

Université de Montréal

Études des différences sexuelles dans les systèmes cérébraux régulateurs de la réponse de stress et des émotions chez le rat.

par

Annie Duchesne

Département de Sciences Biomédicales option psychiatrie

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures

en vue de l'obtention du grade de

Maître ès sciences (M. Sc.)

en Sciences biomédicales

option Sciences psychiatriques

FÉVRIER, 2007

© Annie Duchesne, 2007



W

4

U58

2007

V. 102

Direction des bibliothèques

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Études des différences sexuelles dans les systèmes cérébraux régulateurs de la réponse de stress et des émotions chez le rat.

présenté par :

Annie Duchesne

évalué par un jury composé des personnes suivantes :

.....Graciela Pineyro.....
président-rapporteur

.....Ron Sullivan.....
directeur de recherche

.....Serge Beaulieu.....
membre du jury

Résumé

L'incidence croissante de troubles psychiatriques associés au stress touche un nombre particulièrement élevé de femmes. En effet, un fonctionnement anormal des systèmes impliqués dans la régulation de la réponse au stress semble étroitement relié à l'émergence de troubles tel que la dépression. Plusieurs études ont démontré l'importance de l'environnement néonatal dans le développement optimal de ces systèmes régulateurs, cependant la grande majorité des ces recherches ont été pratiqués chez des mâles. L'objectif de cette étude est de caractériser les différences sexuelles dans l'effet de modification de l'environnement néonatal dans l'activité et la régulation de la réponse de stress. Des rats, mâles et femelles, ont donc été exposés à des manipulations néonatales. À l'âge adulte, leurs comportements ont été évalués dans le labyrinthe en croix surélevé (EPM) et dans la boîte d'exploration avec des trous. L'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénale (HHS) a été quantifiée lors de l'exposition aiguë ou répétée à un stress d'immobilisation. Les concentrations *post-mortem* de dopamine (DA), de sérotonine (5-HT) et leurs métabolites ont été quantifiées dans diverses régions cérébrales impliquées dans la régulation de la réponse de stress. Les résultats obtenus démontrent que les ratte explorent davantage que les mâles. L'activité de l'axe HHS, mesurée par les concentrations plasmatiques de corticotrophine (ACTH) et de corticoïdes, est globalement plus importante chez les ratte. Les mesures neurochimiques ont démontré que dans l'ensemble des régions échantillonnées, les ratte présentent davantage de DA et de 5-HT comparativement aux rats, cependant les concentrations de métabolites sont plus élevées chez les rats. Finalement, la procédure de manipulations néonatales induit une augmentation globale de l'activité sérotoninergique chez les mâles. Les importantes différences sexuelles rapportées dans cette étude sont possiblement impliquées dans la vulnérabilité des femmes à développer certains troubles associés à une réponse de stress anormale.

Mots clef : sexe dépression dopamine cortex préfrontal manipulation néonatale
stress axe HHS sérotonine amygdale

Summary

In recent years, the incidence of stress-related mental disorders has been growing and affects a particularly high number of females, although the reasons for this gender difference if not clear. Abnormal functioning in systems involved in stress and emotion regulation seems to be related to the emergence of such debilitating conditions as major depression. Preclinical studies have shown that early life environmental factors such as postnatal handling (H) stimulation are very important in the optimal development of such systems. However, most of our knowledge in this regard has been derived from males and not females. The global objective of the present study was to examine gender differences in stress and emotion regulatory systems, using behavioural, neuroendocrine and neurochemical measures, and including early life manipulations as an important factor. Male and female rats were exposed to either early postnatal handling (H) or nonhandling (NH) treatments. As adults, behaviour was assessed in the elevated plus maze (EPM) and in an openfield/holeboard apparatus. Neuroendocrine function was compared by examining the levels of adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT) in response to either acute or repeated (5) immobilization stress. Post-mortem tissue concentrations of dopamine (DA), serotonin (5-HT) and their metabolites were quantified across numerous brain regions implicated in stress and emotion regulation. In behavioural tests, females showed greater general activity than males. Stress hormone levels were higher in females than males at all time points and stress-induced elevations in CORT were higher in females. Across most brain regions examined, females had higher tissue concentrations of the neurotransmitters DA and 5-HT, but males had significantly greater levels of metabolites or turnover ratios. Finally, H treatment enhanced 5-HT metabolism across most brain regions, selectively in males and not females. It is suggested that the observed gender differences in monoamine utilization may potentially contribute to the differential gender vulnerability to stress-related psychiatric disorders.

Keywords: sex depression dopamine prefrontal cortex neonatal handling
stress HPA axis serotonin amygdala

Table des matières

COMPOSITION DU JURY	ii
RÉSUMÉ	iii
RÉSUMÉ EN ANGLAIS	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	vii
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES ABRÉVIATIONS	ix
REMERCIEMENT	xi
REVUE DE LA LITTÉRATURE	12
1. Le concept de stress	13
2. Mécanismes physiologiques de la réponse de stress	15
2.1 L'activation de la réponse de stress	15
2.2 Mécanismes de rétro-inhibition de la réponse de stress.....	18
3. Systèmes neuroanatomiques régulateurs de la réponse de stress	20
3.1 Hippocampe	21
3.2 Amygdale	23
3.3 Cortex préfrontal médian	25
3.4 Latéralisation hémisphérique de la régulation du stress et des émotions	27
4. Systèmes neurochimiques régulateurs de la réponse de stress	29
4.1 Sérotonine	29
4.2 Dopamine et noradrénaline	33
5. Stress et santé mentale	39
5.1 Dépression majeure et HHS	41
5.2 Neuroanatomie et dépression majeure	42
5.3 Neurochimie et dépression majeure.....	44
6. Facteurs modifiant la réponse de stress: environnement néonatal et sexe	48
6.1 Environnement néonatal	48
6.2 Différences sexuelles et réponse de stress	53
7. Résumé	60
OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES	61
Objectifs	62
Hypothèses	63
MÉTHODOLOGIE	65
Animaux et procédure de manipulations néonatales	66

Tests comportementaux.....	66
Labyrinthe en croix surélevé.....	66
Test d'exploration avec trous.....	67
Stress de restriction aigu et répété	67
Analyses neurochimiques <i>post mortem</i> par HPLC-EC.....	68
ARTICLE SOUMIS À <i>NEUROSCIENCE</i>	71
CONCLUSION	117
Résultats et hypothèses	118
Manipulations néonatales.....	118
Neuroendocrinologie de la réponse de stress.....	120
Comportement.....	121
Latéralisation hémisphérique	122
Résultats neurochimiques	124
Effets neurochimiques des manipulations néonatales.....	130
Conclusions générales.....	133
Études futures.....	135
Précisions méthodologiques	135
Interpréter les différences sexuelles dans le comportement	136
L'importance de mesurer la cyclicité ovarienne	137
Modèle néonatal	138
Futures approches expérimentales.....	139
SOURCES DOCUMENTAIRES.....	140

Liste des tableaux

Tableau 1A: DAergic and serotonergic measures in the ventromedial **prefrontal cortex** for all eight subgroups in the study.

Tableau 1B : Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in ventromedial **prefrontal cortex**.

Tableau 2A: DAergic and serotonergic measures in the **amygdala** for all eight subgroups in the study.

Tableau 2B : Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **amygdale**.

Tableau 3A : DAergic and serotonergic measures in the **dorsal hippocampus** for all eight subgroups in the study.

Tableau 3B : Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **dorsal hippocampus**.

Tableau 4A : DAergic and serotonergic measures in the **insular cortex** for all eight subgroups in the study.

Tableau 4B : Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **insular cortex**.

Tableau 5A : DAergic and serotonergic measures in the **nucleus accumbens** for all eight subgroups in the study.

Tableau 5B : Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **nucleus accumbens**.

Liste des figures

Figure 1 : Gender differences in exploratory behaviour in the elevated plus maze (top) and in holeboard exploration (bottom).

Figure 2 : Gender differences in plasma levels of ACTH (top) and CORT (bottom).

Figure 3 : Gender-specific effects of postnatal H on 5-HT metabolism.

Liste des abréviations

6-OHDA : 6-hydroxydopamine

3- MT : 3 méthoxy tyramine

5- HT : 5 - hydroxytryptamine, sérotonine

5-HTergique : sérotoninergique

5-HIAA : 5- hydroxyindoleacétique

A : stress aigue

ACTH : corticotrophine

ARNm : acide ribonucléique messenger

AVP : arginine vasopressine

ATV : aire tegmentaire ventrale

CA : corne d'Ammon

CBG : globuline de liaison des corticoïdes

COMT : cathécol-o-méthyl transférase

CPFm : cortex préfrontal médian

CRF : corticolibérine

DA : dopamine

DAT : transporteur de dopamine

DHBA : dihydroxybenzylamine

DOPAC : 3,4-dihydroxyphenylacetic acid

EDTA : ethylenediamine tetraacetic acid

EPM : *elevated plus maze*, labyrinthe en croix surélevé

F : femelle

GABA : acide gamma-aminobutyrique

GPCR : récepteur couplé aux protéines G

GR : récepteur de glucocorticoïde

H/NH : *handled, non handled*, manipulation néonatale

HHS : hypothalamo- hypophysaire-surrénalien

HPLC- EC : chromatographie liquide à haute performance avec détection électrochimique

HVA : acide homovanillic

IL : infralimbique

LC : locus coeruleus

LG-ABN: licking grooming arch back nursing (léchage, toilettage, maternage archée)

M : mâle

MAO : monoamine oxidase

MR : récepteur au minéralocorticoïde

NA : noradrénaline

NAc : noyau accumbens

NET : transporteur de noradrénaline

NPV : noyau paraventriculaire

NRD : noyau du raphé dorsal

NRM : noyau du raphé médian

OF : *open field*, test de l'espace ouvert

PL : prélimbique

PLT : potentialisation à long terme

R : stress répété

TEP : topographie par émission de positron

TDAH : trouble du déficit d'attention et d'hyperactivité

Remerciement

J'aimerais tout d'abord exprimer ma reconnaissance envers mon directeur le Dr. Ron Sullivan pour m'avoir chaleureusement accueillie dans son laboratoire et fait découvrir un sujet de recherche passionnant. Je le remercie également de sa grande disponibilité et générosité qui m'ont permis de réaliser ma maîtrise dans des conditions optimales. Je tiens également à remercier Marc Dufresne pour m'avoir transmis toutes les habiletés techniques nécessaires à la réussite de mon projet ainsi que pour son enthousiasme et son support moral qui ne c'est jamais démenti.

Ce parcours académique a été d'autant plus agréable grâce au support moral de plusieurs personnes dont ma famille et mon copain Davy, je les remercie pour leurs si précieux conseils et tiens à souligner que sans eux la poursuite de mes études aurait été impensable. J'aimerais aussi dire mes plus sincères remerciements à Stéphanie Gormley, Caroline Millette et Sandra Boye pour m'avoir supporté, corrigé, encouragé et diverti.

Finalement, je tiens à remercier en premier lieu mon directeur, le Dr Ron Sullivan et en second lieu le Comité Permanent du Statue de la Femme et le Centre de recherche Fernand Seguin pour leur support financier.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

1. Le concept de stress

Dans son sens le plus large, le stress réfère à toutes demandes faites à un organisme (Selye, 1970). Le stress est un concept qui réfère davantage à un état qu'à un ensemble de mécanismes. Observable chez la plupart des organismes animaux et végétaux, le stress n'est pas uniquement associé au désagrément. En effet, la réponse de stress est essentielle à notre survie et, de fait, cesse uniquement lorsque l'on meure. Les médiateurs biologiques de la réponse de stress synchronisent notre activité biologique afin de maximiser nos chances de survie lorsque nous sommes exposés à une source de danger. Bien que les menaces directes soient toujours présentes chez les humains (catastrophes naturelles, agression, maladies), elles demeurent minimes par rapport aux sources sociales de stress telles que l'acceptation des autres et la performance. Notre équilibre biologique et psychologique repose donc majoritairement sur l'efficacité de notre réponse de stress.

L'activation de la réponse de stress varie considérablement entre les individus. Cette différence peut provenir de facteurs endogènes associés à la génétique, l'âge ou le sexe, comme d'éléments exogènes tels que la diète ou divers traitements pharmacologiques. Une grande variété de stimuli tant physiques, environnementaux que psychologiques peut entraîner l'activation de la réponse de stress. Appelés stressseurs, ces stimuli peuvent également varier en fonction de leurs durées et de leurs fréquences. Chez l'humain, la réponse de stress est caractérisée par la libération synchrone de divers facteurs chimiques entraînant, entre autres, la libération de l'hormone du stress, le cortisol. L'action de ces facteurs est très vaste et entraîne des changements à la fois ponctuels et permanents. Ces changements prédisposent l'organisme à réagir efficacement à un stressseur tout en contribuant à la construction de réponses de plus en

plus adaptées. Toutefois, il arrive que la réponse soit inappropriée ou mal régulée. C'est à ce moment que le stress peut être considéré comme dommageable.

Récemment, un groupe de chercheur, composé de Bruce McEwen *et al.*, a précisé le concept de stress en développant une terminologie qui fait état de cette activité biphasique (Korte *et al.*, 2005). Lorsque la réponse de stress permet de protéger l'organisme elle est dite allostasique. En d'autres mots, l'allostase est l'activité de stress qui maintient le fonctionnement homéostatique de l'organisme¹. Toutefois, à l'inverse, si l'activité homéostatique ne peut être maintenue on se trouve en allostate. Cet état est caractérisé par le déséquilibre des systèmes vitaux comme dans le cas de l'hypertension. L'allostate peut être maintenu, mais cet équilibre est chancelant et l'exposition à une source de stress supplémentaire peut faire vaciller l'organisme en état de surcharge homéostatique. Cet état réfère davantage à la définition du stress selon le sens commun, c'est-à-dire à un état de tension physiologique et psychologique soutenu qui prédispose au développement de plusieurs problèmes importants (ex. la réduction de la masse osseuse et l'accélération globale du vieillissement).

Le concept de stress doit donc être perçu comme une réponse habituellement adaptative permettant d'affronter divers objets menaçants (stresseurs), mais dont l'action prolongée ou inappropriée peut conduire au développement de différents troubles de santé.

¹ L'homéostasie est définie par le fonctionnement d'un ensemble de systèmes essentiels à la survie d'un organisme tel que la température, le pH, l'apport en oxygène et glucose (Korte *et al.*, 2005).

