (Santarelli *et al.*, 2003) suggesting that hippocampal neurogenesis might represent the crucial end point necessary to the AD's action. This involves neurotrophic action as Li *et al.* (2008) showed that genetic ablation of the TrkB receptor in neural progenitor cells in the dentate gyrus impairs the neurogenic and behavioural effects of ADs. There are however limitations to this hypothesis. Indeed, it was observed that the neurogenesis dependence of the AD's effects vary depending on the species and genetic background of animals (Miller *et al.*, 2008), the magnitude of the neurogenesis ablation [partial ablation of neurogenesis by antimetabolic drugs does not elicit suppression of the AD's effects (Bessa *et al.*, 2009)], the pharmacological class of ADs and the type of behavioural paradigms used (Zhao *et al.*, 2008). For example, neurogenesis, if required for the response to monoaminergic-acting ADs or to synthetic cannabinoid HU210, is not necessary for the effects of a melanin-concentrating hormone antagonist (David *et al.*, 2007) and of a CRF1 antagonist or a V1b antagonist (Surget *et al.*, 2008). It was also suggested that the involvement of neurogenesis in the AD's effects is necessary to some but not all depression-related phenotypes. Indeed, hippocampal irradiation suppresses the effects of fluoxetine in the novelty suppression of feeding test, considered as a test measuring the anxiolytic effects of ADs, but not in the open field and in the forced swim test (David *et al.*, 2009). Similarly, irradiation prevents the AD-like effects of a CRF1 antagonist in the novelty suppression of feeding test, but not the effects of this compound on the coat state and in the splash test (Surget *et al.*, 2008). So, it seems that neurogenesis is crucial for the effects of ADs on some specific symptoms of the depressive-like state, rather than on depression *per se*. Further, neural cell proliferation is not reduced in depressed patients (Reif *et al.*, 2006), which again is a limit to the hypothesis of neurogenesis as the crucial end point. It is now hypothesized that neurogenesis, rather than being a necessary mechanism by which all ADs exert their action, contributes to an optimal functioning of the hippocampus. When neurogenesis is decreased, hippocampal activity is altered (Airan *et al.*, 2007), thus rendering appropriate processing of the context more difficult. As the hippocampus projects towards brain regions involved in emotion (amygdala and PFC), hedonicity (nucleus accumbens) and stress (hypothalamus), abolition of neurogenesis may induce an overall change in the cortico-limbic network activity, thus increasing vulnerability to depression.

Neuroendocrine stress axis

Hippocampus, amygdala and PFC are known to contribute to the central regulation of the HPA axis (Ulrich-Lai and Herman, 2009), and hippocampal neurogenesis is directly involved in this phenomenon (Schloesser *et al.*, 2009). The HPA axis has also been proposed as a crucial element of the pathophysiology of depression and the AD response. Indeed, depressive patients display higher salivary cortisol, particularly at awakening (Vreeburg *et al.*, 2009). This is associated

with increased concentrations of CRF in the cerebrospinal fluid (Nemeroff *et al.*, 1984), increased adrenocorticotropin (ACTH) pulse frequency (Mortola *et al.*, 1987), blunted ACTH response following CRF administration (Gold *et al.*, 1984; Holsboer *et al.*, 1984), lower number of CRF receptors in the PFC (Nemeroff *et al.*, 1988), low cortisol suppression after dexamethasone (Carroll *et al.*, 1981) and alterations in the cortisol and ACTH concentrations induced by CRF after suppression by dexamethasone, all indicating a reduced HPA feedback (Holsboer, 2000; Ising *et al.*, 2007). Further, normalization of HPA function has been associated with sustained remission (Ribeiro *et al.*, 1993; Holsboer and Barden, 1996; O'Toole *et al.*, 1997; Zobel *et al.*, 1999; Zobel *et al.*, 2001) suggesting that aberrant HPA function might trigger depression, ADs normalizing these changes (Pariante, 2003). This is confirmed in animal models. For example, after chronic stress, hypersecretion of CRF and vasopressin, functional decrease in glucocorticoid receptor (GR) activity, increased adrenal sensitivity to ACTH and diminished negative feedback of the HPA axis have been observed, which all lead to HPA hyperactivity. Chronic imipramine reverses these changes (Raone *et al.*, 2007) while fluoxetine or tianeptine counteract the increased corticosterone levels occurring after prenatal stress (Szyman-ska *et al.*, 2009). Is HPA normalization correlated to the effects of ADs or does normalization represent a prerequisite for stable remission? Some arguments indicate that HPA normalization might be causal in the AD response. For instance, HPA axis dysfunction is associated with reduced SSRI efficacy (Young *et al.*, 2004), and patients not exhibiting cortisol suppression to a dexamethasone/CRH challenge after 2–3 weeks of treatment are not likely to respond to the therapy (Ising *et al.*, 2007). Regarding the receptors, several SNPs of the GRs influence HPA reactivity and negative feedback (Derijk and de Kloet, 2008) and some of these variants affect response to ADs (Binder *et al.*, 2004; Brouwer *et al.*, 2006). For instance, Binder *et al.* (2004) found that SNPs in FKBP5, a GR-regulating cochaperone of hsp-90 important for fine-tuning of the HPA axis, are associated with AD response and with recurrence of depressive episodes. Further, CRF1 antagonists have shown relative success in attenuating depressive-like behaviours in animal models and in clinical trials (Alonso *et al.*, 2004; Holsboer and Ising, 2008) supporting the idea of HPA function as a crucial end point involved in the pathophysiology as well as in ADs effects. However, other data rather support the idea that the HPA-related changes are not as central. First, these changes are not present in all depressed patients, as hypercortisolemia is found only in 40–60% of depressed patients (Parker *et al.*, 2003) and dexamethasone suppression is not found in all studies (Vreeburg *et al.*, 2009). This might be explained by the fact that the outcome of the dexamethasone suppression test might be influenced by psychiatric comorbidity and depression subtypes (Nemeroff, 1996; Amsterdam, 1998; Veen *et al.*, 2009a). Second, therapeutic improvement can occur independently from an action on the HPA dysfunction. Indeed, paralleling some clinical data (Watson *et al.*, 2002; Gervasoni *et al.*, 2004), UCMS-induced behavioural changes in certain strains of mice can occur without corticosterone alterations and are reversed by chronic AD (Ibarguen-Vargas *et al.*, 2008). Using mice with an acquired forebrain-specific disruption of GR (FBGRKO) Boyle *et al.*

(2005) showed that AD induced a therapeutic effect, but failed to reverse the loss of negative feedback induced by the GR deletion. Further, most remittent patients have higher salivary cortisol, indicating that hypercortisolemia might rather be a trait marker (Vreeburg *et al.*, 2009) of the depressive personality, not reversed by ADs. Third, HPA changes might be associated with some specific symptoms/comorbidity. Indeed, HPA alteration is not associated with severity, chronicity or symptom profile of the depressed patients, except for comorbid anxiety (Veen *et al.*, 2009b). Fourth, some stress-related targets can also be involved independently from the HPA. For example, preclinical data indicate that CRF and vasopressin may target depressive behaviour as well as anxious behaviour, in a way sometimes independent from hypothalamic function. Indeed, in rodents, CRF1 and V1b antagonists are effective both in models of depression and in models of pathological anxiety (Griebel *et al.*, 2002; Ducottet *et al.*, 2003; Louis *et al.*, 2006; Salome *et al.*, 2006). Effectiveness of CRF1 antagonists has also been described in some clinical studies (Holsboer and Ising, 2008) even if others failed to replicate the same findings (Binneman *et al.*, 2008). The AD effects of the V1b antagonist occur via extra-hypothalamic mechanisms such as the lateral septum (Stemmelin *et al.*, 2005) and different amygdala nuclei (Salome *et al.*, 2006), while anxiolytic action of the same compound occurs via the basolateral amygdala (Salome *et al.*, 2006). Other data show an HPA-independent action of CRF as Muller *et al.* (2003) showed that postnatal inactivation of CRF1 in limbic regions (amygdala, hippocampus and neocortex) lead to a decrease in anxiety behaviours, without affecting CRF1 expression in the pituitary.

All these data converge on the idea that the AD action can be achieved either via some particularly crucial end points underlying core symptoms, or via a combination of end points each involved in a particular symptoms. The question then is whether these end points participate in the induction of the depressive-phenotype or whether their role is limited to the AD action.

Have the proposed end points a causal role in the depressive pathology?

If an end point is altered in depressive subjects and involved in the AD mechanism does this mean that it is causally involved in the disease, triggering the depressive episode? Recently, Banasr and Duman (2008) showed that glial ablation in the PFC is sufficient to induce depressive-like behaviours in adult rats, illustrating that an end point might be causally involved in a depressive phenotype. However, the picture is rarely as straightforward as most factors important for the AD's action are not causally involved in the pathology. For instance, several polymorphisms have been described that alter AD's response, including polymorphism of the SERT, the 5-HT_{1A}, the 5-HT_{2A} and the 5-HT_{3A} receptors, of the norepinephrine transporter, the BDNF gene, the genes altering substance P levels (angiotensin-converting enzyme gene: ACE), genes modifying the HPA axis functioning (CRF1 or FKBP5 gene) and glutamatergic neurotransmission (dystrobrevin-binding protein 1 gene) (Kato and Serretti, 2008 for review).

Figure 2 Theoretical model of depression and antidepressant effects based on a connectionist inspired network. Blue arrows represent normal interactions between nodes. Red arrows represent pathological interactions. Antidepressant effects are indicated by green arrows. Increased weight/interaction between nodes is represented by bold arrows. Filled red nodes indicate a pathological change of state, while filled green nodes represent an antidepressant-induced reversal from a pathological state to a normal state. Core behavioural/cognitive traits relevant to the depression diagnostic (hedonic behaviour and mood) are indicated by plain nodes while dashed nodes represent secondary traits (stress coping or cognitive processing). Different colours of the output correspond to the state of the subject (green: normal, red; depressed, purple: comorbid pathology). (A) Normal state, (B) depressive episode induced by dys-regulation of a single end point leading to a core behavioural impairment (e.g. mood), (C) depressive disorder induced by dys-regulation of multiple end points leading to impairments in multiple psychological functions together mediating symptoms of depression, (D) comorbid pathological state induced by dys-regulation of a single secondary end point, (E) hypothetical effects of an antidepressant treatment in scenario 2B, (F) hypothetical effects of an antidepressant in scenario 2B, (G) hypothetical effects of a cognitive behavioural therapy or an emotional regulation therapy on a subject displaying profile 2C and (H) hypothetical view proposing that depression can be recapitulated by a crucial process, neuroplasticity.

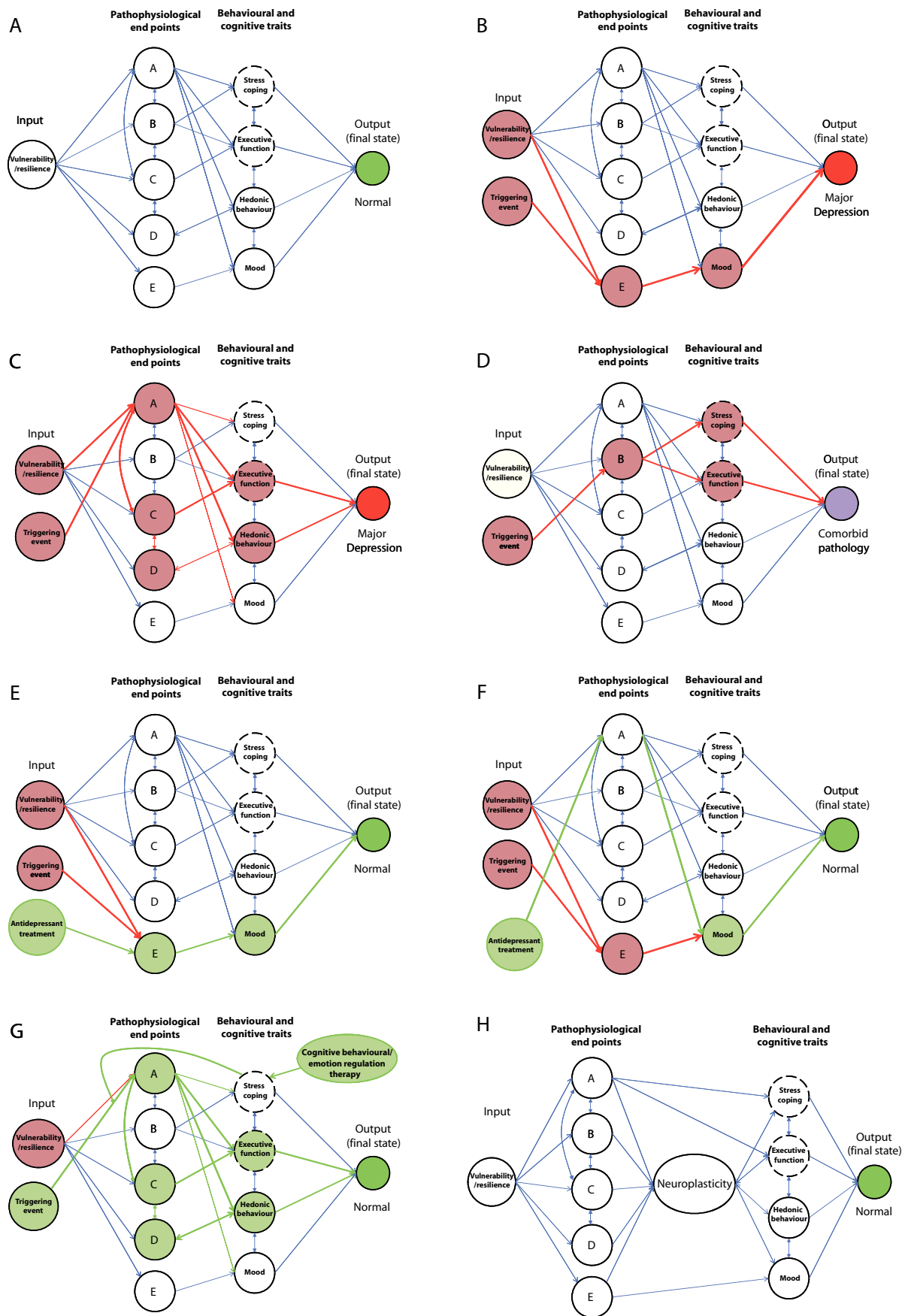
However, no evidence indicates that these abnormalities are associated with increased occurrence of depression. Further, 5-HT depletion only induced depression episodes in those patients having a high vulnerability (Ruhe *et al.*, 2007). In mice, no depressive-like effect of 5-HT depletion is observed in vulnerable subjects such as stressed BALB/c mice (Yalcin *et al.*, 2008). Dbh^{-/-} mice behave normally (Cryan *et al.*, 2001) as do mice with an inducible knockout of BDNF in the forebrain (Monteggia *et al.*, 2004). Abolition of hippocampal neurogenesis does not provoke depression-like phenotype in mice (Santarelli *et al.*, 2003; Surget *et al.*, 2008), and neurogenesis level in unstressed mice does not predict vulnerability to UCMS (Mineur *et al.*, 2007). Further, as mentioned above, several of the putative end points are associated not only to major depression, but also to other disease. For example 5-HT alterations and modification in connectivity between the amygdala and the PFC also appear in GAD patients, and BDNF polymorphism is associated with depression as well as with psychosis, substance abuse or Alzheimer disease. The same reasoning applies for the symptomatic features of depression. For example, difficulty in concentration is present in most affective disorders as well as in several neurological diseases, so that this cannot be considered as a cause of depression. For this reason, most of these end points cannot be considered as a single critical target, causing the depressive phenotype in a monolithic way.

An alternative model as to the relationship between end points and depressive feature

We showed that the hypothesis that depression and/or AD effects might be related to a single end point, explaining the whole phenotype of the pathology, causally involved in the disease and recapitulating all the mechanisms underlying the AD's efficacy is questionable. We also presented data showing that the depressive phenotype might rather be related to an ensemble of independent pathophysiological end points, each important for a particular aspect of the symptomatology. But how do these end points produce the disorder and how can ADs achieve remission? Here we present a theoretical model to resolve this issue, using a connectionist-inspired network (Figure 2). Connectionist models are based upon a connected network of nodes where information is treated in a parallel and distributed fashion. These networks include several layers such as an input layer, one or more intermediate layers performing internal process-

ing and an output layer. The different nodes from a same layer can also be inter-connected. The output represents the activity pattern of different nodes from the network. Each node has several inputs, a threshold (or input-output) function and an output. The strength of the link between nodes can be modified by experience. In Figure 2, each pathophysiological end point (e.g. 5-HT neurotransmission, hippocampal neurogenesis, HPA function, nucleus accumbens and anterior cingulate activity) is represented by a node of the first intermediate layer and each behavioural/cognitive feature is represented by a node of the second intermediate layer, both being inter-connected. In order to simplify the figure, we focused on five neurobiological-related and four symptomatic-related end points. The input layer corresponds to aetiological factors either present during the developmental period and involved in the vulnerability to the disease (genetic factors as well as early environmental features) or factors precipitating the depressive episode during adulthood (life event for example). The vulnerability/resilience will change the threshold sufficient for a particular triggering event to elicit a pathophysiological end point. The output layer corresponds to the state of the subject (normal, depressed, or with a comorbid pathology or symptomatology such as GAD). Several important aspects have to be considered: (i) the pathophysiological end points have causal relationship with symptomatic end points; (ii) among the pathophysiological end points, some are crucial because they might induce a core symptom (anhedonia, depressed mood) and others are secondary; (iii) some non-crucial pathophysiological end points can induce a depressive episode via connections with other nodes, thus inducing overall changes of the network; (iv) in reason of the above-mentioned arguments, different pattern of node activation can underlie depression/remission/resilience; (v) symptomatic end points can also have interrelations. For example, stress coping can regulate executive functions; (vi) back-propagation might enable a node of the second layer to act on nodes of the first layer. For example, relevant stress coping can change the way a triggering event is perceived, thus altering the effect of the life event on the pathophysiological end points; and (vii) the different patterns of node activation may explain the high heterogeneity of the disease as well as its comorbidity.

Different configurations of this theoretical network are illustrated that may help in the discussion of such model. Figure 2A represents the state of the network in a normal subject. During development, he has been subjected to factors providing either vulnerability or resilience to depression. No



particular event triggering depression has occurred, so that the different pathophysiological end points have a normal expression, which is related to normal behaviour. In Figure 2B, the subject has been subjected to a triggering event that, combined to a particular vulnerability state, has induced abnormal expression of the crucial end point E, which is able to induce a core symptom of the disease (depressed mood). In Figure 2C, the triggering event occurring in a vulnerable subject induces pathological expression of an end point (end point A) that is not crucial *per se*. However, as this end point has strong relationships with end point D, itself related to end point C, it might elicit alterations in stress coping, executive function and anhedonia, all together causing a depressive episode. The example of Figure 2D illustrates occurrence of a comorbid disease. Here, the subject is resilient to depression, but he is faced with an event triggering abnormal expression of biological marker B related to stress coping and executive function. However, resilience of this subject might protect him from cognitive dysfunction, so that the subject will display a symptom of a comorbid disease. Figure 2E and F illustrates the effects of AD therapy on such network. In Figure 2E, the treatment targets a crucial end point, and thus a core symptom, inducing a therapeutic effect by counteracting the abnormalities displayed in Figure 2B. The treatment thus acts to reverse the pathophysiological alterations underlying the depressive state. The scheme displayed in Figure 2F is rather interesting, as here the AD effects are achieved via a pathway different from the one underlying the depressive state (the one of Figure 2B) showing that recovery can occur without reversing the pathophysiological alterations. This could be relevant for recurrent depression, as the presence of this pathophysiological end point in the remittent patient might be a key factor in precipitating a new depressive episode. However, this remains to be tested. Figure 2G illustrates the effects of a cognitive behavioural therapy or of emotion regulation therapy applied to a patient in the state described by Figure 2C. According to this scheme, these therapies target emotional/cognitive processes, which may in turn alter the coping of the subject with the triggering event, thus modifying its aptitude to induce pathophysiological end points. However, this is purely speculative. Figure 2H is a theoretical case, showing that a connectionist network can also be used to model a case where depression can be explained by a common and unique critical process. Indeed, here all pathophysiological end points (neurotransmission, HPA axis activity and so on) influence a unique process (neuroplasticity) occurring in different brain areas. Depending of the regional brain pattern in which the plasticity occurs, a different clinical picture will appear. This might however be an oversimplification, as mentioned above. Many other schemes and theoretical views can be constructed. For example, the participation of brain connectivity/LTP in depressive behaviour and AD's effects might be illustrated by changes in the weight between two brain regions (two end points).

Conclusion

This model is a theoretical view that can help in discussing the role of the different pathophysiological end points

described in depression as well as the different mechanisms leading to recovery, via pharmacotherapy or via other approaches. It is coherent with data from the literature we reviewed, such as for example the observation that a drug can induce recovery without reversing pathophysiological alterations, the data showing that ADs can act via different mechanisms, the fact that AD can treat depression as well as comorbid pathologies sharing common pathophysiological end points, the heterogeneity of the symptomatic features of the disease as well as the observation that not all pathophysiological alterations are present in all patients. It represents an interesting framework needing to be tested and refined via experimental manipulations. For example, the weight of the connections between the different nodes has to be established, as well as the level of the different thresholds that render an end point relevant to the pathology and to the action of the therapy. Here we present only a simplified version of the theoretical model, and much other end points have to be included in the network, such as for example cytokines (see Table 2 for a more exhaustive list). This model will enable to progress as to the mechanism of action of the commonly used ADs but also to predict new pathways of AD action, thus permitting to design new treatments of the future. In reason of the complexity of this network, and of the weight of the different relations between the candidate nodes, it might be that the state of the network may vary among patients, so that the future ADs have to target the pathophysiological abnormalities seen in particular subjects, thus shifting to personalized medicine. Animal models should be refined and take such models into account. In any case, this model clearly shows that the research for a unique and crucial end point, explaining all symptoms in all patients is rather a myth. The crucial end point may indeed be the state of this network, rather than one of its components.

Acknowledgement

We are very thankful to Michael Spedding and Etienne Billette de Villemeur, for attentive reading of the manuscript and helpful comments.

Conflict of interest

Catherine Belzung is a consultant for Takeda, Japan.

References

- Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, Chen H, Deisseroth K (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* **317**: 819–823.
- Alexander SP, Mathie A, Peters JA (2008). Guide to Receptors and Channels (GRAC), 3rd edition. *Br J Pharmacol* **153** (Suppl. 2): S1–S209.
- Alonso R, Griebel G, Pavone G, Stemmelin J, Le FG, Soubrie P (2004). Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol Psychiatry* **9**: 278–286.
- Amsterdam JD (1998). Selective serotonin reuptake inhibitor efficacy

- in severe and melancholic depression. *J Psychopharmacol* 12: S99–S111.
- Anand A, Li Y, Wang Y, Wu J, Gao S, Bukhari L *et al.* (2005). Activity and connectivity of brain mood regulating circuit in depression: a functional magnetic resonance study. *Biol Psychiatry* 57: 1079–1088.
- Asberg M, Thoren P, Traskman L, Bertilsson L, Ringberger V (1976). 'Serotonin depression' – a biochemical subgroup within the affective disorders? *Science* 191: 478–480.
- Banasr M, Duman RS (2008). Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry* 64: 863–870.
- Bechtholt AJ, Valentino RJ, Lucki I (2008). Overlapping and distinct brain regions associated with the anxiolytic effects of chlordiazepoxide and chronic fluoxetine. *Neuropsychopharmacology* 33: 2117–2130.
- Belzung C, Philippot P (2007). Anxiety from a phylogenetic perspective: is there a qualitative difference between human and animal anxiety? *Neural Plast* 2007: 59676.
- Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, Renthall W, Russo SJ *et al.* (2006). Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* 311: 864–868.
- Bessa JM, Ferreira D, Melo I, Marques F, Cerqueira JJ, Palha JA *et al.* (2009). The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 14: 764–773.
- Binder EB, Salyakina D, Lichtner P, Wozniak GM, Ising M, Putz B *et al.* (2004). Polymorphisms in FKBP5 are associated with increased recurrence of depressive episodes and rapid response to antidepressant treatment. *Nat Genet* 36: 1319–1325.
- Binneman B, Feltner D, Kolluri S, Shi Y, Qiu R, Stiger T (2008). A 6-week randomized, placebo-controlled trial of CP-316,311 (a selective CRH1 antagonist) in the treatment of major depression. *Am J Psychiatry* 165: 617–620.
- Blier P, de Montigny C (1998). Possible serotonergic mechanisms underlying the antidepressant and anti-obsessive-compulsive disorder responses. *Biol Psychiatry* 44: 313–323.
- Bonanno G, Giambelli R, Raiteri L, Tiraboschi E, Zappettini S, Musazzi L *et al.* (2005). Chronic antidepressants reduce depolarization-evoked glutamate release and protein interactions favoring formation of SNARE complex in hippocampus. *J Neurosci* 25: 3270–3279.
- Boyle MP, Brewer JA, Funatsu M, Wozniak DF, Tsien JZ, Izumi Y *et al.* (2005). Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior. *Proc Natl Acad Sci USA* 102: 473–478.
- Brouwer JP, Appelhof BC, van Rossum EF, Koper JW, Fliers E, Huyser J *et al.* (2006). Prediction of treatment response by HPA-axis and glucocorticoid receptor polymorphisms in major depression. *Psychoneuroendocrinology* 31: 1154–1163.
- Carroll BJ, Feinberg M, Greden JF, Tarika J, Albala AA, Haskett RF *et al.* (1981). A specific laboratory test for the diagnosis of melancholia. Standardization, validation, and clinical utility. *Arch Gen Psychiatry* 38: 15–22.
- Cerqueira JJ, Mailliet F, Almeida OF, Jay TM, Sousa N (2007). The prefrontal cortex as a key target of the maladaptive response to stress. *J Neurosci* 27: 2781–2787.
- Chapman LJ, Chapman JP, Raulin ML (1976). Scales for physical and social anhedonia. *J Abnorm Psychol* 85: 374–382.
- Chaput Y, de MC, Blier P (1991). Presynaptic and postsynaptic modifications of the serotonin system by long-term administration of antidepressant treatments. An *in vivo* electrophysiologic study in the rat. *Neuropsychopharmacology* 5: 219–229.
- Chen CH, Ridler K, Suckling J, Williams S, Fu CH, Merlo-Pich E *et al.* (2007). Brain imaging correlates of depressive symptom severity and predictors of symptom improvement after antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 62: 407–414.
- Coppen A, Eccleston EG, Peet M (1973). Total and free tryptophan concentration in the plasma of depressive patients. *Lancet* 2: 60–63.
- Cowen PJ, Parry-Billings M, Newsholme EA (1989). Decreased plasma tryptophan levels in major depression. *J Affect Disord* 16: 27–31.
- Cryan JF, Dalvi A, Jin SH, Hirsch BR, Lucki I, Thomas SA (2001). Use of dopamine-beta-hydroxylase-deficient mice to determine the role of norepinephrine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *J Pharmacol Exp Ther* 298: 651–657.
- Cryan JF, O'Leary OF, Jin SH, Friedland JC, Ouyang M, Hirsch BR *et al.* (2004). Norepinephrine-deficient mice lack responses to antidepressant drugs, including selective serotonin reuptake inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 8186–8191.
- Czeh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, de BG, van KM *et al.* (2001). Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12796–12801.
- David DJ, Klemenhagen KC, Holick KA, Saxe MD, Mendez I, Santarelli L *et al.* (2007). Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-[[4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl]methyl](4-piperidyl))-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *J Pharmacol Exp Ther* 321: 237–248.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I *et al.* (2009). Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 62: 479–493.
- Davidson RJ, Irwin W, Anderle MJ, Kalin NH (2003). The neural substrates of affective processing in depressed patients treated with venlafaxine. *Am J Psychiatry* 160: 64–75.
- Davis M, Whalen PJ (2001). The amygdala: vigilance and emotion. *Mol Psychiatry* 6: 13–34.
- Delgado PL, Miller HL, Salomon RM, Licinio J, Krystal JH, Moreno FA *et al.* (1999). Tryptophan-depletion challenge in depressed patients treated with desipramine or fluoxetine: implications for the role of serotonin in the mechanism of antidepressant action. *Biol Psychiatry* 46: 212–220.
- Derijk RH, de Kloet ER (2008). Corticosteroid receptor polymorphisms: determinants of vulnerability and resilience. *Eur J Pharmacol* 583: 303–311.
- Drevets WC (2000). Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol Psychiatry* 48: 813–829.
- Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Holt D, Greer PJ *et al.* (1999). PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry* 46: 1375–1387.
- Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, Frank E, Kupfer DJ *et al.* (2007). Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol* 34: 865–877.
- Drevets WC, Price JL, Furey ML (2008). Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. *Brain Struct Funct* 213: 93–118.
- Ducottet C, Griebel G, Belzung C (2003). Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27: 625–631.
- Duman RS, Monteggia LM (2006). A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 59: 1116–1127.
- Epstein J, Pan H, Kocsis JH, Yang Y, Butler T, Chusid J *et al.* (2006). Lack of ventral striatal response to positive stimuli in depressed versus normal subjects. *Am J Psychiatry* 163: 1784–1790.
- Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ (2008). A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. *Hum Brain Mapp* 29: 683–695.
- Frodl T, Meisenzahl E, Zetzsche T, Bottlender R, Born C, Groll C *et al.* (2002). Enlargement of the amygdala in patients with a first episode of major depression. *Biol Psychiatry* 51: 708–714.
- Frodl T, Meisenzahl EM, Zetzsche T, Born C, Jager M, Groll C *et al.* (2003). Larger amygdala volumes in first depressive episode as com-