2. Mécanismes physiologiques de la réponse de stress

2.1 L'activation de la réponse de stress

La mise en place de la réponse de stress repose sur l'interaction de plusieurs composantes physiologiques résultant en l'activation conjointe d'une voie neuroendocrinienne, l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HHS), et du système nerveux autonome.

La réponse de stress s'amorce par la stimulation des neurones sécréteurs de corticolibérine (CRF) et de l'arginine vasopressine (AVP) du noyau paraventriculaire (NPV) de l'hypothalamus de même que l'excitation de la plupart des neurones noradrénergique du locus coeruleus (LC) (Charmandari *et al.*, 2005). Principaux coordonnateurs de la réponse de stress, ces groupes neuronaux, fortement connectés, permettent une stimulation ou une inhibition rapide de la réponse de stress (Calogero *et al.*, 1988; Kiss et Aguilera, 1992).

L'activation du système autonome se fait très rapidement afin de maximiser l'activité de certains systèmes tels que le système respiratoire, cardiaque et endocrinien ainsi que la suspension de l'activité des systèmes digestif et rénal (Marieb, 1999; Charmandari *et al.*, 2005). De plus, la noradrénaline favorise une meilleure coagulation du sang minimisant les hémorragies en cas de blessures graves. La médulla surrénale augmente également l'activité du système autonome en relâchant de l'adrénaline et de la noradrénaline (Chamandari *et al.*, 2005).

Le CRF est un petit peptide dont le rôle principal est d'activer l'axe HHS en stimulant la sécrétion d'un messager hormonal, la corticotrophine (ACTH). Transporté vers l'éminence médiane et libéré dans le système porte hypothalamo -hypophysaire, le CRF migre via la circulation sanguine jusqu'à la glande pituitaire antérieure où il se lie

au récepteur à CRF de type 1, situé, entre autres, sur les cellules productrices d'ACTH² (Van Praag *et al.*, 2004). Le CRF fait partie d'une famille de peptides qui comprend également les urocortines I,II et III (Hauger *et al.*, 2006). Libérés simultanément avec le CRF, les urocortines II et III contribueraient à réduire l'activation de l'HHS via le récepteur CRF de type II dont l'ARNm est notamment exprimé dans l'hypothalamus (Bale et Vale, 2004).

Une fois libérée dans la circulation sanguine, l'ACTH a pour cible principale le cortex des glandes surrénales d'où origine la sécrétion de corticoïdes. La sécrétion de corticoïdes est l'effecteur final de l'HHS. Nommé cortisol chez l'humain, cette hormone pléiotropique agit principalement par le biais de récepteurs intracellulaires présents dans l'ensemble de l'organisme (Charmandari *et al.*, 2004). Elle circule dans l'organisme sous forme inactive liée à une protéine de transport, la globuline de liaison des corticostéroïdes (CBG) (Charmandari *et al.*, 2004).

En période de stress, le cortisol est libéré vers différents sites actifs³. Parallèlement, on assiste à une réduction de l'expression des CBGs favorisant une augmentation de la concentration de corticoïdes actifs (Fleshner *et al.*, 1995 ; Spencer *et al.*, 1996). Activé, le cortisol pénètre dans la cellule et se lie à un récepteur intracellulaire. Il existe deux récepteurs au corticoïde soit le type 1 minéralocorticoïde (MR) et le type 2 glucocorticoïde (GR) (De Kloet *et al.*, 2005). Une fois le complexe ligand-récepteur formé, il est transféré dans le noyau cellulaire et se lie à diverses portions de l'ADN, appelées éléments de réponse, afin d'influencer la transcription

² La libération d'AVP du PVN stimule également la libération d'ACTH, mais beaucoup moins efficacement que la CRF. Toutefois elle potentialise l'effet du CRF sur la sécrétion d'ACTH (Van Praag *et al.*, 2004).

³ La libération du cortisol se ferait par l'action protéolytique des neutrophiles (élastase) (Hammond *et al.*, 1990), mais également via l'action d'un récepteur membranaire à la CBG (Hryb *et al.*, 1986 ; Singer *et al.*, 1988).

génique (De Kloet *et al.*, 2005)⁴. Les corticoïdes peuvent également modifier l'expression de certains gènes indirectement en jouant sur l'expression de gènes codant pour des facteurs de transcription (Bamberger *et al.*, 1996). Il semblerait que l'action des corticoïdes puisse être également non génomique se liant directement à d'autres protéines pour en changer la conformation ou s'agrégant avec d'autres protéines (De Kloet *et al.*, 2005).⁵ À court terme, la libération de corticoïdes augmente l'activité métabolique qui se traduit par une hausse de la gluconéogenèse et de la lipolyse ainsi qu'une inhibition de la croissance, du système reproducteur et de certaines composantes du système immunitaire (Marieb, 1999 ; Charmandari *et al.*, 2004).

En l'absence de stress, l'axe HHS est activé par des modulateurs internes de la rythmicité biologique (du cycle circadien) permettant à l'organisme de rester actif et vigilant en période d'éveil et de récupérer durant la période de sommeil (Keller-Wood et Dallman, 1984). C'est pourquoi, l'activité de l'axe HHS peut être perturbée par des variations de luminosité, aussi bien que par un stress. Lors de stress aigu, l'amplitude de la libération circadienne de CRH et d'AVP et de corticoïdes augmente (Chamandari *et al.*, 2005).

L'activation de l'axe HHS est temporellement décalée par rapport à la stimulation du système autonome. Ce délai d'action permet de maximiser la réponse comportementale à divers stressors puisque l'activation du système autonome augmente le niveau d'activité de l'organisme lui permettant de réagir rapidement. Toutefois, si le

⁴ Afin d'être transféré au noyau et de se lier aux éléments de réponse, le complexe (ligand-récepteur) doit être en dimère. Les GR et MR agissent sur des cibles différentes selon qu'il soit homodimère, hétérodimère ou monodimère (De Kloet *et al.*, 2005). En monodimère, le GR peut se lier à d'autres facteurs de transcription afin de limiter la synthèse de peptides tel que le CRF et l'AVP (De Bosscher *et al.*, 2003).

⁵ Il est également possible que les corticoïdes agiraient par le biais d'un récepteur membranaire qui a déjà été observé dans des organismes non mammifères et qui permettrait une action très rapide des corticostéroïdes (Di *et al.*, 2003).

stresseur se prolonge, les corticoïdes augmentent l'activité métabolique de l'organisme afin de maintenir un apport énergétique et par conséquent soutenir l'effort physique requis (Marieb, 1999). Ainsi, le maintien d'un apport soutenu en oxygène et nutriments aux muscles squelettiques et au système nerveux central se traduit par l'augmentation de l'attention et des capacités cognitives, mnésiques et musculaires (Charmandari *et al.*, 2005).

2.2 Mécanismes de rétro-inhibition de la réponse de stress

Étant donné l'étendue et la puissance d'action de la réponse de stress, il est impérieux de ne pas prolonger son activation inutilement. C'est pourquoi, il existe divers mécanismes de rétro-inhibitions qui limitent l'activité de l'axe. Le CRF et l'activité noradrénergique du LC entraînent conjointement la libération de beta-endorphines et d'autres peptides qui vont inhiber l'activité de l'axe HHS et augmenter l'analgésie (Charmandari *et al.*, 2005). L'ACTH auto-inhibe sa libération, tandis que les corticoïdes inhibent à la fois la sécrétion d'ACTH et de CRF (Van Praag *et al.*, 2004).

L'inhibition de la réponse de stress par les corticoïdes ne se limite pas aux principaux effecteurs de l'axe HHS, mais cible également, via ces deux récepteurs intracellulaires, plusieurs structures cérébrales. Ainsi, les MRs, qui présentent une grande affinité pour les corticoïdes, sont majoritairement distribués dans le système limbique. A l'opposé, les GRs qui possèdent une distribution cérébrale davantage uniforme, mais présentent beaucoup moins d'affinité pour les corticoïdes (5 à 10 fois moindre que les MRs) (De Kloet *et al.*, 2005). Tel que mentionné, ces récepteurs modifient l'expression d'une foule de gènes telles que des neuropeptides, des facteurs de croissance et des facteurs d'adhésion cellulaire (Sabban et Kvetnansky, 2001 ; Schaaf *et al.*, 1997 ; Hansson *et al.*, 2000 ; Sandi, 2004). Dans l'hippocampe, région cérébrale fortement

impliquée dans la régulation de l'HHS, ces deux récepteurs modifient l'expression d'environ 70 à 100 gènes et dans près de 50 % des cas l'action génomique de ces récepteurs résulte en une augmentation des transcrits (Datson *et al.*, 2001).

L'action de ces deux récepteurs semble être complémentaire. Ainsi, les MRs agiraient davantage dans la régulation basale de l'axe lors des variations circadiennes, tandis que les GRs, activés par de forte concentration de corticoïdes, réguleraient davantage l'activité de l'axe en réponse de stress (De Kloet *et al.*, 1998, 2005). En effet, l'administration d'un antagoniste MR provoque une augmentation de l'activité de l'axe HHS à l'état basal, alors que le blocage des GRs l'augmente uniquement en réponse de stress ou lors de son activation maximale (Spencer *et al.*, 1998).

L'action première de la réponse de stress est donc de disposer l'organisme à réagir rapidement à toute forme de menace, mobilisant un maximum de ressources, tout en prévenant son épuisement par différents mécanismes de rétrocontrôles. Toutefois, la réponse de stress est également déterminante dans le développement de stratégies de *coping* qui permettent à l'organisme de s'adapter à certaines situations et d'en réduire le danger et par conséquent de réduire l'activation de l'axe HHS (De Kloet *et al.*, 2005). En effet, chez l'humain, comme chez l'animal, l'exposition répétée à un même stresser entraîne une réduction de l'amplitude de la réponse de stress allant jusqu'à l'absence de réponse. Le développement de ce processus d'habituation est, entre autres, relié à l'action cérébrale des corticoïdes (De Kloet *et al.*, 2005).

Agissant en tant que modulateurs structuraux, l'activité complémentaire des MRs et des GRs contribue fortement au processus d'adaptation. Les MRs contrôlent l'expression de plusieurs gènes qui codent pour des protéines importantes dans l'établissement de réseaux neuronaux impliqués dans l'interprétation de l'environnement

et la sélection du comportement adéquat à adopter en période de stress (De Kloet *et al*.,2005). Chez l'animal, l'administration d'antagoniste des MRs augmente le temps de recherche dans un labyrinthe auquel il a déjà été exposé (Oitzl et De Kloet, 1992). Les GRs favorisent la consolidation de l'information nouvelle afin d'ultérieurement agir plus efficacement à divers stressseurs. Effectivement, le blocage des GRs empêche la mémorisation de nouvelles informations (Oitzl et De Kloet, 1992). L'action cérébrale des corticoïdes à travers ces deux récepteurs constitue un système efficace qui permet de produire une réponse adaptée, favorisant une activation rapide des mécanismes de stress en présence de stimulus non familier, tout en permettant une récupération rapide. Contribuant à la mémorisation d'informations en relation à cet événement, l'action des glucocorticoïdes à travers les GRs permet d'agir plus efficacement lorsque ce stressseur ce présentera à nouveau.

La physiologie de la réponse de stress comprend donc à la fois l'activation de l'axe HHS et du système de neurotransmission noradrénergique. L'action synchronisée de ces deux systèmes permet à l'organisme d'agir rapidement et efficacement en période de stress. Il existe plusieurs mécanismes de régulation de la réponse de stress dont un prédominant qui implique l'action des corticoïdes via deux récepteurs intracellulaires qui modulent l'activité de certaines structures cérébrales afin de réduire la réponse et d'adapter le plus efficacement possible l'organisme à son environnement.

3. Systèmes neuroanatomiques régulateurs de la réponse de stress

La réponse de stress est initiée par un vaste réseau impliquant plusieurs régions cérébrales qui reçoivent des informations du système nerveux central et périphérique ainsi que de l'environnement. Certaines régions dont l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal médian semblent particulièrement déterminantes dans la régulation de

la réponse de stress (Davidson *et al.*, 2000). Ces régions sont fortement reliées entre elles et avec des structures telles que le noyau du lit de la strie terminale qui est considéré comme le centre d'intégration de l'information cérébrale de la réponse de stress (Herman *et al.*, 2005). De plus, présentant de forte concentration de MRs et GRs l'activité de l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal médian semble également largement modulée par la réponse de stress (De Kloet *et al.*, 2005).

3.1 Hippocampe

L'hippocampe est fait de groupes neuronaux étroitement reliés nommés gyrus dentelé et CA1, CA2 et CA3⁶ (Bear *et al.*, 1999). Toutes les informations décodées dans les différentes aires sensorielles corticales y convergent. L'hippocampe est une structure importante dans différents processus mnésiques qui peut être grossièrement considéré comme un centre de tri qui compare des sensations nouvelles avec celles déjà expérimentées (Bear *et al.*, 1999). En période de stress, l'hippocampe est reconnu pour réguler l'activité de l'axe HHS et pour favoriser la mémorisation d'informations émotives et contextuelles reliés à l'événement stressant (Herman *et al.*, 2005).

L'hippocampe présente une densité importante de GRs et de MRs (Reul et De Kloet 1985, 1986; Herman 1993). Plusieurs études ont relié l'activité de l'hippocampe à l'inhibition de l'axe HHS (Sapolsky, 1986 ; Jacobson et Sapolsky, 1993 ; Herman and Cullinan, 1997). En effet, la stimulation de l'hippocampe entraîne une réduction de la sécrétion de glucocorticoïdes chez le rat (Rubin *et al.*, 1966 ; Dunn and Orr, 1984). L'ablation ou l'endommagement partiel ou de cette région accroît la libération d'ACTH, de glucocorticoïdes et l'expression de l'ARNm du CRF (Knigge and Hays, 1963,

⁶ CA pour Corne d'Ammon, à cause de sa ressemblance avec la forme des cornes de bélier du dieu Ammon de la mythologie égyptienne (Bear *et al.*, 1999).