- pared to recurrent major depression and healthy control subjects. *Biol Psychiatry* 53: 338–344.
- Fu CH, Williams SC, Brammer MJ, Suckling J, Kim J, Cleare AJ *et al.* (2007). Neural responses to happy facial expressions in major depression following antidepressant treatment. *Am J Psychiatry* 164: 599–607.
- Fu CH, Williams SC, Cleare AJ, Scott J, Mitterschiffthaler MT, Walsh ND *et al.* (2008). Neural responses to sad facial expressions in major depression following cognitive behavioral therapy. *Biol Psychiatry* 64: 505–512.
- Gatt JM, Nemeroff CB, Dobson-Stone C, Paul RH, Bryant RA, Schofield PR *et al.* (2009). Interactions between BDNF Val66Met polymorphism and early life stress predict brain and arousal pathways to syndromal depression and anxiety. *Mol Psychiatry* 14: 681–695.
- Gervasoni N, Bertschy G, Osiek C, Perret G, Denis R, Golaz J *et al.* (2004). Cortisol responses to combined dexamethasone/CRH test in outpatients with a major depressive episode. *J Psychiatr Res* 38: 553–557.
- Gold PW, Chrousos G, Kellner C, Post R, Roy A, Augerinos P *et al.* (1984). Psychiatric implications of basic and clinical studies with corticotropin-releasing factor. *Am J Psychiatry* 141: 619–627.
- Goldapple K, Segal Z, Garson C, Lau M, Bieling P, Kennedy S *et al.* (2004). Modulation of cortical-limbic pathways in major depression: treatment-specific effects of cognitive behavior therapy. *Arch Gen Psychiatry* 61: 34–41.
- Golimbet VE, Lebedeva IS, Korovaitseva GI, Lezheiko TV, Yumatova PE (2008). Association of 5-HTTLPR serotonin transporter gene polymorphism and Val66Met brain-derived neurotrophic factor gene polymorphism with auditory N100 evoked potential amplitude in patients with endogenous psychoses. *Bull Exp Biol Med* 146: 605–608.
- Greenberg PE, Kessler RC, Birnbaum HG, Leong SA, Lowe SW, Berglund PA *et al.* (2003). The economic burden of depression in the United States: how did it change between 1990 and 2000? *J Clin Psychiatry* 64: 1465–1475.
- Griebel G, Simiand J, Serradeil-Le GC, Wagnon J, Pascal M, Scatton B *et al.* (2002). Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 6370–6375.
- Hashimoto K (2009). Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder. *Brain Res Rev* 61: 105–123.
- Hettema JM (2008). What is the genetic relationship between anxiety and depression?. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 148C: 140–146.
- Holderbach R, Clark K, Moreau JL, Bischofberger J, Normann C (2007). Enhanced long-term synaptic depression in an animal model of depression. *Biol Psychiatry* 62: 92–100.
- Holsboer F (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 23: 477–501.
- Holsboer F, Barden N (1996). Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr Rev* 17: 187–205.
- Holsboer F, Ising M (2008). Central CRH system in depression and anxiety – evidence from clinical studies with CRH1 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol* 583: 350–357.
- Holsboer F, Von BU, Gerken A, Stalla GK, Muller OA (1984). Blunted corticotropin and normal cortisol response to human corticotropin-releasing factor in depression. *N Engl J Med* 311: 1127.
- Huang R, Huang J, Cathcart H, Smith S, Poduslo SE (2007). Genetic variants in brain-derived neurotrophic factor associated with Alzheimer's disease. *J Med Genet* 44: e66.
- Ibarguen-Vargas Y, Surget A, Touma C, Palme R, Belzung C (2008). Multifaceted strain-specific effects in a mouse model of depression and of antidepressant reversal. *Psychoneuroendocrinology* 33: 1357–1368.
- Ising M, Horstmann S, Kloiber S, Lucae S, Binder EB, Kern N *et al.* (2007). Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression – a potential biomarker? *Biol Psychiatry* 62: 47–54.
- Jakovljevic M, Muck-Seler D, Pivac N, Ljubicic D, Bujas M, Dodig G (1997). Seasonal influence on platelet 5-HT levels in patients with recurrent major depression and schizophrenia. *Biol Psychiatry* 41: 1028–1034.
- Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van CJ, Ji SP, Bai G *et al.* (2005). Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 115: 3104–3116.
- Jiang X, Zhou J, Mash DC, Marini AM, Lipsky RH (2009). Human BDNF isoforms are differentially expressed in cocaine addicts and are sorted to the regulated secretory pathway independent of the Met66 substitution. *Neuromolecular Med* 11: 1–12.
- Kato M, Serretti A (2008). Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* (in press).
- Kendler KS (1996). Major depression and generalised anxiety disorder. Same genes, (partly) different environments – revisited. *Br J Psychiatry Suppl* 30: 68–75.
- Kendler KS, Neale MC, Kessler RC, Heath AC, Eaves LJ (1992). Major depression and generalized anxiety disorder. Same genes, (partly) different environments? *Arch Gen Psychiatry* 49: 716–722.
- Kendler KS, Gardner CO, Gatz M, Pedersen NL (2007). The sources of co-morbidity between major depression and generalized anxiety disorder in a Swedish national twin sample. *Psychol Med* 37: 453–462.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR *et al.* (2003). The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *JAMA* 289: 3095–3105.
- Koenigs M, Grafman J (2009). The functional neuroanatomy of depression: distinct roles for ventromedial and dorsolateral prefrontal cortex. *Behav Brain Res* 201: 239–243.
- Koponen E, Rantamaki T, Voikar V, Saarelainen T, MacDonald E, Castren E (2005). Enhanced BDNF signaling is associated with an antidepressant-like behavioral response and changes in brain monoamines. *Cell Mol Neurobiol* 25: 973–980.
- Krabbe KS, Nielsen AR, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C *et al.* (2007). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia* 50: 431–438.
- Li X, Need AB, Baez M, Witkin JM (2006). Metabotropic glutamate 5 receptor antagonism is associated with antidepressant-like effects in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 319: 254–259.
- Li Y, Luikart BW, Birnbaum S, Chen J, Kwon CH, Kernie SG *et al.* (2008). TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron* 59: 399–412.
- Louis C, Cohen C, Depoortere R, Griebel G (2006). Antidepressant-like effects of the corticotropin-releasing factor 1 receptor antagonist, SSR125543, and the vasopressin 1b receptor antagonist, SSR149415, in a DRL-72 s schedule in the rat. *Neuropsychopharmacology* 31: 2180–2187.
- McEwen BS, Magarinos AM, Reagan LP (2002). Structural plasticity and tianeptine: cellular and molecular targets. *Eur Psychiatry* 17 (Suppl. 3): 318–330.
- MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT *et al.* (2003). Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 1387–1392.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS (2000). Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 20: 9104–9110.
- Manev R, Uz T, Manev H (2001). Fluoxetine increases the content of neurotrophic protein S100beta in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 420: R1–R2.
- Maroun M (2006). Stress reverses plasticity in the pathway projecting from the ventromedial prefrontal cortex to the basolateral amygdala. *Eur J Neurosci* 24: 2917–2922.

- Maroun M, Richter-Levin G (2003). Exposure to acute stress blocks the induction of long-term potentiation of the amygdala-prefrontal cortex pathway *in vivo*. *J Neurosci* **23**: 4406–4409.
- Mayberg HS, Brannan SK, Mahurin RK, Jerabek PA, Brickman JS, Tekell JL *et al.* (1997). Cingulate function in depression: a potential predictor of treatment response. *Neuroreport* **8**: 1057–1061.
- Meltzer CC, Price JC, Mathis CA, Butters MA, Ziolkowski SK, Moses-Kolko E *et al.* (2004). Serotonin 1A receptor binding and treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* **29**: 2258–2265.
- Miller BH, Schultz LE, Gulati A, Cameron MD, Pletcher MT (2008). Genetic regulation of behavioral and neuronal responses to fluoxetine. *Neuropsychopharmacology* **33**: 1312–1322.
- Mineur YS, Belzung C, Crusio WE (2007). Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice. *Neuroscience* **150**: 251–259.
- Moller HJ (2002). Anxiety associated with comorbid depression. *J Clin Psychiatry* **63** (Suppl. 14): 22–26.
- Monk CS, Telzer EH, Mogg K, Bradley BP, Mai X, Louro HM *et al.* (2008). Amygdala and ventrolateral prefrontal cortex activation to masked angry faces in children and adolescents with generalized anxiety disorder. *Arch Gen Psychiatry* **65**: 568–576.
- Monteggia LM, Barrot M, Powell CM, Berton O, Galanis V, Gemelli T *et al.* (2004). Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**: 10827–10832.
- Mortola JF, Liu JH, Gillin JC, Rasmussen DD, Yen SS (1987). Pulsatile rhythms of adrenocorticotropin (ACTH) and cortisol in women with endogenous depression: evidence for increased ACTH pulse frequency. *J Clin Endocrinol Metab* **65**: 962–968.
- Muck-Seler D, Jakovljevic M, Deanovic Z (1991). Effect of antidepressant treatment on platelet 5-HT content and relation to therapeutic outcome in unipolar depressive patients. *J Affect Disord* **23**: 157–164.
- Muck-Seler D, Jakovljevic M, Pivac N (1996). Platelet 5-HT concentrations and suicidal behaviour in recurrent major depression. *J Affect Disord* **39**: 73–80.
- Mulert C, Juckel G, Brunnmeier M, Karch S, Leicht G, Mergl R *et al.* (2007). Rostral anterior cingulate cortex activity in the theta band predicts response to antidepressive medication. *Clin EEG Neurosci* **38**: 78–81.
- Muller MB, Zimmermann S, Sillaber I, Hagemeyer TP, Deussing JM, Timpl P *et al.* (2003). Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. *Nat Neurosci* **6**: 1100–1107.
- Murray CJ, Lopez AD (1997). Alternative projections of mortality and disability by cause 1990–2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* **349**: 1498–1504.
- Nemeroff CB (1996). The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol Psychiatry* **1**: 336–342.
- Nemeroff CB, Widerlov E, Bissette G, Walleus H, Karlsson I, Eklund K *et al.* (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science* **226**: 1342–1344.
- Nemeroff CB, Owens MJ, Bissette G, Andorn AC, Stanley M (1988). Reduced corticotropin releasing factor binding sites in the frontal cortex of suicide victims. *Arch Gen Psychiatry* **45**: 577–579.
- Nestler EJ, Carlezon WA Jr (2006). The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biol Psychiatry* **59**: 1151–1159.
- O'Leary OF, Bechtholt AJ, Crowley JJ, Hill TE, Page ME, Lucki I (2007). Depletion of serotonin and catecholamines block the acute behavioral response to different classes of antidepressant drugs in the mouse tail suspension test. *Psychopharmacology (Berl)* **192**: 357–371.
- O'Toole SM, Sekula LK, Rubin RT (1997). Pituitary-adrenal cortical axis measures as predictors of sustained remission in major depression. *Biol Psychiatry* **42**: 85–89.
- Palucha A, Klak K, Branski P, van der PH, Flor PJ, Pilc A (2007). Activation of the mGlu7 receptor elicits antidepressant-like effects in mice. *Psychopharmacology (Berl)* **194**: 555–562.
- Pariante CM (2003). Depression, stress and the adrenal axis. *J Neuroendocrinol* **15**: 811–812.
- Parker KJ, Schatzberg AF, Lyons DM (2003). Neuroendocrine aspects of hypercortisolism in major depression. *Horm Behav* **43**: 60–66.
- Pezawas L, Meyer-Lindenberg A, Drabant EM, Verchinski BA, Munoz KE, Kolachana BS *et al.* (2005). 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nat Neurosci* **8**: 828–834.
- Pittenger C, Duman RS (2008). Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology* **33**: 88–109.
- Pivac N, Muck-Seler D, Jakovljevic M (1997). Platelet 5-HT levels and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in schizophrenic patients with positive and negative symptoms. *Neuropsychobiology* **36**: 19–21.
- Pizzagalli D, Pascual-Marqui RD, Nitschke JB, Oakes TR, Larson CL, Abercrombie HC *et al.* (2001). Anterior cingulate activity as a predictor of degree of treatment response in major depression: evidence from brain electrical tomography analysis. *Am J Psychiatry* **158**: 405–415.
- Raone A, Cassanelli A, Scheggi S, Rauggi R, Danielli B, De Montis MG (2007). Hypothalamus-pituitary-adrenal modifications consequent to chronic stress exposure in an experimental model of depression in rats. *Neuroscience* **146**: 1734–1742.
- Redrobe JP, Dumont Y, Fournier A, Baker GB, Quirion R (2005). Role of serotonin (5-HT) in the antidepressant-like properties of neuropeptide Y (NPY) in the mouse forced swim test. *Peptides* **26**: 1394–1400.
- Reif A, Fritzen S, Finger M, Strobel A, Lauer M, Schmitt A *et al.* (2006). Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* **11**: 514–522.
- Ressler KJ, Mayberg HS (2007). Targeting abnormal neural circuits in mood and anxiety disorders: from the laboratory to the clinic. *Nat Neurosci* **10**: 1116–1124.
- Ribeiro SC, Tandon R, Grunhaus L, Greden JF (1993). The DST as a predictor of outcome in depression: a meta-analysis. *Am J Psychiatry* **150**: 1618–1629.
- Rocher C, Spedding M, Munoz C, Jay TM (2004). Acute stress-induced changes in hippocampal/prefrontal circuits in rats: effects of antidepressants. *Cereb Cortex* **14**: 224–229.
- Rogers MA, Kasai K, Koji M, Fukuda R, Iwanami A, Nakagome K *et al.* (2004). Executive and prefrontal dysfunction in unipolar depression: a review of neuropsychological and imaging evidence. *Neurosci Res* **50**: 1–11.
- Roy MA, Neale MC, Pedersen NL, Mathe AA, Kendler KS (1995). A twin study of generalized anxiety disorder and major depression. *Psychol Med* **25**: 1037–1049.
- Ruhe HG, Mason NS, Schene AH (2007). Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry* **12**: 331–359.
- Rybakowski JK (2008). BDNF gene: functional Val66Met polymorphism in mood disorders and schizophrenia. *Pharmacogenomics* **9**: 1589–1593.
- Salome N, Stemmelin J, Cohen C, Griebel G (2006). Differential roles of amygdaloid nuclei in the anxiolytic- and antidepressant-like effects of the V1b receptor antagonist, SSR149415, in rats. *Psychopharmacology (Berl)* **187**: 237–244.
- Salvadore G, Cornwell BR, Colon-Rosario V, Coppola R, Grillon C, Zarate CA Jr *et al.* (2009). Increased anterior cingulate cortical activity in response to fearful faces: a neurophysiological biomarker that predicts rapid antidepressant response to ketamine. *Biol Psychiatry* **65**: 289–295.
- Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK (2008). Targeting the

- glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nat Rev Drug Discov* 7: 426–437.
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S *et al.* (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301: 805–809.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J *et al.* (2000). Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57: 174–180.
- Saxena S, Brody AL, Ho ML, Zohrabi N, Maidment KM, Baxter LR Jr (2003). Differential brain metabolic predictors of response to paroxetine in obsessive-compulsive disorder versus major depression. *Am J Psychiatry* 160: 522–532.
- Schinka JA, Busch RM, Robichaux-Keene N (2004). A meta-analysis of the association between the serotonin transporter gene polymorphism (5-HTTLPR) and trait anxiety. *Mol Psychiatry* 9: 197–202.
- Schloesser RJ, Manji HK, Martinowich K (2009). Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport* 20: 553–557.
- Schweinhart P, Kalk N, Wartolowska K, Chessell I, Wordworth P, Tracey I (2008). Investigation into the neural correlates of emotional augmentation of clinical pain. *Neuroimage* 40: 759–766.
- Sen S, Villafuerte S, Nesse R, Stoltenberg SF, Hopcian J, Gleiberman L *et al.* (2004). Serotonin transporter and GABAA alpha 6 receptor variants are associated with neuroticism. *Biol Psychiatry* 55: 244–249.
- Shakesby AC, Anwyl R, Rowan MJ (2002). Overcoming the effects of stress on synaptic plasticity in the intact hippocampus: rapid actions of serotonergic and antidepressant agents. *J Neurosci* 22: 3638–3644.
- Spedding M, Neau I, Harsing L (2003). Brain plasticity and pathology in psychiatric disease: sites of action for potential therapy. *Curr Opin Pharmacol* 3: 33–40.
- Stemmelin J, Lukovic L, Salome N, Griebel G (2005). Evidence that the lateral septum is involved in the antidepressant-like effects of the vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415. *Neuropsychopharmacology* 30: 35–42.
- Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Chalon S, Griebel G *et al.* (2008). Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry* 64: 293–301.
- Szymanska M, Budziszewska B, Jaworska-Feil L, Basta-Kaim A, Kubera M, Leskiewicz M *et al.* (2009). The effect of antidepressant drugs on the HPA axis activity, glucocorticoid receptor level and FKBP51 concentration in prenatally stressed rats. *Psychoneuroendocrinology* 34: 822–832.
- Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, Neve RL, Nestler EJ (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci* 9: 519–525.
- Ulrich-Lai YM, Herman JP (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* 10: 397–409.
- Utge S, Soronen P, Partonen T, Loukola A, Kronholm E, Pirkola S *et al.* (2009). A population-based association study of candidate genes for depression and sleep disturbance. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* (in press).
- Veen G, Derijk RH, Giltay EJ, van VI, van PJ, Zitman FG (2009a). The influence of psychiatric comorbidity on the dexamethasone/CRH test in major depression. *Eur Neuropsychopharmacol* 19: 409–415.
- Veen G, Giltay EJ, Derijk RH, van VI, van PJ, Zitman FG (2009b). Salivary cortisol, serum lipids, and adiposity in patients with depressive and anxiety disorders. *Metabolism* 58: 821–827.
- Vreeburg SA, Hoogendijk WJ, van PJ, Derijk RH, Verhagen JC, Van DR *et al.* (2009). Major depressive disorder and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: results from a large cohort study. *Arch Gen Psychiatry* 66: 617–626.
- Watson S, Gallagher P, Del-Estal D, Hearn A, Ferrier IN, Young AH (2002). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in patients with chronic depression. *Psychol Med* 32: 1021–1028.
- Whalen PJ, Johnstone T, Somerville LH, Nitschke JB, Polis S, Alexander AL *et al.* (2008). A functional magnetic resonance imaging predictor of treatment response to venlafaxine in generalized anxiety disorder. *Biol Psychiatry* 63: 858–863.
- Wojnar M, Brower KJ, Strobbe S, Ilgen M, Matsumoto H, Nowosad I *et al.* (2009). Association between Val66Met brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene polymorphism and post-treatment relapse in alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res* 33: 693–702.
- Wray NR, James MR, Gordon SD, Dumenil T, Ryan L, Coventry WL *et al.* (2009). Accurate, large-scale genotyping of 5HTTLPR and flanking single nucleotide polymorphisms in an association study of depression, anxiety and personality measures. *Biol Psychiatry* 66: 468–476.
- Wu J, Buchsbaum MS, Gillin JC, Tang C, Cadwell S, Wiegand M *et al.* (1999). Prediction of antidepressant effects of sleep deprivation by metabolic rates in the ventral anterior cingulate and medial prefrontal cortex. *Am J Psychiatry* 156: 1149–1158.
- Yalcin I, Belzung C, Surget A (2008). Mouse strain differences in the unpredictable chronic mild stress: a four-antidepressant survey. *Behav Brain Res* 193: 140–143.
- Yoshimizu T, Chaki S (2004). Increased cell proliferation in the adult mouse hippocampus following chronic administration of group II metabotropic glutamate receptor antagonist, MGS0039. *Biochem Biophys Res Commun* 315: 493–496.
- Young EA, Altemus M, Lopez JF, Kocsis JH, Schatzberg AF, DeBattista C *et al.* (2004). HPA axis activation in major depression and response to fluoxetine: a pilot study. *Psychoneuroendocrinology* 29: 1198–1204.
- Zarate CA Jr, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA *et al.* (2006). A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry* 63: 856–864.
- Zhao C, Deng W, Gage FH (2008). Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 132: 645–660.
- Zobel AW, Yassouridis A, Frieboes RM, Holsboer F (1999). Prediction of medium-term outcome by cortisol response to the combined dexamethasone-CRH test in patients with remitted depression. *Am J Psychiatry* 156: 949–951.
- Zobel AW, Nickel T, Sonntag A, Uhr M, Holsboer F, Ising M (2001). Cortisol response in the combined dexamethasone/CRH test as predictor of relapse in patients with remitted depression: a prospective study. *J Psychiatr Res* 35: 83–94.

Annexe 2 - Neurogenic Basis of Antidepressant Action: Recent Advances

Tanti et Belzung, 2010

Neurogenic Basis of Antidepressant Action: Recent Advances

Arnaud Tanti · Catherine Belzung

INSERM U 930, Faculté des Sciences et Techniques, Université François Rabelais, Tours, France

Abstract

A wide range of evidence links impairments of brain plasticity to major depressive disorder (MDD). Given the role of the hippocampus in both cognitive and emotional processing, and that MDD includes alterations in these processes, hippocampal-related plasticity, and more specifically hippocampal neurogenesis, has been suggested to be an endpoint of MDD and of antidepressant action. The observation that neurogenesis is increased by antidepressants and that factors involved in the etiology of MDD such as chronic stress can lead to a decrease in neurogenesis and in functional integrity of newborn neurons has led to the hypothesis that neurogenesis might play an important role in both the etiology of MDD and the mechanism of action of antidepressant drugs. Experimental data first argued in favor of this hypothesis by showing that all treatments having antidepressant-like effects induce increased hippocampal neurogenesis while suppression of neurogenesis prevents the efficacy of the antidepressant. Recent data, however, challenge these observations, as suppression of neurogenesis does not induce a depressive-like phenotype, since the contribution of neurogenesis in the antidepressant effects seems important in some particular conditions and for some specific phenotypes, and not for others. The discovery of the function of hippocampal neurogenesis will help in elucidating these issues.

Copyright © 2010 S. Karger AG, Basel

The search for the biological basis underlying the therapeutic effects of the currently used antidepressant drugs has focused on various targets. First, as all currently used antidepressants act on the monoaminergic system (they either inhibit the serotonin and/or the noradrenalin transporter, inhibit some enzymes involved in monoamine degradation or act on some monoaminergic receptors such as for example the 5-HT_{2C} receptors), it was proposed that the therapeutic effects of these molecules might be related to their aptitude to raise serotonin and noradrenalin levels in specific brain areas. However, this hypothesis met several limits, particularly because the dynamic of the therapeutic effects of antidepressants was different from their effects on monoaminergic neurotransmission (the first one occurring after several weeks of treatment, while the second one initiates immediately after the beginning of the treatment) and

because deficit in these neurotransmission systems does per se not cause depression symptoms, neither in humans [1], nor in animal models [2]. Thus, the hypothesis on the mechanisms underlying the effects of antidepressant drugs shifted toward explanations that may account for the late onset of the therapeutic action of these drugs that is seen in the clinic. Indeed, this observation suggests that antidepressants, together with their immediate action on neurotransmission, might also produce some effects related to longer time windows.

Hippocampal Dysfunction in Depression

Interestingly, major depressive disorder (MDD) and/or animal models of depression are associated with several brain modifications, particularly morphological alterations or functional dysregulation of cortical areas including the prefrontal cortex and the subgenual cingulate cortex (Cg25) as well as of some subcortical areas, such as the hippocampus, the amygdala and the nucleus accumbens (for a review, see Ressler and Mayberg [3]) and even midbrain regions such as the periaqueductal gray [4]. Particularly, the involvement of the hippocampus in MDD was suggested by neuroimaging studies as well as by postmortem data showing a reduction of its volume paralleling the duration of disorder [5–8]; this might be related to atrophy or neuronal loss within this area [5, 9]. Interestingly, most of the MDD-related brain changes are abolished in remittent patients, indicating that these changes are state markers. For example, paroxetine treatment reverses the hippocampal changes seen in MDD patients [10]. Convergent data can be found from animal studies: using *c-fos* immunostaining, it has been shown that chronic fluoxetine reverses the pattern of activation induced by the novelty-suppressed feeding (NDF) test in the cingulate cortex and the hippocampus [11].

Hippocampal Neurogenesis: Background

If antidepressant therapy is able to restore functional and morphological MDD-related brain alterations to a control level, it can be that these drugs may target some particular mechanisms involved in brain plasticity, particularly at the morphological level. Morphological plasticity can be related to several causes, including changes in the number of dendritic spines or number of new hippocampal cells. Recently, research on the mechanisms underlying the antidepressant's action mainly focused on one of these processes: hippocampal neurogenesis. Indeed, in some areas of the brain of adult mammals such as rodents, neural precursor cells can differentiate to all types of neural cells, including neurons, astrocytes, and oligodendrocytes [12]. These new neurons integrate into the existing circuitry, receive functional input and exhibit electrophysiological activity. Adult neural stem cells can be found in many areas of the

adult mammal brain, but differentiation in new neurons (neurogenesis) has only been consistently described in two regions: the subventricular zone (SVZ) and the subgranular zone (SGZ) of the hippocampus that provide new neurons to the olfactory bulbs and to the hippocampus, respectively. It is thus hypothesized that specific factors in the microenvironments of the SGZ and SVZ, termed as the neurogenic niche, may be permissive for the differentiation and integration of new neurons, and that these factors may be absent in nonneurogenic brain regions. Proliferating cells in both SGZ and SVZ are closely associated with the vasculature, which suggests that factors released from the blood vessels might be involved in neurogenesis [13, 14]. The new hippocampal neurons show typical features of mature granule cells at 4 weeks of age, even if they continue to change both physiologically and morphologically after that time period [15–17]. About 50% of newborn neurons die within 4 weeks after birth.