Sapolsky *et al.*, 1984; Herman *et al.*, 1989,1992 et 1995). Toutefois, cette inhibition serait spécifique à certain type de stresser tel que la restriction physique, ou l'exposition à la nouveauté, contrairement à l'exposition à l'éther et l'induction de l'hypoxie (Herman *et al.*, 1995,1998 ; Mueller *et al.*, 2004). Des lésions plus circonscrites de l'hippocampe ont permis de démontrer que l'inhibition de l'axe HHS reposait essentiellement sur l'activité de la région ventrale du CA1 (Herman *et al.*, 1995). Inversement, la région dorsale semblerait activer l'axe (Feldman et Weidenfeld, 1993 ; 2001). L'hippocampe serait également impliqué dans l'interprétation de l'intensité du stresser. Il a été démontré qu'en l'absence de cette région, les animaux présentent une augmentation excessive de corticoïdes lorsque exposé à un stresser doux tel que le test d'exploration de la boîte à aires ouvertes, *l'open field* ,(OF) et le déplacement de cage (Kant *et al.*, 1984, Herman *et al.*, 1998)⁷.

Centre de la mémoire, l'hippocampe est directement impliqué dans les processus d'adaptation induit par l'action génomique des GRs (De Kloet *et al.*, 2005). Il a été démontré que l'administration de corticoïdes ou l'activation de l'axe HHS influence la plasticité synaptique de l'hippocampe (McEwen, 2001 ; Alfarez *et al.*, 2006). À un niveau basal, les corticoïdes semblent favoriser la potentialisation à long terme (PLT), mécanisme neuronal impliqué dans la formation de la mémoire (Diamond *et al.*, 1992), toutefois, en période de stress, ce mécanisme semble altéré (Xu *et al.*, 1998 ; McEwen, 2001). Suivant l'exposition à un stresser, l'activation ponctuelle de l'axe HHS entraînerait des modifications importantes de l'arborisation dendritique de l'hippocampe

⁷Le test de boîte à aires ouvertes (OF) est une boîte au fond clair et quadrillé dans lequel on dépose l'animal. Basé sur la peur naturelle des rongeurs pour les espaces ouverts, illuminés et nouveaux, les animaux sont exposés à cet environnement anxigène pendant 5 à 10 minutes où l'on mesure l'activité locomotrice et le comportement d'exploration. Normalement, plus l'animal est anxieux plus son activité locomotrice et exploratrice est réduite (Whishaw et Kolb, 2005).

(Kole *et al.*, 2004). Agissant sur des gènes pro et anti apoptotiques, les corticoïdes suspendraient la neurogénèse dans le gyrus dentelé et favoriseraient l'apoptose (Almeida *et al.*, 2000 ; Nair *et al.*, 2004).

3.2 Amygdale

Structure importante du système limbique, l'amygdale constitue en quelque sorte le système d'alarme de l'organisme. L'amygdale est une structure cérébrale essentielle au décodage des émotions, et en particulier des stimuli menaçants pour l'organisme. Par conséquent, plusieurs inputs sensoriels convergent vers l'amygdale pour l'informer des dangers potentiels de son environnement (Henke *et al.*, 1991). En forme d'amande, l'amygdale est une structure complexe comportant environ une douzaine de sous régions (Bear *et al.*, 1999). Bien que ces noyaux ne soient pas tous impliqués dans les réactions de peur, bon nombre entretiennent des connexions qui y participent activement. Recevant l'information sensorielle, le noyau latéral est considéré comme la porte d'entrée de l'amygdale. Le noyau central, à l'inverse, semble être la sortie qui commande les réactions viscérales associées à la peur. Les neurones du noyau latéral envoient également des projections vers plusieurs autres noyaux intermédiaires dont le noyau basal et médian. Ceux-ci relaient par la suite l'information au noyau central (Bear *et al.*, 1999).

L'activité de l'amygdale est également fortement régulée par d'autres structures impliquées dans la gestion des émotions tel que l'hippocampe et le CPFm (Herman *et al.*, 2005). L'amygdale est connue pour déclencher la réponse de stress endocrinienne, autonome et comportementale (Van Praag *et al.*, 2004). L'activité de l'axe HHS est donc favorisée par l'amygdale via les noyaux central et médian (Herman *et al.*, 2005).

Conséquemment, une lésion de l'amygdale ou des noyaux central et médian réduit la sécrétion d'ACTH et de corticoïdes lors de stress (Beaulieu, 1986 ; Feldman *et al.*, 1994; Dayas et Day, 2002). Inversement, la stimulation de ces régions augmente la réponse de stress (Dunn et Whitener, 1986). De plus, le noyau central de l'amygdale activerait la synthèse et la libération de CRF en période de stress (Herman *et al.*, 2003). L'absence des noyaux central et médial entraîne une réduction de l'activité métabolique du NPV lors de stress (Herman *et al.*, 2003). Tout comme l'hippocampe, certaines régions de l'amygdale semblent n'être activées qu'en présence de stress spécifique (Dayas et Day, 2002). Ainsi, il semblerait que le noyau médian soit davantage activé lors du test de la nage forcée⁸, d'une brève restriction physique ou lors de l'exposition à un prédateur (Cullinan *et al.*, 1995 ; Dayas *et al.*, 1999; Figueiredo *et al.*, 2003). Tandis que le noyau central semble être davantage activé lors de stress immunitaire (Xu *et al.*, 1999). D'autres études ont néanmoins démontré l'implication du noyau central dans différentes manifestations physiologiques induites par des stressors psychologiques (Beaulieu *et al.*, 1986 ; Henke *et al.*, 1991).

Bien que l'amygdale exprime à la fois des MRs et GRs, le nombre de GRs est cependant beaucoup plus important (Herman *et al.*, 2005). Contrairement à l'hippocampe, la régulation de l'axe par l'amygdale est principalement rétro-activatrice. L'administration de corticoïdes dans le noyau central de l'amygdale conduit à une

⁸ Le test de la nage forcée est basé sur le principe d'impuissance acquise. Le rongeur est déposé une première fois dans un cylindre rempli d'eau dans lequel il n'a pas pied et ne peut s'échapper, 24 hrs, plus tard on réexpose l'animal à ce même. On mesure le temps que l'animal passe à nager, flotter et grimper sur les parois lors des deux séances. Une réduction significative de la nage et du comportement de fuite reflète un profil dépressif chez l'animal qui est normalement renversé par l'administration d'antidépresseur. Il est important de souligner que malgré la grande utilisation de ce test, il est fortement critiqué notamment concernant l'interprétation de la réduction de la nage et du comportement de fuite (Whishaw et Kolb, 2005).

augmentation de l'activité autonome (Akana *et al.*, 2001). Contrairement à l'hippocampe, l'exposition chronique aux corticoïdes augmenterait l'arborisation dendritique dans l'ensemble de l'amygdale (Vyas *et al.*, 2002). De plus, il semblerait que les modifications induites par l'activation de la réponse de stress sur l'amygdale sont essentielles à l'induction de la plasticité hippocampique (Kim *et al.*, 2001, 2005).

Présentant une grande densité de neurones sécréteurs de CRF et d'ARNm du récepteur de CRF de type 1, l'activité de l'amygdale semblerait également modulée par ce peptide (Bale et Vale, 2004). L'administration de corticoïdes entraîne une augmentation de l'ARNm du CRF dans le noyau central et diminue le comportement d'exploration dans le labyrinthe en croix surélevé (EPM)⁹ (Lee *et al.*, 1994, Shepard *et al.*, 2000). Cette effet est aboli par l'administration d'un antagoniste du récepteur CRF-1 dans l'amygdale (Myers *et al.*, 2005).

3.3 Cortex préfrontal médian

Chez l'humain, le cortex préfrontal (CPF) est reconnu pour participer à nos réponses émotives, mais aussi pour avoir de nombreuses connexions avec d'autres régions du cerveau responsables du contrôle de la dopamine, de la noradrénaline et de la sérotonine, trois neurotransmetteurs sont importants pour la régulation de l'humeur (Van Praag *et al.*, 2004). Plus spécifiquement, il semble que le cortex préfrontal latéral nous aide à choisir un comportement en nous permettant d'évaluer mentalement différentes alternatives; que le cortex orbitofrontal nous permettent de réprimer certaines émotions ou gratifications immédiates en vue d'obtenir une gratification différée plus importante;

⁹ Le labyrinthe en croix surélevé (EPM) est un labyrinthe à quatre bras, en forme de croix, à 50cm du sol et dont deux bras ont des murs et deux sont ouverts. La hauteur et les espaces ouverts sont des stimuli anxiogènes pour l'animal et par conséquent plus l'animal est anxieux moins il sera porté à explorer les bras ouverts du labyrinthe (Whishaw, et Kolb, 2005). L'administration d'anxiolytiques est reconnue pour accroître l'exploration des bras ouverts (Pellow *et al.*, 1985).

et que le cortex ventromédian est un des lieux où les émotions et le sens des choses seraient expérimentés (Bear *et al.*, 1999). Ainsi le CPF permet de réguler certaines réponses émotives telles que la peur, générée par l'amygdale. De plus, le CPF serait une structure cruciale dans le choix du bon comportement favorisant la bonne stratégie par le biais d'opérations cognitives complexes (Bear *et al.*, 1999).

Chez les rats, il a été démontré que l'exposition à une grande variété de stressseurs augmentait l'activité neuronale et génomique du cortex préfrontal médian CPFm (Moghaddam, 1993 ; Handa *et al.*, 1993, Beck et Fibiger, 1995 ; Morrow *et al.*, 2000). Interagissant de près avec le cortex orbitofrontal, la portion ventral du CPFm ou infralimbique (IL) est considéré comme un centre d'intégration viscéro- moteur (Price, 1999). Lorsqu'on détruit les projections du cortex IL, on observe une réduction importante des ulcères gastriques, conséquence de l'activation du système autonome en période de stress (Sullivan et Gratton, 1999). À l'inverse, la destruction de la portion dorsale du CPFm, aussi nommée prélimbique (PL) entraîne une réponse de stress exagérée (Diorio *et al.*, 1993). Le cortex IL projette massivement vers plusieurs régions impliquées dans l'activation de la réponse de stress, alors que le cortex PL envoie des projections à des régions qui contribuent davantage à l'inhibition de la réponse de stress (Hurley et al 1991). Le CPF présenterait donc une division fonctionnelle dorso/ ventrale où le cortex IL favorise la réponse de stress, activant les systèmes sympathiques, tandis que le cortex PL, relié à une activation parasympathique, modérerait la réponse de stress (Sullivan, 2004 ; Radley *et al.*, 2006).

Comme l'hippocampe, le CPFm exprime un nombre important d'ARNm de MRs et plus particulièrement de GRs (Morimoto *et al.*, 1996) et l'infusion chronique de corticoïdes, dans le CPFm diminue l'activité de l'axe HHS en réponse à un stress de

restriction physique (Diorio *et al.*, 1993 ; Akana *et al.*, 2001). L'administration chronique de corticostéroïdes comme l'exposition répétée à un stresser doux, entraîne une réorganisation dentritique importante du CPFm (Wellman, 2001 ; Brown *et al.*, 2005 ; Radley et Morrison, 2005).

D'autres régions cérébrales sont indirectement impliquées dans la régulation du stress. Ainsi, le cortex insulaire ou viscéro-sensoriel ou insula est considéré comme le centre d'intégration de l'information sensorielle autonome, cette région est étroitement liée au cortex préfrontal dans la régulation autonome de la réponse de stress (Neafsey, 1990). Finalement, le noyau accumbens (NAc) est une région du système limbique déterminante dans le circuit de la récompense. Le stress semble être un facteur important dans l'activité de cette région et dans le développement de certains comportements de dépendance (Marinelli et Piazza, 2002 ; Pecina *et al.*, 2006). De plus, cette région est fortement liée aux régions qui régulent la réponse de stress telles que l'amygdale, le CPFm et l'hippocampe (Jackson et Moghaddam, 2001).

3.4 Latéralisation hémisphérique de la régulation du stress et des émotions

Plusieurs études chez les humains ont permis de démontrer la prédominance de l'hémisphère droit dans l'expression et la perception d'émotions particulièrement négative (Wittling et Roschmann, 1993 ; Davidson 1998 ; Simpson et al 2001). Certains patients présentant une lésion spécifique de l'hémisphère gauche ont une incidence importante de dépression, tandis que des dommages similaires de l'hémisphère droit résultent régulièrement en l'absence de réponse émotionnelle ou l'expression inappropriée de joie (Robinson *et al.*, 1984). Plusieurs manifestations physiologiques telles que l'activité cardiovasculaire et la sécrétion de cortisol sont également associées à l'activité de

l'hémisphère droit, plus particulièrement au niveau du CPF infralimbique (IL) (Tranel *et al.*, 2002).

Chez les rats, la lésion spécifique du CPFm droit entraîne une augmentation significative du comportement d'exploration comparativement aux individus lésés bilatéralement et non lésés (Sullivan et Gratton, 2002). De plus, cette même lésion entraîne une réduction importante de la formation d'ulcères gastriques induis par l'exposition à un stresser (Sullivan et Gratton 1999). L'amygdale présente également une activation plus importante dans l'hémisphère droit lors d'une augmentation des comportements défensifs (Adamec, 1999, 2000). L'activité de l'amygdale droite est également plus importante chez les rats présentant davantage de comportement anxieux dans l'EPM et chez les animaux soumis à un conditionnement aversif (Andersen et Teicher, 1999; Andersen *et al.*, 2002; Adamec, 1999, 2000; Coleman-Mesches et McGaugh, 1995).

Les principales régions cérébrales impliquées dans la régulation de la réponse de stress permettent donc une modification rapide de l'activité de l'HHS par un ensemble de projections dirigé entre autre vers le noyau du lit de la strie terminale (Herman *et al.*, 2005). L'efficacité de ce système de régulation réside également dans l'action spécifique des corticoïdes qui contribuent au développement d'une réponse de stress adaptée modifiant l'organisation neuronale de ces structures. L'hippocampe, l'amygdale et le CPFm(secondairement, le NAc et l'insula) sont également fortement reliées entre elles par des projections directes, mais également par le biais de neuromodulateurs qui complexifient l'interaction de ces structures entres elles et avec l'HHS.

4. Systèmes neurochimiques régulateurs de la réponse de stress

4.1 Sérotonine

La sérotonine est impliquée dans plusieurs fonctions physiologiques et psychologiques comme le sommeil, l'agressivité, les comportements alimentaires et sexuels, l'humeur et l'anxiété (Bear *et al.*, 1999). L'apport en sérotonine provient essentiellement de deux noyaux du tronc cérébral, le raphé dorsal (NRD) et le raphé médian (NRM) (Bear *et al.*, 1999). Les fibres des neurones sérotoninergiques en provenance de ces deux noyaux se terminent dans de nombreuses régions cérébrales, notamment les régions impliquées dans la régulation de la réponse de stress.