Stress, Depression and Neurogenesis: Common Regulation Factors

Neural precursor cell proliferation, as well as differentiation and survival of new hippocampal neurons are regulated by several factors including stress, aging, physical exercise, neurotrophic factors and neurotransmission. Interestingly, most of these factors are also associated with MDD remission and/or antidepressant effects. More precisely, factors that induce a decrease in hippocampal neurogenesis, such as stress or aging or some diseases associated with increased risk to exhibit MDD (for example diabetes), are also associated with increased risk for MDD, while factors that promote hippocampal neurogenesis, such as physical exercise, neurotrophic factors, some neurotransmitters and antidepressant therapy, seem to prevent MDD. This is summarized in figure 1.

Stress, Depression and Neurogenesis

Indeed, stress is thought to precipitate and exacerbate MDD and a decrease in cell proliferation within the SGZ and/or hippocampal neurogenesis has been observed following exposure to various types of stressors. Such effects have been observed in different species (tree shrews [18]; monkeys [19]; rodents [20, 21]) and using different types of stressors including psychosocial [18, 22] and physical stressors [23–25]. Further, these effects of stress on neurogenesis or cell proliferation have been found both after acute and chronic stress [18, 22, 26]. Among the psychosocial stressors, several protocols have been employed that all induce a suppressive effect on hippocampal neurogenesis including repeated restraint stress [24], inescapable stress [23], or unpredictable chronic mild stress (UCMS) [20, 21]. These observations might have relevance for some stress-related pathologies such as MDD, as in some cases, effects of stress on hippocampal neurogenesis were specific to type of stressors or protocols that

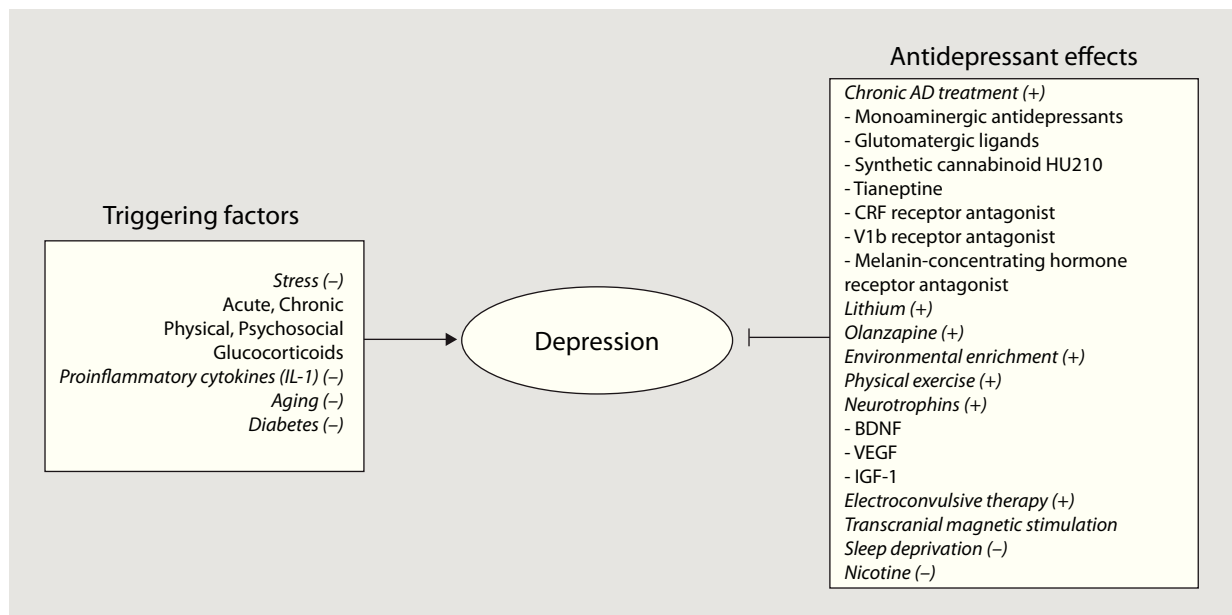


Fig. 1. Correlational link between regulation of neurogenesis and depression. Triggering factors on the left usually share the same antineurogenic properties (-). Compounds or manipulations that have antidepressant effects are displayed in the right box, the major part of them exerting a proneurogenic effect (+), while only few exert either no effect on neurogenesis or have an antineurogenic profile (-). AD = Antidepressant.

are involved in the etiology of MDD. For example, the learned helplessness protocol, a widely used rodent model of depression [27], reported, using male rats, that controllable stress (animals were trained to escape electric shock) causes less reduction in SGZ cell proliferation than uncontrollable stress (animals received the same amount of shocks than the ones of the first group, but in a yoked manner, with no possibility to escape). This suggests that it is not the stress that causes the proliferation decrease, but the way the stressor is perceived by the experimental subject. Interestingly, MDD is associated with uncontrollable stress, rather than controllable stress. Finally, it is also to be noted that the effects of stress on neurogenesis concern all the aspects of the process leading to newborn neurons. Indeed, stress interferes both with cell proliferation in the hippocampus and with neuronal survival [22, 28–31].

The above-mentioned effects of stress on neurogenesis might be related to the fact that hormones that are released by stressors, such as glucocorticoids, induce a robust decrease in cell proliferation and differentiation into neurons as well as in survival of the new hippocampal neurons [31–34]. Two other candidates have been suggested to be the key factors explaining the stress-induced decrease in neurogenesis: the neurotransmitter glutamate [18, 35] and the proinflammatory cytokine interleukin 1 β (IL-1 β) [36]. For example, blockade of the IL-1 β receptor, IL-1RI, by using

either an inhibitor or IL-1RI null mice, blocks the antineurogenic effect of stress [36]. Interestingly, these two factors are also involved in the pathophysiology of MDD and in the effects of antidepressant drugs. Indeed, high levels of IL-1 have been found in patients with several forms of depression, and those levels were correlated with the severity of depression, the duration of the current depressive episode, and the age of disease onset [37–39]. Furthermore, polymorphisms in IL-1 family genes have been associated with severity of depression and responsiveness to antidepressant treatment [40]. Regarding glutamate, its role is rather complex as it depends upon the receptor that is involved [N-methyl-D-aspartate (NMDA) versus α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate (AMPA) or metabotropic receptor] and upon the process (proliferation, differentiation, survival) that is targeted. Indeed, on the one hand, activation of AMPA receptors as well as blockade of mGluR2/3 receptors stimulate proliferation [41]. On the other hand, in vitro stimulation of the precursors via NMDA receptors increases neuronal differentiation [42] and NMDA receptor stimulation is essential to the survival of immature neurons [43]. This should be paralleled with the fact that antidepressants induce a reduced depolarization-stimulated glutamate release and overflow in the hippocampus as well as a reduced expression or function of NMDA receptors [44] and an altered expression and activation of AMPA receptors in the hippocampus. Further, several compounds targeting the glutamatergic system, such as the glutamate release inhibitor riluzole, the partial NMDA receptor agonist D-cycloserine, an NR2B-specific NMDA antagonist, CP-101 606, or mGluR2/mGluR3 antagonists (for example, LY 341495 and MSG0039), all elicit antidepressant-like effects.

Aging, another factor that is associated with increased risk to exhibit MDD, is also associated with decreased cell proliferation and/or neurogenesis in the hippocampal region [45–48]. For example, in rodents, the number of proliferating cells in the dentate gyrus decreases about 30-fold between the age of 2 and 18 months [46]. Similar data are observed in primates. Indeed, hippocampal neurogenesis in the dentate gyrus decreases linearly with age in macaques and this decrease begins in midlife before the onset of old age [49]. Finally, neural precursor cells decline from preadolescence (8–10 years old) to adulthood (30–35 years old) in humans [50].

A decline in the survival of new hippocampal neurons has also been shown in several rodent models of diabetes [51–53], inducing a general decrease in the number of new hippocampal neurons, even if associated with increased hippocampal cell proliferation. Again, diabetes is associated with comorbid MDD [54–57] further indicating a correlation between risk for MDD and decreased neurogenesis within the hippocampus.

Antidepressants and Regulation of Neurogenesis

Other factors that are related to depression, such as monoaminergic neurotransmission, alter cell proliferation and/or neurogenesis. Indeed, serotonin levels are

positively correlated with hippocampal neurogenesis [58–62] and stimulation of serotonergic receptors (5-HT_{1A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C} and 5-HT₄ receptors) induces an increase in proliferation and, depending upon the molecule, in differentiation and survival of new hippocampal neurons [59–61, 63–65]. Further, cell proliferation in the SGZ is decreased by noradrenergic depletion while noradrenergic stimulation has opposite effects [65, 66].

All these data suggest that monoaminergic antidepressants may increase hippocampal neurogenesis. This has indeed been observed. In the early 2000s, several teams reported that monoaminergic antidepressants induce an increase in the number of new neurons within the hippocampus [67, 68]. These effects were observed after chronic administration of antidepressants, but not after acute injections: the effects of antidepressants on neurogenesis thus parallel their therapeutic effects. Interestingly, 2–3 years later, other teams reported similar effects with putative antidepressant-like compounds acting via other, nonmonoaminergic, pathways such as glutamatergic ligands [41], synthetic cannabinoid HU210 [69], tianeptine [28, 70], compounds acting on the stress axis such as corticotrophin-releasing factor 1 (CRF₁) or vasopressin V1b receptor antagonists [21] or a melanin-concentrating hormone (MCH) antagonist [71]. This stimulating effect of antidepressant-like treatments on hippocampal neurogenesis was also observed with nonpharmacological therapy, such as electroconvulsive therapy [67]. In some cases, neurogenic effects were observed in normal animals [67] and in other cases antidepressants rather acted to restore a decrease in neurogenesis induced by a model of depression [21]. The effects of antidepressant-like drugs on neurogenesis have also been assessed in 2 studies in human subjects, but discrepant results were observed. Indeed, in 1 study, depression and/or antidepressant therapy were not associated with a modified number of neural progenitor cells [72], while in a more recent study, MDD patients treated with chronic serotonin transporter inhibitors showed an increase in the number of neural progenitor cells, a similar effect being observed after treatment with tricyclics [73].

Do these effects of chronic antidepressants on hippocampal neurogenesis occur via an increase in proliferation, differentiation or survival of new cells? Recent studies have begun to shed light on this issue, mainly focusing on the effects of fluoxetine in rodents. First, in 2006, Encinas et al. [74] showed that fluoxetine targeted a very precise cell population as treatment with this drug did not affect the division of the stem-like cells in the SGZ or the number of neuroblasts or of immature neurons but it stimulated the proliferation of neural progenitor cells. This suggested that the effects of fluoxetine may involve a very precise step in the formation of new hippocampal neurons. However, a more recent study showed that chronic fluoxetine caused a decline in the number of immature neurons and an increase in mature neurons, suggesting that it accelerated the maturation of new immature neurons [75]. The ability of chronic antidepressant treatments to enhance the survival of newly born neurons is rather a matter of debate. A first study showed that 2 weeks of fluoxetine did not affect cell survival [67], but a later study showed that 4 weeks of fluoxetine was effective in

stimulating cell survival [76]. Further, fluoxetine also acts on the functional properties of the new hippocampal cells. Indeed, chronic fluoxetine stimulates a form of synaptic plasticity, the neurogenesis-dependent long-term potentiation in the dentate gyrus, and this effect of fluoxetine is suppressed after irradiation of the hippocampus [75]. It is still unclear whether antidepressants from other pharmacological classes work through similar mechanisms.

Interestingly, the ability of compounds to stimulate hippocampal neurogenesis is specific to drugs having antidepressant-like effects. For example, lithium and olanzapine (an atypical antipsychotic that elicits some antidepressant-like effects) share this ability to stimulate neurogenesis [77, 78], while other psychoactive drugs that do not elicit antidepressant-like effects, such as haloperidol or benzodiazepines, do not elicit such effects [64, 67, 79]. This again suggests a correlation between antidepressant effects and increased hippocampal neurogenesis. However, the picture is not always as idyllic. For example, sleep deprivation, a process known to have antidepressant-like properties, depresses hippocampal neurogenesis [80, 81]. A similar profile is found with nicotine, that both elicits antidepressant-like effects [82–84] and decreases cell proliferation [85, 86]. Finally, repetitive transcranial magnetic stimulation, a treatment eliciting antidepressant effects, only mildly counteracts the stress-induced decrement in hippocampal cell proliferation, while it suppresses the survival rate of proliferating cells [22].

Other, nonpharmacological treatments that increase neurogenesis are also associated with antidepressant-like effects. For example, environmental enrichment, a regimen that elicits antidepressant-like effects in rodents [87–90], is also associated with increased hippocampal neurogenesis [91–93]. Similarly, voluntary physical exercise stimulates neurogenesis [94] and elicits antidepressant-like effects [95, 96].