La sérotonine (5-HT pour 5-hydroxytryptamine) est synthétisée à partir d'un acide aminé, le tryptophane, et par l'action successive de deux enzymes, la tryptophane hydroxylase et la L-amino acide décarboxylase. La 5-HT est ensuite libérée par exocytose dans l'espace synaptique où elle se lie aux récepteurs post-synaptique et pré synaptiques. La grande majorité de la sérotonine sera également recyclée par le transporteur de sérotonine et maintenue dans une vésicule par l'intermédiaire d'un transporteur vésiculaire jusqu'à une relâche subséquente. La 5-HT est dégradée intracellulairement en 5-hydroxyindoleacetic (5-HIAA) par la monoamine oxidase A (MAOA) (Kandel *et al.*, 2000).

Présentement, nous connaissons une quinzaine de récepteurs sérotoninergiques regroupés dans les familles de récepteur 1 à 7 (Kandel *et al.*, 2000). Deux principaux types de récepteurs sont mis en oeuvre dans le fonctionnement du système sérotonergique : les récepteurs de type GPCR (récepteur couplé à des protéines G) qui modulent l'activité cellulaire via la production d'un second messager et un récepteur de type canal ionique (5-HT₃) qui dépolarise rapidement la cellule en permettant le passage

des cations (Kandel *et al.*, 2000). Ainsi, via les GPCR, la 5-HT entraîne des changements cellulaires complexes qui vont moduler l'activité globale du neurone faisant de la 5-HT un neuromodulateur (Kandel *et al.*, 2000). Ces récepteurs modifient l'activité neuronale tant en milieu synaptique qu'extra synaptique. Par exemple, lorsque exprimé en amont des synapses le 5HT1a est considéré comme un autorécepteur puisqu'il permet une régulation rétro inhibitrice de la neurotransmission sérotoninergiques (5-HTergique) (Kandel *et al.*, 2000). A la fois récepteur et canal ionique, l'activation du récepteur 5-HT3 entraîne une ouverture quasi instantanée. Dans ce cas, la sérotonine transmet directement un signal susceptible de déclencher la propagation d'un nouveau potentiel d'action (Kandel *et al.*, 2000).

Une grande variété de stresser entraîne l'activation du NRD et du NRM (Chaouloff, 2000). L'activité 5-HTergique semble directement reliée à l'activité de l'axe HHS. Le NRD et le NRM reçoivent plusieurs terminaisons de neurones sécrétrices de CRF (Hammack *et al.*, 2002; Van Praag *et al.*, 2004). Lors de stress, le CRF semble être impliqué dans l'activation de la tryptophane hydroxylase augmentant la synthèse de 5HT (Singh *et al.*, 1990 et 1992). Le NRD et le NRM présente également une densité importante de GRs (Chaouloff, 2000). L'administration aigu de corticoïdes *in vivo* entraîne une sensibilisation de l'autorécepteur 5-HT1a du RDN, alors que (Bellido *et al.*, 2004) alors que l'administration *in vitro* entraîne une désensibilisation de l'autorécepteur 5-HT1a (Laaris *et al.*, 1995, 1997). L'expérience de différent type de stresser ne semble pas produire le même effet sur l'activité 5-HTergique somato-dentritique (Chaouloff, 2000).

À l'inverse, l'activité 5-HTergique semble fortement impliquée dans la régulation de l'axe HHS. L'administration d'agoniste 5-HT1a et 5-HT2a-c dans le NPV

entraîne une augmentation de la libération de CRF et d'AVP (Calogero *et al.*, 1993). Pourtant, l'administration aiguë de CRF semble produire les mêmes effets sur l'axe HHS en présence ou absence de 5-HT (Temel *et al.*, 2003). Au-delà du NPV, du NRD et du NRM, l'interrelation entre la 5-HT et la réponse de stress se produit également au niveau des régions cérébrales impliquées dans le contrôle de la réponse de stress.

L'hippocampe ventral est innervé par des projections provenant des deux noyaux alors que la portion dorsale est uniquement innervée par les afférences du NRM (Chaouloff *et al.*, 2000). L'exposition à différents types de stressseurs doux (manipulation, exposition à un environnement nouveau, immobilisation) entraîne une libération de 5-HT dans l'ensemble de l'hippocampe (Rueters et Jacobs 1996, Chaouloff, 2000). Toutefois, certains stressseurs plus sévères ne produisent pas cet effet (Chaouloff, 2000).

La 5-HT semble favoriser l'expression des récepteurs à corticoïdes, l'absence de 5-HT entraîne une réduction de l'expression de l'ARNm des GRs et des MRs dans l'hippocampe (Seckl et Fink, 1991). L'action de la 5-HT dans l'hippocampe, via le récepteur 5-HT_{1a}, semble réduire la réponse de stress et l'effet comportemental de certains stressseurs (Graeff *et al.*, 1996 ; Netto et Guimaraes, 1996). À l'inverse, différents stressseurs aigus altèrent l'expression de ce récepteur dans l'hippocampe (Raghupathi et McGonigle, 1997; Van Praag *et al.*, 2004).

L'activité 5-HTergique de l'hippocampe semble également associée au développement de l'habituation de la réponse de stress. Ainsi, l'exposition à un stressseur répété, associée avec une réduction de l'activité l'axe HHS, entraîne l'augmentation du ratio 5-HIAA/5-HT (*turnover ratio*) de la 5-HT dans l'hippocampe comparativement à un stressseur aigu (Storey *et al.*, 2006). Inversement, l'absence d'habituation de l'axe

HHS est associée avec une réduction de l'activité 5-HTergique dans l'hippocampe (Clement *et al.*, 1998; Hajos-Korcsok *et al.*, 2003).

Relié aux noyaux 5-HTergiques par plusieurs projections, le CPFm est une structure déterminante dans la régulation de l'activité 5-HTergique de l'ensemble du cerveau (Puig *et al.*, 2005). Ainsi, il a été démontré que se sont des projections GABAergique¹⁰ du cortex IL sur les noyaux du raphé qui inhibent la libération de 5-HT dans la CPF (Hajos *et al.*, 1998, Varga *et al.*, 2001). En période de stress, on assiste à la libération de sérotonine dans le cortex IL, toutefois, l'activité 5-HTergique dans cette région semble conditionnelle à l'aspect incontrôlable du stress (Rueter et Jacobs 1996 ; Nakahara et Nakamura, 1999 ; Bland *et al.*, 2003; Amat *et al.*, 2005 ; Beekman *et al.*, 2005). L'activité 5-HTergique du cortex PL serait particulièrement accrue par des stressseurs légers, tel que l'exposition à la nouveauté (Noguchi *et al.*, 2001). Récemment, il a été démontré qu'en période de stress, l'action de la 5-HT dans le CPFm, via le récepteur 5-HT_{2a}, favoriserait la libération de dopamine¹¹ (DA) dans cette même région, neurotransmetteur également impliqué dans la réponse de stress (Pehek *et al.*, 2006).

L'amygdale reçoit des projections du NRD et en envoie au NRM (Graeff, 1993 ; Jabobs et Azmitia, 1992). Il a été proposé que l'activité 5-HTergique dans l'amygdale aurait un rôle crucial dans l'augmentation de la peur et l'anxiété (Graeff, 1993 ; Spiga *et al.*, 2006). En effet, le niveau d'anxiété, mesuré dans le labyrinthe en croix surélevé (EPM), est plus important chez les animaux qui présentent davantage de 5-HT au niveau de l'amygdale droite (Andersen et Teicher, 1999). L'infusion d'urocortine 1 dans le noyau basolatéral de l'amygdale entraîne une augmentation du comportement anxieux et

¹⁰ Le GABA ou l'acide gamma-aminobutyrique est un neurotransmetteur important dont l'activité est principalement inhibitrice (Bear *et al.*, 1999).

¹¹ La dopamine est un neurotransmetteur dont le rôle dans la régulation de la réponse de stress sera exposé ultérieurement.

augmente l'activité métabolique des noyaux dorsal et médian du raphé (Spiga *et al.*, 2006).

L'effet de l'amygdale sur la réponse de stress semble également fortement relié à l'activité 5-HTergique. Ainsi, l'absence de 5-HT dans l'amygdale est également associée à l'inhibition de l'activation de l'axe HHS suivant l'exposition à un stresser (Feldman *et al.*, 1998). L'administration de l'agoniste 5-HT_{1a} dans le noyau central entraîne une augmentation de la sécrétion d'ACTH et de corticoïdes (Feldman *et al.* 2000). De plus, seule la libération de 5HT dans l'amygdale est observée suite à des stressers très doux tels que l'injection de saline et la manipulation par l'expérimentateur, contrairement à l'hippocampe et au CPFm (Adell *et al.*, 1997, Rueters et Jacobs 1996).

4.2 Dopamine et noradrénaline

Contrairement au système 5-HTergique qui envoie des terminaisons nerveuses dans l'ensemble du cerveau, l'activité de la dopamine est beaucoup plus circonscrite. Représentant environ 0,3 % des cellules du cerveau, les neurones dopaminergiques jouent néanmoins un rôle essentiel dans plusieurs de nos comportements (Kandel *et al.*, 2000). Le système dopaminergique est divisé en trois voies principales. L'ensemble de la dopamine qui module l'activité cérébrale provient de l'aire tegmentaire ventrale (ATV) et de la substance noire (Bear *et al.*, 1999). La voie nigro-striée regroupe les neurones dopaminergiques de la substance noire qui envoie des projections au striatum dorsal constitué des noyaux caudé et putamen. Cette voie est principalement impliquée dans le contrôle moteur (Bear *et al.*, 1999). Composante déterminante du système de récompense, la voie méso-limbique origine de l'ATV et innerve plusieurs structures du système limbique dont l'amygdale, l'hippocampe et le noyau accumbens (striatum ventral). L'ATV rejoint également le cortex frontal et les structures avoisinantes

constituant la voie méso-corticale (Bear *et al.*, 1999). Cette voie est importante pour la mémoire et la motivation de nos comportements.

Principal effecteur de ce système, la dopamine (DA) est synthétisée à partir d'un acide aminé, la tyrosine, et par l'action successive de deux enzymes, la tyrosine hydroxylase et l'acide aromatique L-amino décarboxylase (Kandel *et al.*, 2000). Lorsque stimulé, le neurone libère la DA par exocytose dans l'espace synaptique qui se lie à des récepteurs terminaux et somato-dentritiques. La grande majorité de la DA est également recyclée par le transporteur de DA (DAT) et maintenue en vésicule jusqu'à une stimulation subséquente. La dégradation de la DA est effectuée intra cellulièrement par la MAO A et B entraînant la production du métabolite 3,4-dihyphenylacetic acide (DOPAC) ou extra cellulièrement par l'action de la cathécol-o-méthyl transférase (COMT) qui génère du 3-méthoxy-tyramine (3-MT) (Kandel *et al.*, 2000). L'action de la COMT sur le DOPAC entraîne la production d'acide homovanillic (HVA).

Il existe cinq types de récepteurs dopaminergiques identifiés D1 à D5. Les récepteurs sont regroupés en deux sous-types : D₁ et D₂, initialement établit par les techniques classiques de pharmacologie (Kandel *et al.*, 2000). Des études subséquentes ont démontrées que la famille D₁ contenait aussi les récepteurs D₅, tandis que la famille D₂ contenait les récepteurs D₃ et D₄ (Kandel *et al.*, 2000). L'ensemble de ces récepteurs sont couplés à des protéines G, cependant alors que le sous-type D₁ est reconnu pour stimuler l'adénylate cyclase et activer la production AMP cyclique¹², le sous-type D₂ inhibe cette même enzyme (Kandel *et al.*, 2000). Favorisant une hyperpolarisation du

¹² L'AMP cyclique est un messager cellulaire qui entraîne l'activation de différentes voies de signalisation cellulaires.

neurone, le récepteur D₂ somato-dentritique est un autorécepteur puisqu'il permet un rétrocontrôle négatif de la neurotransmission dopaminergiques (Kandel *et al.*, 2000).

Les glucocorticoïdes influencent directement la neurotransmission dopaminergique par le biais des GRs exprimés au niveau du ATV et de la substance noire (Van Praag *et al.*, 2004). L'action des glucocorticoïdes augmente la libération de dopamine mésolimbique (Marinelli et Piazza, 2002). Plus spécifiquement, l'administration de corticostérone active l'enzyme de synthèse de la dopamine, augmente le taux de décharge des neurones dopaminergiques et inhibe la dégradation de la dopamine (Meyer, 1985; Piazza *et al.*, 1996) alors que l'administration de dexaméthasone, un agonist des GRs, accroît l'activité dopaminergique augmentant à la fois les niveaux de DA et de son principal métabolite HVA (Wolkowitz *et al.*, 1985).

Les voies mésolimbique et mésocorticale innervent l'ensemble des régions cérébrales influençant la régulation de la réponse de stress. Dans la voie mésocorticale, les projections dopaminergiques les plus denses se trouvent dans les régions corticales IL et PL. Une augmentation de la libération de DA dans le CPFm a été largement démontrée et ce face à une grande variété de stressseurs (Sullivan, 2004). Comme pour la sérotonine, la libération de DA n'est induite dans le cortex IL que lorsque le stressseur est incontrôlable (Bland *et al.*, 2003).

Bien qu'on observe une relation entre l'activité de l'HHS et la libération de DA dans CPFm, le rôle de la DA dans le CPFm demeure fortement débattu. Certains considèrent que la libération de DA lors de stress accentue la réponse de stress étant donné que lorsqu'on réduit l'activité de l'axe HHS la libération de dopamine dans le

CPFm est également réduite (Dazzi *et al.*, 2001 ; Boersen *et al.*, 1995, 2000). Toutefois, lorsqu'on élimine l'apport en DA dans cette région on assiste à une augmentation du comportement anxieux dans le test EPM et l'interaction sociale (Espejo, 1999 ; Fernandez et Espejo 2003 ; Morrow *et al.*, 1999). De plus, l'absence de DA dans le CPFm entraîne une augmentation des ulcères gastriques induis par l'exposition à un stress prolongé (Sullivan et Szechtman ; 1995). Lors de stress aigu tel que la contention ou l'exposition à un prédateur, les individus qui présentent les plus forte concentrations d'hormones de stress ont également les plus fortes concentrations de DA dans l'IL (Sullivan et Gratton, 1998). Cependant, lorsqu'on bloque l'activité de la DA dans cette même région les concentrations d'ACTH et de corticostérone sont accrues (Sullivan et Dufresne, 2006). Il semble que la DA dans cette région contribuerait activement à réduire l'activité de l'axe HHS au lieu de la promouvoir. De fait, la sévérité d'un stressor semble être positivement reliée avec la libération de DA dans le CPFm (Sullivan, 2004).