Neurogenesis, Neurotrophins and Depression

In the last few years, much popularity has been generated by the ‘neurotrophin hypothesis of depression’, implying that neurotrophins such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), neural growth factor, vascular endothelial growth factor (VEGF) or insulin-like growth factor 1 are involved in MDD. Indeed, administration of these factors generally promotes recovery in animal models of MDD [97, 98]. Interestingly, these factors also promote the generation of new hippocampal neurons, while a decrease in BDNF is associated with decreased neurogenesis. Indeed, mice deficient in BDNF (BDNF +/- mice) show a decrease in the survival of new neurons [99, 100]. However, no effects are observed on differentiation of the new cells [99, 100], while a controversy is found as to the effects of this mutation on cell proliferation, one study [100] showing a decrease and the other study [99] an increase in proliferation induced by the genetic invalidation. Further, intrahippocampal injection of BDNF promotes survival of new hippocampal cells [101] and mice deficient in p75,

one of the BDNF receptors, exhibit increased cell proliferation and decreased survival [99]. On the other hand, intracerebroventricular administration of neural growth factor in rats stimulates cell survival, while it elicits no effects on differentiation or survival [102]. Administration of VEGF stimulates cell proliferation in SGZ and elicits antidepressant-like effects in several tests. Interestingly, signalization associated with this neurotrophin and its receptor Flk1 seems necessary for the neurogenic and behavioral effects of antidepressant drugs [103]. Finally, infusion of insulin-like growth factor 1 also induces antidepressant-like effects as well as neurogenic effects [104].

Are Antidepressants Required for Antidepressant Efficacy?

The causal relationship between antidepressant efficacy and neurogenesis was first addressed by Santarelli et al. [64], who used focal X-ray irradiation to specifically abolish hippocampal neurogenesis in mice before testing antidepressant efficacy in 2 paradigms, the NSF test and the UCMS model of depression. The NSF test consists of exposing food-deprived mice to a novel environment (typically an open field) in which a food pellet is positioned in the center under bright light, and the latency to feed is recorded. This test induces a conflicting motivation between the drive to eat and the fear to venture into the center of the arena, where a higher latency reflects a more anxious/depressive profile. While this test has also been used to screen for anxiety-like behaviors, it is among the few that can reliably demonstrate a behavioral change in response to chronic but not acute treatment with antidepressants and has therefore been used to assess antidepressant efficacy. Whereas control mice in their study displayed a reduced latency to feed in the NSF test after chronic fluoxetine or imipramine treatment, irradiated mice failed to respond to both treatments. However, assessing antidepressant efficacy in naive/control/wild-type mice is questionable. As the neurobiological mechanisms involved in antidepressant effects might not be similar under pathological and standard condition, they further confirmed these results by addressing the requirement of neurogenesis for the behavioral effects of fluoxetine by using the UCMS, which is a well-validated model of depression [105]. This model is based on chronic and unpredictable exposure to various stressors of mild intensity for several weeks and elicits a wide range of antidepressant-sensitive physiological and behavioral alterations, partly analogous to some of the symptoms of depression, including anhedonia, hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis dysregulations, or decreased neurogenesis [105, 106]. One of the core behavioral changes induced by UCMS is a progressive degradation of the coat state of the mice, which has been used as a reliable index of depressive-like state. While chronic fluoxetine treatment in their study was able to reverse the coat state degradation induced by UCMS in nonirradiated mice, hippocampal irradiation completely abolished the effects of fluoxetine. It is noteworthy that localized irradiation of the SVZ, which is another neurogenic niche, had no

Table 1. Effects of suppression of neurogenesis on the behavioral effects of antidepressants

Method of suppression	Species	Strain	Model of depression	Antidepressant treatment	Behavioral assessment	Effect of suppression	References
Irradiation	mouse	129/SvEv	WT	fluoxetine (28 days) imipramine (28 days)	NSF	prevents AD effects	64
Irradiation	mouse	Balb/c	UCMS (5 weeks)	fluoxetine (28 days) imipramine (28 days)	fur state; splash test	prevents AD effects	64
Irradiation	rat	Long-Evans	WT	CB1 agonist (HU210)(10 days)	NSF; FST	prevents AD effects	139
Irradiation	mouse	Balb/cJ	WT	fluoxetine (30 days)	NIH; FST	no effect	125
Irradiation	mouse	129/SvEvTac	WT	MCH1 antagonist (SNAP 94847) (28 days)	NSF	no effect	71
Irradiation	rat	Fisher 344	WT	fluoxetine (7 days)	FST	prevents AD effects	138
Irradiation	mouse	Balb/c	UCMS (5 weeks)	fluoxetine (28 days) imipramine (28 days)	fur state; NSF; splash test	prevents AD effects	107
Irradiation	mouse	Balb/c	UCMS (5 weeks)	CRF ₁ antagonist (28 days) V1b antagonist (28 days)	fur state; splash test	no effect	107
Irradiation	mouse	Balb/c	UCMS (5 weeks)	CRF ₁ antagonist V1b antagonist (28 days)	NSF	prevents AD effects	107
Irradiation	mouse	SvEv129	WT	fluoxetine (28 days)	NSF	prevents AD effects	75
MAM	rats	Wistar	UCMS	fluoxetine imipramine CP 156526 SSR 149415 (14 days)	FST; SCT	no effect	110
MAM	rats	Wistar	UCMS	fluoxetine imipramine CP 156526 SSR 149415 (14 days)	NSF	attenuates AD effects?	110

Table 1. Continued

Method of suppression	Species	Strain	Model of depression	Antidepressant treatment	Behavioral assessment	Effect of suppression	References
MAM	mouse	ICR	WT	rolipram (14–23 days)	EPM; FST; TST; NSF	attenuates AD effects	140
Irradiation	mouse	C57BL/6Ntac	chronic corticosterone treatment	fluoxetine (21 days)	NSF	prevents AD effects	108
Irradiation	mouse	C57BL/6Ntac	chronic corticosterone treatment	fluoxetine (21 days)	FST; OF	no effect	136

FST = Forced swimming test; SCT = sucrose consumption test; EPM = elevated plus maze; TST = tail suspension test; OF = open field; MAM = methylazoxymethanol acetate; WT = wild type; AD = antidepressant; NIH = ■■■.

effect on antidepressant efficacy. This was the first evidence that hippocampal newborn neurons might directly be involved in the behavioral effects of antidepressants.

Much attention has been given to the causal role of hippocampal neurogenesis in the effects of chronic antidepressants since then and several studies have now addressed this question with conflicting results (table 1). Data come predominantly from irradiation studies and to a lesser extent from mutant models or systemic treatment with antimitotic drugs, such as methylazoxymethanol acetate, a cytostatic agent that does only partially reduce neurogenesis, which makes the comparisons somehow difficult. The heterogeneity of the results shows that the requirement of neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants might be influenced by multiple factors such as the type of behavioral paradigms used to assess antidepressant efficacy, the type of antidepressant, the species and strain of animals used.

Is Neurogenesis Crucial for All Aspects of the Antidepressant Action?

Two recent studies highlighted the fact that the question whether or not neurogenesis is required for the behavioral effects of antidepressants might be irrelevant, but rather antidepressants might exert their effects via both neurogenesis-dependent and independent pathways. In a first study, irradiation was used to arrest neurogenesis and the ability of chronic CRF₁ antagonist treatment to reverse the behavioral changes induced by UCMS was assessed. While hippocampal irradiation prevented the effects of the CRF₁ antagonist in the NSF test, further confirming previous results, the same animals still responded to treatment in the coat state and splash test [107]. Similarly, another study showed that suppression of neurogenesis by

irradiation prevented the behavioral effects of fluoxetine in the NSF test, but not in the forced swimming test or the open field [108]. It is therefore possible that these paradigms reflect different aspects of the pathology and involve different pathways/structures in which neurogenesis, and more generally the hippocampus might play a different role. It has been argued for instance that neurogenesis might be particularly involved in anxiety-like behaviors [109] and that performance in the NSF test is more reflective of anxiety-related behavior and therefore irrelevant to depression. It is however noteworthy that chronic fluoxetine treatment had a significant effect in the open field test in this last study, and if requirement of neurogenesis was specific to the relief of anxiety-like behavior, one would expect that antidepressant efficacy was suppressed in the open field following irradiation, which was not the case [108].

Also supporting the view that antidepressants might exert their therapeutic action via both neurogenesis-dependent and independent mechanisms is the fact that so far evidence indicates that neurogenesis does not seem to be required for the improving effects of antidepressants in measures of hedonia [110, 111].

Involvement of neurogenesis in the efficacy of antidepressants also seems dependent on the nature of the drugs used. Whereas fluoxetine, CRF₁ antagonist, or the CB1 agonist HU210 have shown to depend on neurogenesis to exert their behavioral effects in the NSF test [64, 69, 107], it does not seem to be the case with an MCH1 antagonist [71]. Neurogenesis can therefore unlikely be considered as the critical process by which antidepressants exert their behavioral effects and achieve remission. A possible explanation would be that these different classes of antidepressants could act via distinct and possibly compensating mechanisms, some of which being linked to neurogenesis while others not. These different classes could however also act by targeting the same common endpoint, some of these compounds requiring the recruitment of newborn hippocampal neurons to do so, while others having more direct means to modify this endpoint. For example, the hippocampus is known to be involved in the glucocorticoid receptor-mediated negative feedback inhibition of the HPA axis [112]. Attenuation of this negative feedback inhibition has been reported in human depression and following chronic stress in animals [113–115], and monoaminergic drugs have been shown to partially reverse this attenuation by increasing glucocorticoid receptor levels or function thus leading to an enhanced negative feedback inhibition over the HPA axis [116, 117]. It is possible that hippocampal neurogenesis might play an important role in this inhibition. Indeed, a recent study showed that suppression of neurogenesis led to increased release of glucocorticoids following exposure to a mild stressor, suggesting an impaired negative feedback inhibition [118]. It is therefore conceivable that monoaminergic drugs, which do not directly target the HPA axis, might exert their actions by stimulating neurogenesis and restoring a proper hippocampal function, notably the hippocampus-driven inhibition of the HPA axis. Drugs acting directly via HPA axis-related functions, such as the CRF₁ antagonist, could therefore exert antidepressant effects independently from their neurogenic

effects. However, these hypothetical views are not exclusive, as neurogenesis is also required for the behavioral effects of CRF₁ antagonist in the NSF test [107].

Key Factors Involved in the Neurogenic Effects of Antidepressants

Finally, some studies tried to identify the molecular targets required for the effects of fluoxetine on hippocampal neurogenesis. They found that ablation of VEGF [119], of the BDNF receptor TrkB [120, 121], or of aquaporin 4 (a key molecule for maintaining water homeostasis in the brain [122]), or dysfunction of glycogen synthase kinase 3 [123] disrupt the stimulating effects of antidepressants on neurogenesis, suggesting that these molecules may be involved in the molecular pathway by which the proneurogenic action occurs.

Other experimental data may help in elucidating the function of the hippocampal neurogenesis in the effects of antidepressant drugs. Indeed, the stimulating effect of antidepressants on hippocampal neurogenesis is not found in some specific conditions, and a careful analysis of these failures could provide some additional tools to disentangle the role of this process in the therapeutic effects of antidepressant-like treatments. Indeed, the stimulating effect of fluoxetine on hippocampal neurogenesis and/or cell proliferation depends upon the strain [124–126] and the age of the animals, as it can be found in adult rodents, but neither in peripubescent animals [127] nor in aged ones [128]. Discrepant results have been found regarding the gender, as some found gender differences in the ability of antidepressant drugs to stimulate neurogenesis [127, 129], while others did not replicate these findings [130]. The stimulating effect of fluoxetine on neurogenesis or cell proliferation can also be suppressed by some treatments. For example, it is abolished by the anxiolytic diazepam [131], by manipulation of the hormonal stress axis leading to abolished circadian rhythm of corticosterone [132], by lesion of the basolateral nucleus of the amygdala leading to decreased anxiety-like behavior in the elevated plus maze [133] or by environmental manipulations such as early-life stress [134]. Other treatments act to augment the effects of antidepressants on neurogenesis, including Glu2/3 receptor agonists and DHEA.

Neurogenesis as an Etiological Factor of Depression

These overall conflicting results do not allow a clear understanding regarding the potential implications of neurogenesis in the pathophysiology of depression and the mechanisms of actions of antidepressants. It is, however, important to dissociate these two aspects. Indeed, impairment of most of the investigated pathways currently known to be involved in antidepressant efficacy rarely leads to a depressive phenotype. For example, several polymorphisms have been described that alter antidepressant

response including polymorphisms of the serotonin transporter gene, of some serotonin receptors, or of the BDNF gene (for a review, see Kato and Serretti [135]), but no evidence indicates that these abnormalities increase the occurrence of depression. This is also true for neurogenesis, since in all of the mentioned studies arrest of neurogenesis was not sufficient to induce a depressive-like phenotype or to increase vulnerability [64, 107, 136]. This lack of effect on basal behavior has also been observed on other hippocampus-related functions. Indeed, results are also rather conflicting regarding the role of neurogenesis in memory- and learning-related processes (for a review, see Leuner et al. [137]).

Conclusion

Whether these discrepancies are due to heterogeneous experimental approaches (e.g. differences in species, strains, or behavioral paradigms used) or whether neurogenesis might be solely an epiphenomenon is hard to say. Nonetheless, functional integration of newborn hippocampal neurons has been clearly demonstrated, and recent studies suggest that arrest of neurogenesis could alter the local network properties of the hippocampus [75, 138], thus potentially modifying hippocampal output and optimal functioning. Recovery of a proper hippocampal function in return could help in alleviating specific symptoms of depression. Refinement of the paradigms used to assess behavior in animals could help in this way by giving a better idea about the precise cognitive processes in which neurogenesis might be involved.

References

- 1 Ruhe HG, Mason NS, Schene AH: Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry* 2007; 12:331–359.
- 2 Yalcin I, Belzung C, Surget A: Mouse strain differences in the unpredictable chronic mild stress: a four-antidepressant survey. *Behav Brain Res* 2008; 193:140–143.
- 3 Ressler KJ, Mayberg HS: Targeting abnormal neural circuits in mood and anxiety disorders: from the laboratory to the clinic. *Nat Neurosci* 2007;10:1116–1124.
- 4 Berton O, Covington HE III, Ebner K, Tsankova NM, Carle TL, Ulery P, Bhonsle A, Barrot M, Krishnan V, Singewald GM, Singewald N, Birnbaum S, Neve RL, Nestler EJ: Induction of deltaFosB in the periaqueductal gray by stress promotes active coping responses. *Neuron* 2007;55:289–300.
- 5 Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW: Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93: 3908–3913.
- 6 Frodl T, Meisenzahl E, Zetsche T, Bottlender R, Born C, Groll C, Jager M, Leinsinger G, Hahn K, Moller HJ: Enlargement of the amygdala in patients with a first episode of major depression. *Biol Psychiatry* 2002;51:708–714.
- 7 MacQueen GM, Campbell S, McEwen BS, Macdonald K, Amano S, Joffe RT, Nahmias C, Young LT: Course of illness, hippocampal function, and hippocampal volume in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:1387–1392.
- 8 Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, Miller HL, Charney DS: Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry* 2000;157:115–118.

- 9 Duman RS, Charney DS: Cell atrophy and loss in major depression. *Biol Psychiatry* 1999;45:1083–1084.
- 10 Goldapple K, Segal Z, Garson C, Lau M, Bieling P, Kennedy S, Mayberg H: Modulation of cortical-limbic pathways in major depression: treatment-specific effects of cognitive behavior therapy. *Arch Gen Psychiatry* 2004;61:34–41.
- 11 Bechtholt AJ, Valentino RJ, Lucki I: Overlapping and distinct brain regions associated with the anxiolytic effects of chlordiazepoxide and chronic fluoxetine. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:2117–2130.
- 12 Kempermann G, Gage FH: Neurogenesis in the adult hippocampus. *Novartis Found Symp* 2000;231:220–235.
- 13 Alvarez-Buylla A, Lim DA: For the long run: maintaining germinal niches in the adult brain. *Neuron* 2004;41:683–686.
- 14 Palmer TD, Willhoite AR, Gage FH: Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol* 2000;425:479–494.
- 15 Ge S, Yang CH, Hsu KS, Ming GL, Song H: A critical period for enhanced synaptic plasticity in newly generated neurons of the adult brain. *Neuron* 2007;54:559–566.
- 16 Toni N, Laplagne DA, Zhao C, Lombardi G, Ribak CE, Gage FH, Schinder AF: Neurons born in the adult dentate gyrus form functional synapses with target cells. *Nat Neurosci* 2008;11:901–907.
- 17 Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, Ming GL, Gage FH: Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 2006;26:3–11.
- 18 Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E: Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci* 1997;17:2492–2498.
- 19 Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E: Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:3168–3171.
- 20 Mineur YS, Belzung C, Crusio WE: Functional implications of decreases in neurogenesis following chronic mild stress in mice. *Neuroscience* 2007;150:251–259.
- 21 Alonso R, Griebel G, Pavone G, Stemmelin J, Le FG, Soubrie P: Blockade of CRF(1) or V(1b) receptors reverses stress-induced suppression of neurogenesis in a mouse model of depression. *Mol Psychiatry* 2004;9:278–286, 224.
- 22 Czeh B, Welt T, Fischer AK, Erhardt A, Schmitt W, Muller MB, Toschi N, Fuchs E, Keck ME: Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 2002;52:1057–1065.
- 23 Malberg JE, Duman RS: Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:1562–1571.
- 24 Pham K, Nacher J, Hof PR, McEwen BS: Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 2003;17:879–886.
- 25 Vollmayr B, Simonis C, Weber S, Gass P, Henn F: Reduced cell proliferation in the dentate gyrus is not correlated with the development of learned helplessness. *Biol Psychiatry* 2003;54:1035–1040.
- 26 Heine VM, Zareno J, Maslam S, Joels M, Lucassen PJ: Chronic stress in the adult dentate gyrus reduces cell proliferation near the vasculature and VEGF and Flk-1 protein expression. *Eur J Neurosci* 2005;21:1304–1314.
- 27 Shors TJ, Mathew J, Sisti HM, Edgecomb C, Beckoff S, Dalla C: Neurogenesis and helplessness are mediated by controllability in males but not in females. *Biol Psychiatry* 2007;62:487–495.
- 28 Czeh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, de BG, van KM, Bartolomucci A, Fuchs E: Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:12796–12801.
- 29 Mirescu C, Gould E: Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus* 2006;16:233–238.
- 30 Oomen CA, Mayer JL, de Kloet ER, Joels M, Lucassen PJ: Brief treatment with the glucocorticoid receptor antagonist mifepristone normalizes the reduction in neurogenesis after chronic stress. *Eur J Neurosci* 2007;26:3395–3401.
- 31 Wong EY, Herbert J: The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* 2004;20:2491–2498.
- 32 Gould E, Daniels DC, Cameron HA, McEwen BS: Expression of adrenal steroid receptors by newly born cells and pyknotic cells in the dentate gyrus of the postnatal rat. *Mol Cell Neurosci* 1992;3:44–48.
- 33 Cameron HA, Gould E: Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience* 1994;61:203–209.
- 34 Montaron MF, Piazza PV, Aourousseau C, Urani A, Le MM, Abrous DN: Implication of corticosteroid receptors in the regulation of hippocampal structural plasticity. *Eur J Neurosci* 2003;18:3105–3111.

- 35 Nacher J, McEwen BS: The role of N-methyl-D-aspartate receptors in neurogenesis. *Hippocampus* 2006;16:267–270.
- 36 Koo JW, Duman RS: IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:751–756.
- 37 Brambilla F, Monteleone P, Maj M: Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha in children with major depressive disorder or dysthymia. *J Affect Disord* 2004;78:273–277.
- 38 Owen BM, Eccleston D, Ferrier IN, Young AH: Raised levels of plasma interleukin-1beta in major and postviral depression. *Acta Psychiatr Scand* 2001;103:226–228.
- 39 Thomas AJ, Davis S, Morris C, Jackson E, Harrison R, O'Brien JT: Increase in interleukin-1beta in late-life depression. *Am J Psychiatry* 2005;162:175–177.
- 40 Yu YW, Chen TJ, Hong CJ, Chen HM, Tsai SJ: Association study of the interleukin-1 beta (C-511T) genetic polymorphism with major depressive disorder, associated symptomatology, and antidepressant response. *Neuropsychopharmacology* 2003;28:1182–1185.
- 41 Yoshimizu T, Chaki S: Increased cell proliferation in the adult mouse hippocampus following chronic administration of group II metabotropic glutamate receptor antagonist, MGS0039. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;315:493–496.
- 42 Deisseroth K, Singla S, Toda H, Monje M, Palmer TD, Malenka RC: Excitation-neurogenesis coupling in adult neural stem/progenitor cells. *Neuron* 2004;42:535–552.
- 43 Tashiro A, Makino H, Gage FH: Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J Neurosci* 2007;27:3252–3259.
- 44 Szasz BK, Mike A, Karoly R, Gerevich Z, Illes P, Vizi ES, Kiss JP: Direct inhibitory effect of fluoxetine on N-methyl-D-aspartate receptors in the central nervous system. *Biol Psychiatry* 2007;62:1303–1309.
- 45 Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH: Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci* 1996;16:2027–2033.
- 46 Bondolfi L, Ermini F, Long JM, Ingram DK, Jucker M: Impact of age and caloric restriction on neurogenesis in the dentate gyrus of C57BL/6 mice. *Neurobiol Aging* 2004;25:333–340.
- 47 Rao MS, Hattiangady B, Shetty AK: The window and mechanisms of major age-related decline in the production of new neurons within the dentate gyrus of the hippocampus. *Aging Cell* 2006;5:545–558.
- 48 Heine VM, Maslam S, Joels M, Lucassen PJ: Prominent decline of newborn cell proliferation, differentiation, and apoptosis in the aging dentate gyrus, in absence of an age-related hypothalamus-pituitary-adrenal axis activation. *Neurobiol Aging* 2004;25:361–375.
- 49 Leuner B, Kozorovitskiy Y, Gross CG, Gould E: Diminished adult neurogenesis in the marmoset brain precedes old age. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17169–17173.
- 50 Manganas LN, Zhang X, Li Y, Hazel RD, Smith SD, Wagshul ME, Henn F, Benveniste H, Djuric PM, Enikolopov G, Maletic-Savatic M: Magnetic resonance spectroscopy identifies neural progenitor cells in the live human brain. *Science* 2007;318:980–985.
- 51 Stranahan AM, Arumugam TV, Cutler RG, Lee K, Egan JM, Mattson MP: Diabetes impairs hippocampal function through glucocorticoid-mediated effects on new and mature neurons. *Nat Neurosci* 2008;11:309–317.
- 52 Yi SS, Hwang IK, Yoo KY, Park OK, Yu J, Yan B, Kim IY, Kim YN, Pai T, Song W, Lee IS, Won MH, Seong JK, Yoon YS: Effects of treadmill exercise on cell proliferation and differentiation in the subgranular zone of the dentate gyrus in a rat model of type II diabetes. *Neurochem Res* 2009;34:1039–1046.
- 53 Lang BT, Yan Y, Dempsey RJ, Vemuganti R: Impaired neurogenesis in adult type-2 diabetic rats. *Brain Res* 2009;1258:25–33.
- 54 Petrak F, Herpertz S: Treatment of depression in diabetes: an update. *Curr Opin Psychiatry* 2009;22:211–217.
- 55 Fenton WS, Stover ES: Mood disorders: cardiovascular and diabetes comorbidity. *Curr Opin Psychiatry* 2006;19:421–427.
- 56 Katon W, Russo J, Lin EH, Heckbert SR, Ciechanowski P, Ludman EJ, Von KM: Depression and diabetes: factors associated with major depression at five-year follow-up. *Psychosomatics* 2009;50:570–579.
- 57 Araki A, Ito H: Diabetes mellitus and geriatric syndromes. *Geriatr Gerontol Int* 2009;9:105–114.
- 58 Brezun JM, Daszuta A: Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience* 1999;89:999–1002.
- 59 Brezun JM, Daszuta A: Serotonin may stimulate granule cell proliferation in the adult hippocampus, as observed in rats grafted with foetal raphe neurons. *Eur J Neurosci* 2000;12:391–396.
- 60 Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A: 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* 2004;29:450–460.

- 61 Lucas G, Rymar VV, Du J, Mnie-Filali O, Bisgaard C, Manta S, Lambas-Senas L, Wiborg O, Haddjeri N, Pineyro G, Sadikot AF, Debonnel G: Serotonin(4) (5-HT₄) receptor agonists are putative antidepressants with a rapid onset of action. *Neuron* 2007; 55:712–725.
- 62 Radley JJ, Jacobs BL: 5-HT_{1A} receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. *Brain Res* 2002;955:264–267.
- 63 Banasr M, Soumier A, Hery M, Mocaer E, Daszuta A: Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 2006;59:1087–1096.
- 64 Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, Belzung C, Hen R: Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003;301:805–809.
- 65 Kulkarni VA, Jha S, Vaidya VA: 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* 2002;16:2008–2012.
- 66 Rizk P, Salazar J, Raisman-Vozari R, Marien M, Ruberg M, Colpaert F, Debeir T: The alpha₂-adrenoceptor antagonist dexefaroxan enhances hippocampal neurogenesis by increasing the survival and differentiation of new granule cells. *Neuropsychopharmacology* 2006;31:1146–1157.
- 67 Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS: Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 2000; 20:9104–9110.
- 68 Manev R, Uz T, Manev H: Fluoxetine increases the content of neurotrophic protein S100beta in the rat hippocampus. *Eur J Pharmacol* 2001;420:R1–R2.
- 69 Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van CJ, Ji SP, Bai G, Zhang X: Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 2005; 115:3104–3116.
- 70 McEwen BS, Magarinos AM, Reagan LP: Structural plasticity and tianeptine: cellular and molecular targets. *Eur Psychiatry* 2002;17(Suppl 3):318–330.
- 71 David DJ, Klemenhagen KC, Holick KA, Saxe MD, Mendez I, Santarelli L, Craig DA, Zhong H, Swanson CJ, Hegde LG, Ping XI, Dong D, Marzabadi MR, Gerald CP, Hen R: Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-([4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl]methyl)(4-piperidyl))-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *J Pharmacol Exp Ther* 2007;321:237–248.
- 72 Reif A, Fritzen S, Finger M, Strobel A, Lauer M, Schmitt A, Lesch KP: Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 2006;11:514–522.
- 73 Boldrini M, Underwood MD, Hen R, Rosoklija GB, Dwork AJ, John MJ, Arango V: Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 2009;34: 2376–2389.
- 74 Encinas JM, Vaahtokari A, Enikolopov G: Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:8233–8238.
- 75 Wang JW, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, Hen R: Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J Neurosci* 2008;28:1374–1384.
- 76 Nakagawa S, Kim JE, Lee R, Chen J, Fujioka T, Malberg J, Tsuji S, Duman RS: Localization of phosphorylated cAMP response element-binding protein in immature neurons of adult hippocampus. *J Neurosci* 2002;22:9868–9876.
- 77 Manji HK, Moore GJ, Chen G: Clinical and preclinical evidence for the neurotrophic effects of mood stabilizers: implications for the pathophysiology and treatment of manic-depressive illness. *Biol Psychiatry* 2000;48:740–754.
- 78 Kodama M, Fujioka T, Duman RS: Chronic olanzapine or fluoxetine administration increases cell proliferation in hippocampus and prefrontal cortex of adult rat. *Biol Psychiatry* 2004;56:570–580.
- 79 Nixon K, Crews FT: Temporally specific burst in cell proliferation increases hippocampal neurogenesis in protracted abstinence from alcohol. *J Neurosci* 2004;24:9714–9722.
- 80 Guzman-Marin R, Suntsova N, Methippara M, Greiffenstein R, Szymusiak R, McGinty D: Sleep deprivation suppresses neurogenesis in the adult hippocampus of rats. *Eur J Neurosci* 2005;22:2111–2116.
- 81 Mirescu C, Peters JD, Noiman L, Gould E: Sleep deprivation inhibits adult neurogenesis in the hippocampus by elevating glucocorticoids. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:19170–19175.
- 82 Tunez I, Drucker-Colin R, Montilla P, Pena J, Jimena I, Medina FJ, Tasset I: Protective effect of nicotine on oxidative and cell damage in rats with depression induced by olfactory bulbectomy. *Eur J Pharmacol* 2010;627:115–118.
- 83 Vazquez-Palacios G, Hernandez-Gonzalez M, Guevara Perez MA, Bonilla-Jaime H: Nicotine and fluoxetine induce arousing effects on sleep-wake cycle in antidepressant doses: a possible mechanism of antidepressant-like effects of nicotine. *Pharmacol Biochem Behav* 2010;94:503–509.