L'impact de l'activité dopaminergique corticale sur la régulation de la réponse semble être latéralisé. Ainsi, plusieurs études ont permis de démontrer l'importance de l'hémisphère droit dans l'effet spécifique de la DA (Sullivan, 2004). À la lumière de plusieurs études, il a donc été proposé que l'ampleur de la libération de DA dans le CPFm témoigne de la sévérité d'un stressor et reflète la nécessité de contrôler son effet sur différentes réponses physiologiques dont l'activité de l'axe HHS (Sullivan, 2004).

La libération de dopamine dans le CPFm semble également très importante dans le développement de différents processus d'adaptation. En effet, l'absence de DA méso-préfrontal augmentait le délai d'extinction de conditionnement aversif (Morrow *et al.*, 1999; Fernandez et Espejo, 2003). Ainsi, la suppression de réponse de peur dans une

situation ou cette réaction n'est plus adaptée semble dépendre en partie sur l'activité dopaminergique méso préfrontale. Carlson *et al.*, ont également démontré qu'une faible utilisation de la DA, particulièrement dans le CPFm droit, est associée avec une altération du comportement adapté (Carlson *et al.*, 1993). Utilisant le paradigme de la détresse acquise par des chocs électriques aux pattes¹³ (*learned helplessness*), ils ont observé que l'activité dopaminergique dans CPFm droit était positivement corrélée avec un comportement efficace de fuite (Carlson *et al.*, 1993). Récemment, Sullivan et Dufresne ont également démontré que l'habituation de l'axe HHS suivant l'exposition répétée à un stresser de restriction était associée avec de plus grandes concentrations de DOPAC dans le CPFm droit comparativement aux animaux qui ne se sont pas adaptés au stress répété (Sullivan et Dufresne, 2006). L'ensemble de ces études démontre donc que l'activité du CPFm, plus particulièrement dans l'hémisphère droit, est fortement reliée à la capacité d'habituation ou d'adaptation d'un organisme.

En plus de moduler la réponse de stress, l'activité dopaminergique du CPFm jouerait rôle très important dans la régulation de l'activité dopaminergique d'autres régions. La libération de DA dans le CPFm en période de stress entraînerait, par le biais de projections au niveau du ATV, une libération accrue de DA dans l'amygdale alors qu'il l'inhiberait dans le NAc (Stevenson *et al.*, 2003; Doherty et Gratton 1996; Moghaddam, 2002). L'activité dopaminergique dans le NAc comme dans le CPFm est fortement impliquée dans la régulation des comportements motivés (Jackson et Moghaddam, 2004). Ainsi comme dans le CPFm, la libération de DA dans le NAc

¹³ Ce test consiste en un première phase d'apprentissage où l'animal reçoit des chocs électriques aux pattes sans pouvoir s'y échapper. Ensuite on redonne un choc à l'animal avec la possibilité de s'échapper, toutefois l'animal devient indifférent au choc et ne tente pas de s'échapper. Ce modèle d'impuissance acquise est également considéré comme un modèle de la dépression (Whishaw et Kolb, 2005).

semble également témoigner de l'amplitude du stress (Cabib et Puglisi-Allegra, 1996). Toutefois, la sensibilité de la libération de DA dans le NAc semble différer en fonction des stressors. (Jackson et Moghaddam, 2004).

Comme pour le CPFm, le rôle de l'activité dopaminergique dans l'amygdale ne semble pas faire consensus. Ainsi, certains affirment que la libération de DA au niveau désinhibe l'amygdale favorisant les comportements de peur et le conditionnement aversif (Rozenkranz et Grace 2002; Pezze et Feldon, 2004 ; Pape, 2005 ; Marowsky *et al.*, 2005). D'autres soutiennent que la DA, plus particulièrement au niveau du noyau central, limiterait certains effets néfastes associés à une activation prolongée de la réponse de stress (Henke *et al.*, 1991). Comme ces recherches ont été effectuées sur des noyaux différents de l'amygdale, il est possible que cette apparente contradiction n'en soit pas une, compte tenu de l'interaction entre ces noyaux (Rozenkranz *et al.*, 2006). Il n'en demeure pas moins qu'on assiste à une augmentation de la libération de DA dans l'amygdale en période de stress et que celle-ci semble jouer un rôle déterminant dans la réactivité de cette région (Pape, 2005). De plus, l'activité dopaminergique dans cette région semble être déterminante dans le développement de la plasticité neuronale induit par la réponse de stress et le conditionnement aversif (Pezze et Feldon, 2004).

L'augmentation des niveaux de DA et de DOPAC est également observée dans l'hippocampe en période de stress (Zhang *et al.*, 1995). Contrairement aux régions précédemment mentionnées, l'apport dopaminergique de l'hippocampe semble provenir principalement de neurones noradrénergiques (Bischoff *et al.*, 1979). L'effet de la libération de dopamine sur la régulation de la réponse de stress dans cette région n'est pas bien connu, cependant l'action de la dopamine semble être importante dans les

processus mnésiques d'acquisition de nouvelles informations (Lemon et Manahan-Vaughan, 2006).

Le système de neurotransmission noradrénergique est également très important dans la régulation de la réponse de stress. Tel que mentionné, l'activité noradrénergique autonome est essentielle à la manifestation d'une réponse de stress. Ainsi, l'augmentation globale de l'activité noradrénergique entraîne une augmentation des comportements anxieux (Charney *et al.*, 1987). La noradrénaline (NA) est également très importante dans le processus de régulation. Suivant l'exposition à divers stressseurs, on assiste à la libération de NA dans différentes régions cérébrales telles que l'amygdale et le CPFm (Morilak *et al.*, 2005). Catécholamine synthétisé à partir de la DA, la NA est présente dans l'ensemble des régions mentionnées et est souvent libérée en parallèle la neurotransmission dopaminergique (Ferry et McGaugh, 2000). C'est en partie pour des raisons d'ordre méthodologique, et non par méconnaissance de l'importance du système noradrénergique dans la régulation de la réponse de stress, que la présente étude concerne uniquement les systèmes dopaminergique et sérotoninergique.

5. Stress et santé mentale

L'efficacité de la réponse de stress repose donc sur la capacité de divers systèmes neuronaux à réguler cette réponse. Par conséquent, lorsque ces mécanismes sont fragilisés, ils risquent d'entraîner une réponse de stress inadaptée. On observe alors les contrecoûts d'une activation prolongée ou insuffisante de la réponse de stress sur le développement de maladies ou sur l'aggravation de troubles déjà présents (McEwen, 2004). Ainsi, les troubles de santé associés au dérèglement de l'axe HHS sont aussi variés que les sites d'action de ces effecteurs. Par exemple, l'hypercortisolémie est

associée à des retards de croissance, au développement de résistance à l'insuline, à des douleurs gastro-intestinales chroniques, à une déficience immunitaire, à l'hypertension, à des troubles cardiovasculaires et à l'ostéoporose (Charmandari *et al.*, 2005). À l'inverse, l'hypocortisolémie est régulièrement observée chez des personnes atteintes de fatigue chronique et de fibromyalgie. Comme une fonction importante de la réponse de stress est de contribuer à développer une réponse comportementale et physiologique adaptée, il n'est pas surprenant d'observer que des anomalies dans l'activité de l'axe HHS soient également associées à divers problèmes de santé mentale (Keller *et al.*, 2006).

Une catégorie de troubles psychiatriques semble être directement associée à l'activité anormale de l'axe HHS. Les troubles liés au stress (*stress-related disorders*) comprennent entre autre le syndrome de stress post traumatique (SSPT), les troubles anxieux et les troubles affectifs (Keller *et al.* 2006). La plupart de ces troubles présentent des anomalies associées à l'axe HHS ainsi qu'aux divers systèmes de régulation de la réponse de stress, autant au niveau basal qu'en période de stress. Plusieurs chercheurs soutiennent que ces dérèglements, loins d'être une conséquence de certains troubles en serait davantage la cause (Barden, 2004 ; Van Praag *et al.*, 2004 ; Seckl et Meaney, 2006).

La dépression est le trouble affectif qui a reçu le plus d'attention ces dernières années, d'abord parce qu'il a connu une hausse fulgurante et qu'il constitue une des principales sources d'inaptitude des pays occidentaux (OMS). Plusieurs recherches cliniques soutiennent que plusieurs éléments liés à la régulation de la réponse de stress semblent être altérés chez les dépressifs (Hasler *et al.*, 2004). En recherche pré clinique, la grande majorité des modèles animaux de la dépression est basée sur un dérèglement de

la réponse de stress, que ce soit par des procédures comportementales tel que le stress chronique ou par des modifications physiologiques, pharmacologiques ou génétiques (Fuchs et Flugge, 2006). Il existe divers types de dépression qui ne présentent pas d'altérations de la réponse de stress, toutefois la dépression majeure semble être fortement lié, voir induite par des dysfonctions de la réponse de stress (Van Praag *et al.*, 2004).

5.1 Depression majeure et HHS

Sachar *et al* démontra en 1970 que les dépressifs présentaient une augmentation du niveau de cortisol de l'ACTH et du CRF, mais également un décalage du cycle circadien (Deuschle *et al.*, 1997, Nemeroff *et al.*, 1984). Il a été démontré que les moments où les gens se considèrent anxieux, de mauvaise humeur et où ils ont davantage de disputes coïncident avec une augmentation du cortisol salivaire (Van Eck *et al.*, 1996). Les gens qui prennent des corticostéroïdes présentent plus de risque de développer des dépressions majeures (Patten, 2000). En plus d'un niveau basal élevé de cortisol, les dépressifs sécrètent davantage de cortisol en période de stress (Van Praag *et al.*, 2004). De plus, il semblerait que la normalisation de l'hyperactivité de l'axe HHS soit un facteur d'efficacité du traitement de la dépression (Greden *et al.*, 1983 ; Holsboer-Trachsler *et al.*, 1991 ; Barden, 1999).

Chez les animaux, l'exposition chronique à différents types de stressseurs entraîne également une augmentation de l'activité de l'axe HHS (Van Praag *et al.*, 2004). Ainsi, l'exposition chronique, autour de 21 jours, à des stressseurs d'ordre physique ou psychologique tels que l'électrification des pattes, l'immobilisation ou la nage forcée augmentent la libération de glucocorticoïdes, d'ACTH et de CRH et sont associés avec une augmentation du comportement anxieux (Gomez *et al.*, 1996; Vyas et Chattarji,

2004 ; Ma et Morilak, 2005) . Il semble que l'exposition chronique à un stresser favoriserait la dérégulation de l'axe HHS qui reposerait en partie sur une réduction du mécanisme de rétro inhibition induit par les glucocorticoïdes (Jacobson et Sapolsky, 1991 ; Makino et al., 1995). Chez les animaux, le stress chronique ou l'administration de corticostérone entraînerait une réduction de l'expression des GRs et de MRs dans l'hippocampe, principal centre de l'inhibition de l'axe HHS (Herman *et al*, 1995 ; Magarinos *et al.*, 1997 ; Sapolsky *et al.*, 2000). Des souris génétiquement modifiées pour exprimer un nombre réduit de GR présentent des taux plus élevés d'ACTH et de corticostérone (Montkowski *et al.*, 1995). En effet, il semblerait que les personnes atteintes de dépression présenteraient densité de liaison des GRs réduite sur les plaquettes sanguines (Van Praag *et al.*, 2004) et que la capacité de réguler l'axe HHS par les GR serait réduite chez les dépressifs (Young et Vazquez, 1996 ; Modell *et al* .,1997). Des études post mortem soutiennent également la réduction du nombre de GR cérébrales (Dinan, 1994). De plus, certains antidépresseurs augmenteraient la transcription ARNm du GR *in vitro* (Pépin *et al.*,1989).

5.2 Neuroanatomie et dépression majeure

Des études volumétriques effectuées chez des patients dépressifs ont révélé plusieurs anomalies structurales. Les modifications les plus souvent rapportées sont une réduction du volume de l'hippocampe et du cortex cingulaire subgénéral et pré-général¹⁴(Sheline *et al.*, 1996, 1999 ; Drevets, 2001; Weniger *et al.*, 2006). Toutefois, ces changements ne semblent pas nécessairement liés à une augmentation du niveau de cortisol (Vythilingam *et al.* 2004 ; Colla et al., 2006). L'amygdale semble également présenter des variations de volumes, mais alors que certaines études démontrent une

¹⁴ Structures corticales chez l'humain qui correspondent au cortex préfrontal chez le rat.

réduction (Drevets *et al.*, 2003; Siegle *et al.*, 2003) d'autres démontrent une augmentation (Weniger *et al.*, 2006). Cependant, contrairement aux autres structures, la réduction de volume de l'amygdale serait associée à une hyperactivité, mesurée par imagerie fonctionnelle (Siegle *et al.*, 2003). De plus, l'activité de l'amygdale serait corrélée positivement avec le taux de cortisol (Drevets *et al.*, 1992). Des études d'imagerie fonctionnelle ont démontré que l'activité de l'amygdale en période de repos était augmentée chez les personnes dépressives et que son activité était positivement corrélée avec le niveau de sévérité de la dépression (Drevets *et al.*, 1995, 1992, Abercrombie *et al.*, 1998).

La latéralisation de certaines régions semblerait également altérée chez les personnes souffrant de dépression majeure (Sullivan et Gratton, 2002). Des études d'imagerie fonctionnelle ont permis d'observer que l'amygdale gauche était davantage active en période de repos chez les dépressifs (Drevets *et al.*, 2002). Certaines études ont également recensé une réduction du volume du cortex cingulaire antérieur (CCA) et de l'insula antérieure gauche chez les familles présentant des troubles affectifs (Drevets *et al.*, 1992, 1997 ; Hirayasu *et al.*, 1999).