- 84 Villegier AS, Gallager B, Heston J, Belluzzi JD, Leslie FM: Age influences the effects of nicotine and monoamine oxidase inhibition on mood-related behaviors in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 2010; E-pub ahead of print.
- 85 Abrous DN, Adriani W, Montaron ME, Aurousseau C, Rougon G, Le MM, Piazza PV: Nicotine self-administration impairs hippocampal plasticity. *J Neurosci* 2002;22:3656–3662.
- 86 Shingo AS, Kito S: Effects of nicotine on neurogenesis and plasticity of hippocampal neurons. *J Neural Transm* 2005;112:1475–1478.
- 87 Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M: Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978;47:379–391.
- 88 Brenes JC, Padilla M, Fornaguera J: A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in post-weaning enriched rats. *Behav Brain Res* 2009;197:125–137.
- 89 Laviola G, Hannan AJ, Macri S, Solinas M, Jaber M: Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol Dis* 2008;31:159–168.
- 90 Green TA, Alibhai IN, Roybal CN, Winstanley CA, Theobald DE, Birnbaum SG, Graham AR, Unterberg S, Graham DL, Vialou V, Bass CE, Terwilliger EF, Bardo MT, Nestler EJ: Environmental enrichment produces a behavioral phenotype mediated by low cyclic adenosine monophosphate response element binding (CREB) activity in the nucleus accumbens. *Biol Psychiatry* 2010;67:28–35.
- 91 Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH: More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 1997;386:493–495.
- 92 Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van PH, Winkler J, Gage FH, Kuhn HG: Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci* 2003;17:2042–2046.
- 93 Nilsson M, Perfilieva E, Johansson U, Orwar O, Eriksson PS: Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. *J Neurobiol* 1999;39:569–578.
- 94 Van PH, Kempermann G, Gage FH: Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nat Neurosci* 1999;2:266–270.
- 95 Martinsen EW: Physical activity in the prevention and treatment of anxiety and depression. *Nord J Psychiatry* 2008;62(Suppl 47):25–29.
- 96 Strohle A: Physical activity, exercise, depression and anxiety disorders. *J Neural Transm* 2009;116:777–784.
- 97 Schmidt HD, Duman RS: The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav Pharmacol* 2007;18:391–418.
- 98 Duman RS, Monteggia LM: A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59:1116–1127.
- 99 Sairanen M, Lucas G, Ernfors P, Castren M, Castren E: 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* 2005;25:1089–1094.
- 100 Lee J, Duan W, Mattson MP: 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* 2002;82:1367–1375.
- 101 Scharfman H, Goodman J, Macleod A, Phani S, Antonelli C, Croll S: Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Exp Neurol* 2005;192:348–356.
- 102 Frielingsdorf H, Simpson DR, Thal LJ, Pizzo DP: Nerve growth factor promotes survival of new neurons in the adult hippocampus. *Neurobiol Dis* 2007;26:47–55.
- 103 Warner-Schmidt JL, Duman RS: VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:4647–4652.
- 104 Malberg JE, Platt B, Rizzo SJ, Ring RH, Lucki I, Schechter LE, Rosenzweig-Lipson S: Increasing the levels of insulin-like growth factor-I by an IGF binding protein inhibitor produces anxiolytic and antidepressant-like effects. *Neuropsychopharmacology* 2007;32:2360–2368.
- 105 Willner P, Muscat R, Papp M: Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 1992;16:525–534.
- 106 Ibarguen-Vargas Y, Surget A, Touma C, Palme R, Belzung C: Multifaceted strain-specific effects in a mouse model of depression and of antidepressant reversal. *Psychoneuroendocrinology* 2008;33:1357–1368.
- 107 Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Chalon S, Griebel G, Hen R, Belzung C: Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry* 2008;64:293–301.

- 108 David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, Drew M, Craig DA, Guiard BP, Guilloux JP, Artymyshyn RP, Gardier AM, Gerald C, Antonijevic IA, Leonardo ED, Hen R: Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 2009;62:479–493.
- 109 Revest JM, Dupret D, Koehl M, Funk-Reiter C, Grosjean N, Piazza PV, Abrous DN: Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol Psychiatry* 2009;14:959–967.
- 110 Bessa JM, Ferreira D, Melo I, Marques F, Cerqueira JJ, Palha JA, Almeida OF, Sousa N: The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 2009;14:764–773, 739.
- 111 Jayatissa MN, Henningsen K, West MJ, Wiborg O: Decreased cell proliferation in the dentate gyrus does not associate with development of anhedonic-like symptoms in rats. *Brain Res* 2009;1290:133–141.
- 112 Herman JP, Mueller NK: Role of the ventral subiculum in stress integration. *Behav Brain Res* 2006;174:215–224.
- 113 Ising M, Horstmann S, Kloiber S, Lucae S, Binder EB, Kern N, Kunzel HE, Pfennig A, Uhr M, Holsboer F: Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression – A potential biomarker? *Biol Psychiatry* 2007;62:47–54.
- 114 Holsboer F: The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* 2000;23:477–501.
- 115 Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T: Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience* 2003;119:887–897.
- 116 Pariante CM: Depression, stress and the adrenal axis. *J Neuroendocrinol* 2003;15:811–812.
- 117 Raone A, Cassanelli A, Scheggi S, Rauggi R, Danielli B, De Montis MG: Hypothalamus-pituitary-adrenal modifications consequent to chronic stress exposure in an experimental model of depression in rats. *Neuroscience* 2007;146:1734–1742.
- 118 Schloesser RJ, Manji HK, Martinowich K: Suppression of adult neurogenesis leads to an increased hypothalamo-pituitary-adrenal axis response. *Neuroreport* 2009;20:553–557.
- 119 Lee JS, Jang DJ, Lee N, Ko HG, Kim H, Kim YS, Kim B, Son J, Kim SH, Chung H, Lee MY, Kim WR, Sun W, Zhuo M, Abel T, Kaang BK, Son H: Induction of neuronal vascular endothelial growth factor expression by cAMP in the dentate gyrus of the hippocampus is required for antidepressant-like behaviors. *J Neurosci* 2009;29:8493–8505.
- 120 Saarelainen T, Hendolin P, Lucas G, Koponen E, Sairanen M, MacDonald E, Agerman K, Haapasalo A, Nawa H, Aloyz R, Ernfors P, Castren E: Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. *J Neurosci* 2003;23:349–357.
- 121 Li Y, Luikart BW, Birnbaum S, Chen J, Kwon CH, Kernie SG, Bassel-Duby R, Parada LF: TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment. *Neuron* 2008;59:399–412.
- 122 Kong H, Sha LL, Fan Y, Xiao M, Ding JH, Wu J, Hu G: Requirement of AQP4 for antidepressive efficiency of fluoxetine: implication in adult hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology* 2009;34:1263–1276.
- 123 Eom TY, Jope RS: Blocked inhibitory serine-phosphorylation of glycogen synthase kinase-3 α /beta impairs in vivo neural precursor cell proliferation. *Biol Psychiatry* 2009;66:494–502.
- 124 Huang GJ, Bannerman D, Flint J: Chronic fluoxetine treatment alters behavior, but not adult hippocampal neurogenesis, in BALB/cJ mice. *Mol Psychiatry* 2008;13:119–121.
- 125 Holick KA, Lee DC, Hen R, Dulawa SC: Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/cJ mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 2008;33:406–417.
- 126 Balu DT, Hodes GE, Anderson BT, Lucki I: Enhanced sensitivity of the MRL/MpJ mouse to the neuroplastic and behavioral effects of chronic antidepressant treatments. *Neuropsychopharmacology* 2009;34:1764–1773.
- 127 Hodes GE, Yang L, Van KJ, Santollo J, Shors TJ: Prozac during puberty: distinctive effects on neurogenesis as a function of age and sex. *Neuroscience* 2009;163:609–617.
- 128 Couillard-Despres S, Wuertinger C, Kandasamy M, Caioni M, Stadler K, Aigner R, Bogdahn U, Aigner L: Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis. *Mol Psychiatry* 2009;14:856–864.
- 129 Hodes GE, Hill-Smith TE, Suckow RF, Cooper TB, Lucki I: Sex-specific effects of chronic fluoxetine treatment on neuroplasticity and pharmacokinetics in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2010;332:266–273.
- 130 Lagace DC, Fischer SJ, Eisch AJ: Gender and endogenous levels of estradiol do not influence adult hippocampal neurogenesis in mice. *Hippocampus* 2007;17:175–180.
- 131 Wu X, Castren E: Co-treatment with diazepam prevents the effects of fluoxetine on the proliferation and survival of hippocampal dentate granule cells. *Biol Psychiatry* 2009;66:5–8.

- 132 Huang GJ, Herbert J: Stimulation of neurogenesis in the hippocampus of the adult rat by fluoxetine requires rhythmic change in corticosterone. *Biol Psychiatry* 2006;59:619–624.
- 133 Castro JE, Varea E, Marquez C, Cordero MI, Poirier G, Sandi C: Role of the amygdala in antidepressant effects on hippocampal cell proliferation and survival and on depression-like behavior in the rat. *PLoS One* 2010;5:e8618.
- 134 Navailles S, Hof PR, Schmauss C: Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J Comp Neurol* 2008;509:372–381.
- 135 Kato M, Serretti A: Review and meta-analysis of antidepressant pharmacogenetic findings in major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2010;15:473–500.
- 136 David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, Drew M, Craig DA, Guiard BP, Guilloux JP, Artymyshyn RP, Gardier AM, Gerald C, Antonijevic IA, Leonardo ED, Hen R: Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 2009;62:479–493.
- 137 Leuner B, Gould E, Shors TJ: Is there a link between adult neurogenesis and learning? *Hippocampus* 2006;16:216–224.
- 138 Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, Chen H, Deisseroth K: High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 2007;317:819–823.
- 139 Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van CJ, Ji SP, Bai G, Zhang X: Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 2005; 115:3104–3116.
- 140 Li YF, Huang Y, Amsdell SL, Xiao L, O'Donnell JM, Zhang HT: Antidepressant- and anxiolytic-like effects of the phosphodiesterase-4 inhibitor rolipram on behavior depend on cyclic AMP response element binding protein-mediated neurogenesis in the hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 2009; 34:2404–2419.

Catherine Belzung
 INSERM U 930, Université François Rabelais
 Faculté des Sciences et Techniques, Parc Grandmont
 FR-37200 Tours (France)
 Tel. +33 2 47 36 69 94, Fax +33 2 47 36 72 85, E-Mail catherine.belzung@univ-tours.fr

Arnaud TANTI

Régulation différentielle de la neurogenèse le long de l'axe septo-temporal de l'hippocampe : implications pour la contribution fonctionnelle des nouveaux neurones dans la pathophysiologie de la dépression

Résumé

Les nouveaux neurones de l'hippocampe semblent contribuer à l'action thérapeutique des antidépresseurs. La nature fonctionnelle de cette contribution est cependant inconnue. En stimulant la neurogenèse les antidépresseurs pourraient renforcer certaines fonctions de l'hippocampe et ainsi permettre la rémission. Nous montrons dans ce travail que les nouveaux neurones peuvent contribuer à l'action thérapeutique des antidépresseurs en participant au renforcement de rétrocontrôle hippocampique sur la régulation de l'axe HPA, potentiellement via leur rôle dans la capacité de l'hippocampe à moduler l'activité des autres structures impliquées dans la régulation du stress, comme le noyau du lit de la strie terminale.

Les différentes composantes fonctionnelles de l'hippocampe sont cependant topographiquement distribuées le long de son axe septo-temporal. A travers une approche corrélative nous avons montré que différents antidépresseurs régulent la neurogenèse différemment le long de l'axe septo-temporal. Cela suggère des mécanismes de régulation région-dépendants et que la contribution des nouveaux neurones dans les effets des antidépresseurs pourrait être multiple et sous tendue par des composantes fonctionnelles différentes, et non limitée à la régulation de l'axe du stress.

Mots clés : neurogenèse hippocampique ; axe septo-temporal ; dépression ; antidépresseur ; HPA ; stress ; dexaméthasone ; noyau du lit de la strie terminale

Abstract

Hippocampal newborn neurons contribute to some extent to the therapeutic effects of antidepressants. Mechanisms involved in this contribution remain however elusive. By increasing the recruitment of newborn neurons antidepressants could improve several hippocampal functions and thus allow remission. Here we demonstrate that newborn neurons may contribute to the therapeutic effects of antidepressants by allowing the recovery of a proper hippocampal inhibitory feedback over the HPA axis, possibly by normalizing the communication between the hippocampus and stress integrative structures mediating its inhibitory influence, such as the bed nucleus of the stria terminalis.

Hippocampal functions are however topographically segregated along its septo-temporal axis. Here we show that different mood-improving manipulations differentially regulate neurogenesis along this septo-temporal axis. This suggest different region-specific mechanisms involved in the regulation of neurogenesis and that newborn neurons may contribute to the therapeutic effects of antidepressants by modulating different aspects of hippocampal functions.

Keywords: hippocampal neurogenesis; septo-temporal axis; depression; antidepressant; HPA; stress; dexamethasone; bed nucleus of the stria terminalis