Chez les animaux, la plupart des modèles de stress chronique entraîne des modifications importantes de l'hippocampe qui s'apparentent à celles observées chez les dépressifs (McEwen, 2001 ; De Kloet *et al.*, 2005) : la réduction de l'arborisation et de la taille des dendrites apicale du CA3 de même qu'une réduction des contacts synaptiques (Woolley *et al.*, 1990; Magarinos *et al.*, 1996; Sandi *et al.*, 2003). Une augmentation de l'excitotoxicité glutamatergique est également observée au niveau du CA3 (Kole *et al.*, 2002). Lors de stress chronique, l'arrêt de la neurogénèse se prolonge sur plusieurs semaines après l'induction du stress (Wong et Herbert, 2004). Une

altération de la potentialisation à long terme (PLT) (mécanisme neuronale essentiel à l'acquisition de l'information) est également observée dans l'ensemble de l'hippocampe (Alfarez *et al.*, 2003). Des effets similaires sont observés au niveau de l'arborisation du CPFm (Cook et Wellman 2004, Wellman, 2001, Liston *et al.*, 2006 ; Radley *et al.*, 2006). L'effet du stress chronique sur l'amygdale est ambigu; certaines études rapportant une hypertrophie (Vyas *et al.* 2002) et d'autres une atrophie (Bennur *et al.*, 2007).

5.3 Neurochimie et dépression majeure

L'augmentation de la neurotransmission 5-HTergique et noradrénergique et à un moindre degré dopaminergique est la cible pharmacologique, qui à ce jour, semble le plus efficace pour traiter la dépression. Plusieurs considèrent que la dépression origine d'une réduction de neurotransmission. Cette hypothèse étiologique dite monoaminergique de la dépression est remise en question étant donné la relation entre la dépression et d'autres systèmes tel que la réponse de stress (Van Praag *et al.*, 2004). Il n'en demeure pas moins que ces systèmes sont affectés chez les personnes dépressives et que leurs modulations affectent la régulation de la réponse de stress.

Les dépressifs présentent généralement une diminution de tryptophane plasmatique et de 5-HIAA dans le liquide céphalo-rachidien (Van Praag *et al.*, 2004). La plupart des traitements pharmacologiques et électriques entraînent une augmentation de la neurotransmission 5-HTergique (Van Praag *et al.*, 2004). La réduction de l'apport en tryptophane provoque à l'inverse une baisse de l'humeur s'apparentant à un épisode dépressif particulièrement chez les personnes qui ont un historique familial de dépression (Young *et al.*, 1985). Les patients dépressifs présentent une réduction du tryptophane plasmatique ainsi qu'une réduction de la 5-HT après ingestion massive de tryptophane (Deakin *et al.*, 1990) suggérant une altération de la synthèse de sérotonine.

L'expression et la sensibilité de certains récepteurs semble également modifiée chez les dépressifs. Ainsi, des études de topographie par émission de positrons (TEP) démontrent une réduction du nombre de récepteur 5HT1a (Drevets *et al.*, 1999; Sargent *et al.*, 2000; Meltzer *et al.*, 2004). De plus, cette réduction semble être positivement corrélée avec la sévérité des symptômes (Rabiner *et al.*, 2004). L'effet prolongé des antidépresseurs résulterait de la désensibilisation du récepteur 5HT1a somato-dentritique et/ou de la sensibilisation du récepteur 5HT1a post-synapique (Blier et Montigny, 1994). Une étude récente a démontré que contrairement à une réduction globale des 5-HT1a, les personnes souffrant de dépression majeure et non traitées présentaient davantage de 5-HT1a comparativement aux dépressifs traités et aux sujets sains (Parsey *et al.*, 2006). Certaines études pratiquées avec l'azapirone, un agoniste partiel du récepteur 5-HT1a, ont démontré des effets antidépresseurs (Deakin *et al.*, 1993 ; Pecknold, 1993). D'après des études *post mortem* l'expression du récepteur 5-HT2a semblerait être accru chez les patients dépressifs (Van Praag *et al.*, 2004). La présence du récepteur 5-HT2a dans le cortex de personnes dépressives a été positivement corrélée avec une augmentation de la perception négative d'eux-mêmes et du monde en général (Meyer *et al.*, 2003). Un polymorphisme particulier du transporteur à 5-HT semble être retrouvé chez les dépressifs (Caspi *et al.*, 2003).

L'interaction entre la 5-HT et l'axe HHS semble être déterminant dans la manifestation de certains symptômes. Ainsi, chez des patients en rémission auxquels on supprime l'apport en tryptophane seuls ceux qui présentent des taux de cortisol anormalement élevés manifestent des symptômes dépressifs (Van Praag *et al.*, 2004). En contrepartie, l'administration de tryptophane pendant deux semaines augmente la rétro-inhibition de l'axe HHS, mesurée par le test de résistance au dexaméthasone (Nuller et

Ostroumova, 1980). Il semble donc que l'augmentation de l'activité sérotoninergique favorise une meilleure régulation de l'axe HHS et que cette amélioration soit déterminante dans l'observation des effets thérapeutiques (Van Praag *et al.*, 2004).

Chez les animaux une réduction de l'apport en tryptophane provoque une réduction importante du niveau de 5-HT (Moja *et al.*, 1989). Dans divers types de modèles animaux de la dépression, tel que la détresse acquise, l'administration d'agoniste 5HT1a produit des effets antidépresseurs et anxiolytiques (Borsini *et al.*, 1999 ; Mayorga *et al.*, 2001). Contrairement, au stress aigu qui favorise une augmentation de l'activité 5-HTergique, l'activation prolongée de l'axe HHS semblerait produire une réduction de la libération de 5HT (Weiss *et al.*, 1981). Lors de stress prolongé ou de l'administration chronique de corticoïdes, les 5HT1a de l'hippocampe perdent de leur sensibilité (Chaouloff, 2000) et l'expression du récepteur et de l'ARNm est diminuée alors que le nombre 5HT2a cortical augmente (Fernandes *et al.*, 1997, McKittrick *et al.*, 1995). Une réduction de la liaison de 5HT à son transporteur a également été rapportée dans l'hippocampe d'animaux stressés chroniquement (Maines *et al.*, 1999).

Tout comme la 5-HT, il semblerait que la métabolisation de la dopamine soit réduite chez les dépressifs (Brown et Gershon, 1993). De plus, il semblerait que l'effet thérapeutique des antidépresseurs nécessite l'augmentation de la neurotransmission dopaminergique et ce dans des régions importantes dans la régulation de la réponse de stress telle que le CPFm (D'Aquila *et al.*, 2000). Chez les animaux, l'exposition chronique à un stresser provoque une réduction de la dopamine dans le noyau accumbens (Mangiacavacchi *et al.*, 2001). La réduction de l'activité dopaminergique dans le nucleus accumbens est associée avec une réduction du renforcement positif qui est

considérée similaire à l'anhédonie, symptômes important de la dépression (Pani et Gessa, 2002). Une souche particulière de rat, les *Flinders sensitive*, sensible à certains comportements dépressifs présente une réduction prolongée de la concentration de DA dans le NAc lors du test de la nage forcée (Yadid *et al.*, 2001). Lors de stress chronique, on assiste à une réduction de la liaison des récepteurs D2/D3 dans le NAc (Papp *et al.*, 1994). L'effet des antidépresseurs dans le test de la nage forcée est réduit lorsque la transmission dopaminergique mésolimbique est bloquée (Cervo *et al.*, 1990). En effet, les antidépresseurs augmentent la transmission dopaminergique au niveau mésolimbique et mésocortical (Maj *et al.*, 1987 ; Plaznik *et al.*, 1987 ; Pozzi *et al.*, 1999, Bymaster *et al.*, 2002). Le stress chronique entraîne également une réduction de l'activité dopaminergique dans le cortex frontal (Bowman *et al.*, 2003). L'activité dopaminergique est donc globalement réduite tant chez les dépressifs que lors de stress chronique.

Les interactions entre le dysfonctionnement de la réponse de stress et la manifestation de symptômes présents dans la dépression sont indéniables. Des anomalies endocrines, structurales et neurochimiques de la réponse de stress sont présentes chez les personnes dépressives et semblent dans bien des cas se résorber suite à un traitement efficace du trouble (Van Praag *et al.*, 2004). Par conséquent, certains considèrent que le développement de traitements qui ciblent directement des éléments de l'axe HHS constituerait une avenue intéressante dans le traitement de la dépression majeure (Barden, 2004).

Indépendamment des troubles mentaux étroitement liés au stress, tel que la dépression, l'expérience prolongée du stress semble être un facteur qui accélère le développement d'un grand nombre de troubles de santé mentale. Plusieurs études soulignent que les schizophrènes sont soumis à des stressseurs psychosociaux importants

qui de fait précipiteraient l'émergence d'épisodes psychotiques (Corcoran *et al.*, 2003). Les personnes atteintes de schizophrénie présentent une réponse de stress accentuées lors de stress psychologique (Jansen *et al.*, 1998, 2000). À l'inverse, le trouble du déficit d'attention et d'hyperactivité (TDAH) est associé avec l'incapacité de produire une réponse de stress suffisante (King *et al.*, 1998). Physiologiquement, on observe une hyperactivité de l'axe HHS dans divers troubles tel que l'anorexie, les troubles de panique et l'alcoolisme (Charmandari *et al.*, 2005). Le stress est aussi un facteur qui potentialise les troubles de dépendance aux drogues d'abus (Erb *et al.*, 1996, 1998). Ainsi, pour plusieurs chercheurs la présence d'anomalies de l'axe HHS dans divers troubles psychiatriques suggère l'existence d'un phénotype commun qui, en fonction de facteurs génétiques et environnementaux particuliers se manifesterait en diverses psychopathologies (Charmandari *et al.*, 2005).

6. Facteurs modifiant la réponse de stress: environnement néonatal et sexe

La réponse de stress est influencée par plusieurs facteurs endogènes et exogènes. Agissant sur l'ensemble des constituants de la réponse de stress ainsi que sur les systèmes de régulation, l'environnement néonatal et le sexe sont deux facteurs déterminants dans la modulation de la réponse de stress.

6.1 Environnement néonatal

6.1.1 Les soins maternels et le développement de la réponse de stress

Dans bien des cas, l'historique des personnes atteintes de troubles psychiatriques révèle une enfance difficile. Que se soit des abus, de la négligence ou la perte prématurée d'un parent, l'expérience de ces événements en bas âge est associée avec le développement de certains troubles psychiatriques dont la dépression (Jones, 1997, Agid *et al.*, 1999, Graham *et al.*, 1999). Plongés dans des environnements anormalement

stressants, ces enfants développent diverses anomalies de la réponse de stress qui perdure au-delà de la période d'abus ou de négligence (Ladd *et al.*, 1996 ; De Bellis *et al.*, 1999 ; Teicher *et al.*, 2003).

Depuis plusieurs années, on étudie chez les animaux l'impact des soins maternels et des variations de l'environnement périnatal sur le développement de la réponse de stress. Plusieurs modèles animaux ont été développés dans le but de reproduire un environnement difficile pour les petits afin de mieux comprendre les conséquences neurobiologiques à court et à long terme. Les plus connus sont le stress prénatal et la séparation maternelle (Pryce *et al.*, 2005). L'application de ces procédures occasionnent le développement de plusieurs caractéristiques endocriniennes, neurobiologiques et comportementales s'apparentant à la dépression (Pryce *et al.*, 2005). Hypercortisolémie, réduction du volume de l'hippocampe, augmentation des comportements dépressifs caractérisent les rats ayant subis un stress pré ou néonatal (Levine , 1967 ; Fride *et al.*, 1986 ; Uno *et al.*, 1989 ; Vallée *et al.*, 1997 ; Coplan *et al.*, 1998 ; Takahashi, 1998 ; Andersen et Teicher, 2004). Malgré que ces deux procédures soient différentes, on y retrouvent certaines constantes, dont la modification du comportement maternel (Pryce *et al.*, 2005).

La relation que la mère entretient avec sa portée entraînerait l'activation d'une foule de mécanismes épi génétiques qui aiguillerait l'organisme afin de développer d'une réponse de stress optimale, c'est-à-dire adaptée à l'environnement présent (Zhang *et al.*, 2004). C'est suivant 21 à 23 jours de gestation que la mère donne naissance à une portée de rats qui naissent aveugles, imberbes et sans activité urinaire et défécatoire (Polan et Hofer, 1999). Les soins maternels sont à ce moment vitaux, permettant entre autres la thermorégulation et la régulation du rythme cardiaque et de l'activité gastro-

intestinale (Hofer, 1994). Attirée par leurs odeurs et l'émission d'ultrason, la mère maintient ces petits dans le nid et les recouvre en formant une arche favorisant l'accès aux mamelles tout en maintenant la température du nid autour de 37 degré C (Jans et Woodside, 1990). Elle les toilette et leur lèche principalement la tête et la région anogénitale (Fleming et Rosenblatt, 197). Ces soins favorisent le développement tactile et l'activité défécatoire des petits tout en maintenant l'apport en sodium de la mère par l'ingestion de l'urine (Thiels *et al.*, 1990, Brouette-Lahlou *et al.*, 1999).

Des variations dans le comportement maternel s'observent pour diverses souches de rats et sembleraient être reliées au développement de certaines anomalies chez les ratons (Moore *et al.*, 1997). Il semblerait que ces variations de soins entraînent chez les Long-Evans des modifications permanentes de la réponse de stress (Zhang *et al.*, 2004). Liu *et al.*, ont ainsi démontré qu'il existait une corrélation négative entre la fréquence de certains soins maternels et l'activité de l'axe HHS lors de stress chez la progéniture devenue adulte (Liu *et al.*, 1997). De plus, ils observèrent que ces mêmes soins étaient positivement corrélés avec l'expression d'ARNm du GR dans l'hippocampe et négativement corrélés avec l'expression de l'ARNm du CRF dans le PVN (Liu *et al.*, 1997). Au-delà de l'observation de ces corrélations, des études en biologie moléculaire semblent démontrer que l'action de léchage et toilettage contribuerait directement à l'activation de diverses voies de signalisation cellulaire qui, ultimement permettraient la transcription du gène codant pour l'ARNm du GR (Weaver *et al.*, 2004).

Séparés en deux sous-groupes nommées en fonction du taux de soins maternels on reconnaît les *High LG-ABN* (licking, grooming et arch back nursing) et les *Low LG-ABN*. Les femelles *High LG-ABN* et *Low LG-ABN* donnent naissance au même nombre de petits par portée et de poids équivalents suggérant que ces variations de soins

demeurent à l'intérieur d'un taux normal de soins qui ne semblent pas affecter la survie de la portée (Zhang *et al.*, 2004). Toutefois, plusieurs propriétés neurobiologiques diffèrent entre ces deux groupes. Ainsi, les *High LG-ABN* expriment davantage de récepteurs GABA_A dans les noyaux basolatéral et central de l'amygdale et du LC. De plus, ils présentent une réduction du récepteur CRF-1 dans le LC (Liu *et al.*, 1997). Ces propriétés neurobiologiques favoriseraient une inhibition plus rapide des structures activatrices de la réponse de stress (Champagne *et al.*, 2003). Le comportement anxieux diffère également en fonction de ces sous-groupes, les rats *High LG-ABN* explorant davantage dans le test de l'espace ouvert (OF) (Francis *et al.*, 1999).

6.1.2 Modéliser les soins maternels: les manipulations néonatales

L'importance des soins maternels dans le développement de la réponse de stress avait déjà été soulevée avant la découverte des *High LG-ABN* et *Low LG-ABN*. Dans la nature, les rattees doivent quitter le nid régulièrement afin de pourvoir à ses besoins et à ceux de sa portée. Dans l'optique de reproduire une dynamique plus naturelle, on sépara brièvement la mère des petits. Il en résultait une augmentation des comportements de léchage et de toilettage des petits (Meaney *et al.*, 1985; Levine *et al.*, 1988 ; Plotsky and Meaney, 1993 ; Liu *et al.*, 1997, Pryce *et al.*, 2001). Un modèle animal a donc été développé afin d'accroître le taux de soin maternel. La procédure de manipulation néonatale (H) consiste d'abord en le retrait de la mère et ensuite des petits de la cage initiale. Manipulés un à un, les petits sont disposés dans une cage recouverte de papier pour une période d'environ 15 minutes. La manipulation des ratons ainsi que l'exposition à un nouvel environnement sont des paramètres qui favoriseraient également le développement des systèmes de régulation de la réponse de stress (Tang *et al.*, 2006).

Cette procédure est effectuée à tous les jours à partir du jour 1 suivant la naissance et ce jusqu'au 15^e jour (Levine, 1967).

Ainsi on différencie les animaux ayant reçu cette procédure en H (pour handled) et NH (pour non handled). Adulte, les H s'adaptent généralement plus facilement à des environnements stressants explorant davantage lors de tests tel que l'OF, la boîte d'exploration et dans certains cas l'EPM (Meaney *et al.*, 1985; Plotsky and Meaney, 1993; Nunez *et al.*, 1996; Vallée *et al.*, 1997; Meerlo, *et al.*, 1999; Ploj *et al.*, 1999; Levine, 2002; Chapillon *et al.*, 2002; Sullivan et Dufresne, 2006). Physiologiquement, on observe une réduction de la sécrétion d'ACTH et de CORT en période de stress et retour à la normal plus rapide de l'activité de l'axe HHS (Levine, 1962; Meaney *et al.*, 1985; Plotsky and Meaney, 1993; Nunez *et al.*, 1996; Vallée *et al.*, 1997; Liu *et al.*, 1997; Durand *et al.*, 1998; Meerlo, *et al.*, 1999; Ploj *et al.*, 1999; Levine, 2002; Panagiotaropoulos, *et al.*, 2004; Sullivan et Dufresne 2006). On observe également une réduction de l'expression de l'ARNm du CRF dans le PVN et une activation du noyau central de l'amygdale (Fenoglio *et al.*, 2006, Plotsky *et al.*, 2005).

Le développement d'une réponse comportementale et physiologique adaptée est partie intégrante d'une réponse de stress efficace. De fait le H favorise une capacité d'adaptation accrue à un stress chronique et répété (Costela *et al.*, 1995; Tejedor Real *et al.*, 1998; Sullivan et Dufresne, 2006). Les effets du H sont également observables dans les divers systèmes de régulation de la réponse de stress. Tout d'abord on observe une augmentation de l'expression du récepteur GRs et de son ARNm dans l'hippocampe et le cortex frontal favorisant une rétro-inhibition de l'axe HHS se manifestant par une réduction de l'ARNm du CRH (Meaney *et al.*, 1985; Plotsky and Meaney, 1993; Seckl et Meaney 2004, Meaney *et al.*, 1996). La latéralisation cérébrale des fonctions émotives

est aussi accrue par cette procédure (Denenberg, 1981 ; Tang *et al.*, 2003 ; Tang et Reeb, 2004).

Les systèmes neurochimiques de régulation de la réponse de stress sont également modulés par cette procédure. Les H expriment moins de récepteurs D3 dans le nucleus accumbens (Brake *et al.*, 2004). Lorsque petit, les H présentent une augmentation de la métabolisation de la sérotonine dans l'hippocampe et le cortex frontal (Smythe *et al.*, 1994). À l'âge adulte, l'expression dans hippocampe du récepteur 5-HT1a et de son ARNm est également accrue (Garoflos *et al.*, 2005, Stamatakis *et al.*, 2006). La latéralisation des fonctions dopaminergiques préfrontale semble également être accrue (Sullivan et Dufresne, 2006). Le H est une procédure largement utilisée afin de développer un phénotype particulier de réponse au stress qui présente une régulation de l'axe HHS optimale.

6.2 Différences sexuelles et réponse de stress

6.2.1 Stress, différences sexuelles et santé mentale

La réponse de stress des hommes et des femmes a longtemps été considérée comme largement similaire, ce qui explique en partie que la majorité de nos connaissances sur les mécanismes de régulation de la réponse de stress proviennent presque exclusivement d'études sur des mâles (Taylor *et al.*, 2000). Hors, il existe des différences sexuelles importantes qui sembleraient jouer un rôle dans le développement de certaines psychopathologies reliées à la réponse de stress telle que la dépression (Motzer et Herting, 2004).

Depuis longtemps, on observe une dichotomie de genre dans certains types de troubles¹⁵. Ainsi, la plupart des troubles affectifs et anxieux semblent atteindre davantage les femmes que les hommes (Kessler, 2003). Elles sont également plus sensibles à développer des épisodes de stress post traumatique (Steiner, 2006 ; Breslau, 2002 ; Holbrook *et al.*, 2001). De plus, certains troubles mentaux semblent fortement liés à la biologie particulière des femmes tels que le syndrome prémenstruel, les troubles dysphoriques prémenstruelles, les psychoses postpartum et finalement la dépression associée à la grossesse, au postpartum et à la ménopause (Noble 2005).

Cette apparente spécificité semble également être associée à des modifications de l'activité de l'axe HHS. Des études cliniques ont démontré que les variations de cyclicité circadienne et l'absence de suppression de cortisol suivant le test au dexaméthasone¹⁶ sont plus prononcées chez les femmes dépressives comparativement aux hommes et aux femmes non dépressives (Young, 1995 ; Armitage et Hoffman, 2001 ; Young et Veldhuis, 2006.). L'augmentation du niveau de cortisol matinal semblerait être uniquement observable chez les femmes dépressives (Young, 1995). Des recherches conduites sous la direction de Bruder ont démontré l'existence d'un modèle d'asymétrie cérébrale chez les personnes dépressives qui permet d'identifier les répondants à la fluoxetine (inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine) et ce uniquement chez les femmes (Bruder *et al.*, 2001; 2004). Ultimement, l'efficacité de certains traitements semblerait également varier en fonction du sexe (Gorman 2006).

¹⁵ Exploring the Biological Contributions to Human Health: Does Sex Matter? (2001) Institute of Medicine, The national academies of Press.

¹⁶ Le test du dexaméthasone est aussi appelée test du freinage de la cortico-surrénale. Ainsi, l'administration du dexaméthasone, un agoniste des récepteurs à corticoïde entraîne normalement une réduction de la sécrétion de la concentration plasmatique de cortisol.

Indépendamment d'un état pathologique, plusieurs différences sexuelles concernant l'activation de la réponse de stress et certains systèmes de régulation ont été rapportées (Kirschbaum *et al.*, 1995, 1999 ; Kuldeilka, 1999, 2004 ; Traustadottir *et al.*, 2003, 2005; Uhart *et al.*, 2006). Structures cruciales dans la régulation de la réponse de stress, le volume de l'hippocampe et de l'amygdale diffère en fonction du sexe (Cahill 2005, Hamann, 2005). Lors d'événements émotifs et pendant la reconsolidation de ces événements, on observe une activation latéralisée des amygdales qui est inversée en fonction du sexe (Cahill *et al.* 2004). La connectivité entre les deux amygdales serait également plus grande chez les femmes (Canli *et al.*, 2002). Exposées à un stimulus aversif, les femmes présenteraient une activation plus importante du cortex orbitofrontal et cingulaire (Bradley *et al.*, 2001, Wrase *et al.*, 2003). Des études de topographie à émission de positron (TEP) ont également démontré que les femmes synthétisaient moins de 5-HT (Nishizawa *et al.*, 1997).

6.2.2 Études animales

Chez les rats, l'activité basale de l'axe HHS, mesurée par les concentrations de corticoïdes et d'ACTH, est plus élevée chez les femelles (Lesniewska *et al.*, 1990 ; Drossopoulou *et al.*, 2004 ; Panagiotaropoulos *et al.*, 2004). Il en va de même des rattes qui, lorsque stressées, libèrent davantage de corticoïdes et d'ACTH (Viau et Meaney *et al.*, 1991; Burgess et Handa, 1992 ; Rivier, 1999 ; Figueiredo *et al.*, 2002. De plus, ces concentrations diminuent plus lentement que chez les rats (Kant *et al.*, 1983). Le taux de globuline, protéine de liaison des corticostéroïdes, est également plus élevé chez les rattes (Rousseau *et al.*, 1972). Ainsi, il semblerait que l'activité de l'axe HHS serait donc globalement plus élevée chez les femelles comparativement aux mâles. L'activité du système autonome est également plus importante chez les rattes présentant un plus haut

taux de décharge du LC en période de stress (Curtis *et al.*, 2006). Toutefois, des études d'autoradiographies sur l'expression et l'affinité des MRs et GRs présentent des résultats variables qui nous empêchent de tirer des conclusions assurées quant aux possibles différences sexuelles (Turner et Weaver 1985 ; McCormick *et al.*, 1994 ; MacLusky *et al.*, 1996).

La réponse de stress plus active des ratte se manifeste également dans leur comportement. Exposées à un stress de prédation, elles adoptent un comportement plus défensif que les rats (Perrot-Sinal *et al.*, 2004 ; Blanchard *et al.*, 1991,1990). De plus, l'exposition à un stresseur réduit significativement leur comportement d'exploration dans le labyrinthe élevé en croix, alors qu'il produit très peu d'effet chez les rats (Leuner *et al.*, 2004). L'adaptation de l'activité neuronale et endocrinienne généralement observée après l'exposition répétée à un stresseur doux ne semble pas toujours observable chez les femelles comparativement aux mâles (Kennett *et al.*, 1986; Haleem *et al.*, 1988 ; Mendelson et McEwen 1991 ; Lunga et Herbert, 2004).

À la lumière de l'information présentée jusqu'à présent, il serait conséquent de conclure que les ratte sont globalement plus stressées et que leurs divers systèmes de régulation de la réponse de stress semblent être plus fragiles. Hors, lorsque exposées à d'autres paradigmes de stress, cette tendance est renversée. Ainsi, suivant un stress chronique sévère (6 hrs. d'immobilisation par jour pendant 21 jours), les ratte s'habituent plus rapidement que les rats et présentent des taux de corticostéroïdes et de CRF comparable au groupe contrôle tandis que ceux des rats demeurent significativement plus élevés (Duncko *et al.*, 2001 ; Bowman *et al.*, 2003, Kittraki *et al.*, 2004). De plus, l'exposition à un stress chronique n'entraîne aucun changement du comportement anxieux, mesuré dans l'EPM, des ratte alors qu'il est accru chez les

mâles (Mitra *et al.*, 2005). Les rattes semblent également moins réagir à divers modèles de la dépression tel que le test de la nage forcée et le modèle de détresse acquise (Steenbergen *et al.*, 1989 ; Alonso *et al.*, 1991; Barros et Ferigolo, 1998 ; Brotto *et al.*, 2000). Divers tests d'évaluation du comportement anxieux tels que l'EPM et l'OF démontrent que les rattes sont moins anxieuses que les rats (Johnston et File, 1991 ; Zimmerberg et Farley, 1993). Le portrait quant aux différences sexuelles dans la réponse de stress semble donc beaucoup plus complexe et subtil que certaines études le laisse penser.

Au-delà de la réponse de stress, l'activité de certaines régions cérébrales impliquées dans la régulation de la réponse de stress présente également un dimorphisme sexuel. Suivant l'exposition à un stressor, l'activité glycolique de l'hippocampe et de l'amygdale semble être plus importante chez les rattes (Brown *et al.*, 1996). L'impact du stress sur l'altération de la neurogenèse de l'hippocampe semble être beaucoup plus faible voir carrément absente chez les rattes (Galea *et al.*, 1997 ; Falconer et Galea, 2003). Il a également été démontré que l'exposition à un stressor altérerait une tâche cognitive relié à l'activité du CPFm et ce différemment chez les mâles et les femelles (Shansky *et al.*, 2006).

Il en va de même pour les systèmes de neurotransmission 5-HTergique, noradrénergique et dopaminergique. Ainsi, globalement, les niveaux de tryptophane, de sérotonine et de 5HIAA dans l'ensemble du cerveau semblent plus importants chez les rattes (Carlsson *et al.*, 1985 ; Carlsson et Carlsson, 1988). Des analyses plus régionales ont permis de découvrir que seul l'hippocampe des rattes contenait davantage de 5-HT et de 5-HIAA (Haleem *et al.*, 1990 ; Papaioannou *et al.*, 2002). Néanmoins, d'autres régions telles que le mPFC, l'hypothalamus et le striatum présentent davantage de 5-

HIAA chez les rattes (Beck et Luine, 2002 ; Papaioannou *et al.*, 2002 ; Panagiotrapoulos *et al.*, 2004). Toutefois, il semble que le taux de décharge des neurones 5-HTergique du NRD est plus important chez les rats comparativement aux rattes (Klink *et al.*, 2002). Les rattes exprimeraient aussi davantage de récepteur 5-HT_{2a} dans l'hippocampe comparativement aux rats (Zhang *et al.*, 1999). Finalement, les rattes semblent plus sensibles aux variations des niveaux de 5-HT dans l'hippocampe, mesuré par certains comportements tel que le tremblement (Haleem *et al.*, 1990).

Suivant l'exposition à diverses formes de stresseurs tels que le test de la nage forcée, l'exposition aiguë ou répétée à un stress de restriction physique, on observe une modification de l'activité 5-HTergique des rattes alors qu'aucun changement n'est observable chez les rats (Kennett *et al.*, 1986 ; Mendelson SD and McEwen 1991 ; Bellido *et al.*, 2003 ; Bowman *et al.*, 2003 ; Drossoupoulou *et al.*, 2004 ; Dalla *et al.*, 2005). L'administration d'un agoniste 5-HT_{1a} produit davantage d'effets anxiolytiques chez les femelles (Blanchard *et al.* 1992). La neurotransmission 5-HTergique présente donc des différences sexuelles importantes tant au niveau basal qu'en période de stress.

En général, l'activité dopaminergique de la voie nigro-striée et méso-limbique semble être plus importante chez les femelles que les mâles (Thompson et Moss, 1997 ; Walker *et al.*, 2000, 2006; Becker *et al.*, 2001; Thompson et Certain, 2005; Dluzen et Mickley, 2005). Cependant, ces différences ne semblent apparaître que lorsque le système est stimulé par l'administration de diverses drogues (cocaïne, amphétamine) ou par des stimulations électriques (Walker *et al.*, 2000, 2006; Becker *et al.*, 2001). Ces effets semblent être en partie attribuables à l'action de l'estrogène sur l'activité dopaminergique (Dluzen, 2000 ; Becker, 1999). L'administration de cocaïne active davantage l'axe HHS chez les femelles comparativement aux mâles (Kuhn et Francis,

1997). L'exposition chronique au stress de restriction entraîne une augmentation de la concentration tissulaire de DOPAC dans le cortex frontal des mâles (Bowman *et al.*, 2003). Jusqu'ici, très peu d'études se sont attardées aux différences sexuelles dans l'activité dopaminergique reliée à la réponse de stress.

Tel que mentionné, l'importance de la période périnatal semble être déterminante dans le développement de la réponse au stress. La plupart de ces études ont été effectuées uniquement à partir de rats et les recherches prenant en comptes les rattes ont démontré des effets différents. La manipulation néonatal qui semble réduire la réponse de stress chez les rats produirait des effets moins prononcés et voir différents chez les rattes (Park *et al.*, 2003, Panagiotaropoulos *et al.* 2004). Ainsi, il a été observé que les femelles ayant subit le H présentent un temps d'immobilité plus important que les femelles NH dans le test de la nage forcée (Panagiotaropoulos *et al.* 2004). Ces variations ne semblent pas attribuables aux comportements que la mère porte aux mâles et aux femelles puisqu'il est le même pour environ les douze premiers jours suivant la naissance et que cette procédure se passe sur les quinze premier jours (Champagne *et al.*, 2003). Finalement, il existe plusieurs différences sexuelles en ce qui à trait la latéralité et la morphologie du cortex frontal cérébrale qui semblerait être fortement reliés à l'action des hormones sexuelles pendant cette période (Stewart et Kolb, 1988 ; Diamond, 1991; Wisniewski, 1998).

Les études recensées dans l'activité et la régulation de la réponse de stress ne permettent pas à ce jour de caractériser clairement le sens et l'ampleur des différences sexuelles. Employant divers paradigmes de stress, ces études ne concernent généralement que la réactivité de la réponse de stress et très peu s'attardent aux principales composantes régulatrices de la réponse de stress.

7. Résumé

La réponse de stress est une réponse complexe qui, dans son sens large, permet à l'organisme d'identifier rapidement un stressor, de mobiliser les ressources énergétiques nécessaires à la production d'une réponse comportementale et d'encoder l'information associée au stressor afin de réduire son potentiel stressant. Ces trois principales composantes de la réponse de stress sont gouvernées par différents systèmes biologiques, notamment l'axe HHS et l'activité monoaminergique des régions corticales et sous corticales. Il existe une relation importante entre le dysfonctionnement des effecteurs de la réponse de stress et la prévalence de divers troubles de santé mentale dont la dépression. L'environnement périnatal est un des principaux facteurs dans le développement d'une réponse de stress inadéquate et dans l'incidence de plusieurs troubles psychiatriques. Le genre est un autre élément déterminant où les femmes constituent la population la plus touchée par ces troubles. Des études cliniques et précliniques ont d'ailleurs soulignées d'importantes différences sexuelles quant à la réponse de stress ; l'hétérogénéité des résultats fait état de différences complexes qui nécessitent d'être clarifiées. De plus, très peu d'études se sont attardées à l'effet de modifications de l'environnement néonatal sur ces différences sexuelles. Il existe donc un réel besoin de caractériser les différences sexuelles quant aux effets de l'environnement néonatal sur l'ensemble des composantes activatrices et régulatrices de la réponse de stress.

OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES

Objectifs

L'objectif de cette étude est de caractériser les différences sexuelles dans l'effet du H sur l'activité et la régulation de la réponse de stress quantifié à partir : 1) du comportement d'exploration, 2) des niveaux d'hormones de stress suivant l'exposition à un stress aigu ou répété, et 3) des niveaux tissulaires *post-mortem* de DA, 5-HT et de leur métabolites dans les régions cérébrales importantes dans la régulation de la réponse de stress.

Nous avons choisi le H comme procédure néonatale car nous voulions promouvoir les systèmes de régulation de la réponse de stress (du moins chez les mâles) et parce que les quelques études de H employant des mâles et des femelles ont démontré un effet différent dans la réactivité de la réponse de stress chez les femelles sans s'être attardées aux systèmes de régulation (Park *et al.*, 2003; Panagiotaropoulos *et al.*, 2004). Les animaux ont été exposés à un stress aigu ou répété afin d'évaluer le phénomène d'habituation de la réponse de stress qui témoigne de l'efficacité des systèmes régulateurs. Afin d'évaluer l'efficacité des mécanismes de rétro-inhibition de l'axe HHS, les concentrations d'hormones de stress ont également été mesurées une heure après la fin de l'exposition au stress. Ainsi, les mesures neurochimiques, contrairement à la plupart des études, ont été prélevées de deux à quatre heures après ce dernier prélèvement sanguin. Ces mesures neurochimiques sont donc davantage le reflet de l'activité cérébrale basale et non d'une activation cérébrale en réaction à un stress. Il est important de souligner que nous nous attardons à l'activité neurochimique de plusieurs régions impliquées dans la régulation du stress et des émotions qui sont rarement toutes investiguées dans une même étude. Les concentrations tissulaires monoaminergiques ont été recueillies séparément pour chaque hémisphère, la

latéralisation hémisphérique étant un facteur important dans la régulation de la réponse de stress qui est favorisée par le H (Denenberg, 1981 ; Sullivan et Dufresne, 2006) et semble différer en fonction du sexe (Wisniewski, 1998 ; Diamond, 1991; Stewart et Kolb, 1988; Morris *et al.*, 2004). Finalement, l'ensemble des mesures comportementales, neuroendocriniennes et neurochimiques seront récoltées chez un même individu afin d'examiner certaines corrélations entre le niveau d'activité de la réponse de stress et l'activité des systèmes de régulation.

Les détails techniques de la réalisation de ce projet sont exposés dans la section méthodologie suivante ainsi que dans la section « methodology » de l'article présenté dans ce mémoire.

Hypothèses

Il est important de souligner le caractère exploratoire de cette étude étant donné le peu d'informations disponibles à ce jour sur l'effet de stimulations néonatales sur les différences sexuelles. De plus, la disparité des résultats quant aux différences sexuelles dans la réponse de stress (ex : aigu vs chronique), de même que dans l'activité des systèmes de régulation 5-HTergique et dopaminergique, réaffirme le caractère exploratoire du projet. Néanmoins, à la lumière de la littérature présentée dans les sections précédentes nous sommes en mesure de proposer les hypothèses suivantes.

Hypothèse 1. Concernant le comportement : Chez les mâles, le H résultera en une augmentation de l'exploration relativement au NH et cet effet sera moins apparent chez les femelles.

Hypothèse 2. Concernant l'activité neuroendocrinienne : Les femelles présenteront des concentrations plus élevées d'hormones de stress et auront une augmentation plus prononcée des concentrations suivant l'exposition au stress aigu comparativement

aux mâles. Suivant l'exposition répétée, les mâles manifesteront une réduction des concentrations hormonales plus importante que les femelles (comparativement au stress aigu). Le H favorisera le phénomène d'habituation davantage chez les mâles que les femelles.

Hypothèse 3. Concernant la neurochimie : Compte tenu que l'activité dopaminergique et 5-HTergique semble adaptative dans la régulation du stress et des émotions, les mâles présenteront davantage de métabolisation dans l'ensemble des régions sensibles au stress comparativement aux femelles. Le H favorisera la métabolisation monoaminergique, et ce particulièrement chez les mâles.

Hypothèse 4. Concernant la latéralisation : En général, le H augmentera la latéralisation neurochimique, plus particulièrement dans l'hémisphère droit, et ce phénomène sera probablement plus prononcé chez les mâles, cependant l'absence de données de ce genre rend nos prédictions difficiles.

MÉTHODOLOGIE

L'ensemble de la procédure expérimentale est conforme au guide du Conseil Canadien de la protection des animaux et a reçu l'approbation du comité d'éthique de la recherche de l'hôpital Louis-H. Lafontaine.

Animaux et procédure de manipulations néonatales

Des rattes Long-Evans gestantes (en provenance de Charles River, St-Constant) ont été acclimatées à l'animalerie 7- 10 jours avant la mise bas. Les animaux ont été maintenus dans un cycle de luminosité de 12 hrs jour/nuit avec un accès illimité à l'eau et la nourriture.

Suivant la naissance, les portées ont été restreintes à 12 ratons avec un nombre relativement équivalent de mâles et femelles. La procédure de manipulations néonatales (H) a été pratiquée sur tous les ratons des portées préalablement choisies au hasard. Le H fut prodigué durant les quatorze premier jours suivant la naissance entre 10 : 00 et 11 : 00 am. Dans un premier temps, la mère est retirée de la cage, ensuite les ratons sont déposés un à un dans une cage dont le fond est couvert de papier brun et où ils demeurent pendant quinze minutes. Les ratons sont ensuite remis dans leur cage initiale suivis du retour de la mère. Pendant l'ensemble de la durée du H, les portées NH demeurent dans leurs cages inchangées à l'exception du 7^e jour. Par la suite, l'entretien standard des cages (nettoyées deux fois par semaines) fut pratiqués jusqu'au sevrage des ratons au 21^e jour qui furent distribués en paire de même sexe et de même condition (H/NH).

Tests comportementaux

Labyrinthe en croix surélevé

Agés entre 60 et 70 jours, les rats ont été filmés pendant 5 min. dans le labyrinthe en croix surélevé (EPM) afin d'évaluer leur comportement anxieux (Handley et McBlane, 1993; Pellow et al., 1985). Le test a été effectué entre 10 :00 et 14 :00 hrs. avec

un faible éclairage afin de favoriser le comportement d'exploration. Chaque rat fut placé dans le centre du labyrinthe la tête devant un bras ouvert. La première mesure d'intérêt est le temps passé dans les bras ouverts et fermés, exprimé en ratio du temps passé dans les bras ouvert/fermé, le nombre d'entrées dans les bras ouverts et fermés ainsi que le nombre d'étirements du corps des bras fermés aux bras ouverts. Une entrée est déterminée par le passage des quatre pattes dans un bras.

Test d'exploration avec trous

Une semaine suivant l'EPM, le comportement du rat a été enregistré pendant 10 min. dans une boîte d'exploration (100 x 100 x 50 cm) avec des murs et contenant neuf trous équidistants (de 5cm de diamètre). Le nombre total d'exploration (1 central et 8 périphériques) des trous fut mesuré. Cette mesure permet de quantifier deux paramètres. Premièrement, ce test semble démontrer l'efficacité du H, où les animaux ayant reçu le H investiguent significativement davantage (environ 30%) les trous que les NH (Sullivan and Dufresne, 2006). Deuxièmement, cette mesure permet également d'observer des différences individuelles et de subdiviser les individus à l'intérieur d'un groupe, ainsi ils peuvent être subséquentement subdivisés, pour la réponse de stress, en s'assurant d'une distribution équivalente en fonction de comportement et de niveau d'activité standard.

Stress de restriction aigu et répété

Les animaux des quatre conditions principales (mâles H, femelles H, mâles NH, femelles NH) ont donc été également redistribués en fonction du nombre d'exploration des trous durant le test d'exploration en deux sous-groupes d'exposition à un stress de restriction aigu (A) ou répété (R). Il s'agit donc d'une étude multifactorielle 2 X 2 X 2 comprenant 8 groupes avec entre 9-12 individus par groupe. Débutant une semaines après le test d'exploration, les rats exposés au stress aigu furent insérés dans un appareil

de restriction cylindrique en plexiglas pendant 20 min. à température ambiante entre 10 :00 et 13 :00 hrs. Des échantillons de sang furent collectés par la queue aux temps 0, 20 et 80 min., correspondant respectivement à la période pré-stress, à l'activité optimale de la réponse de stress et au retour à la normale de l'axe HHS. Les rats dans la condition de stress répété ont subi le même stress de 20 min. pendant cinq jours consécutifs, les échantillons de sang ayant été prélevés le cinquième jour seulement. Les échantillons de sang (100-150 μ l) ont été prélevés en environ 30 sec., placés dans la glace et centrifugés pendant 15 min. à 2200 rpm. Le plasma fut ensuite récolté et maintenu à -80°C jusqu'à la quantification des concentrations de corticoïdes et de l'ACTH par des tests immunoradiologiques commerciaux (Medicor). La limite de détection pour la quantification des corticoïdes et de l'ACTH est respectivement de 0.77 $\mu\text{g}/\text{dl}$ et de 5.7 pg/ml , toutes deux largement en dessous des mesures obtenues dans cette étude.

Analyses neurochimiques *post mortem* par HPLC-EC

Tous les animaux ont été sacrifiés 2 à 4 heures suivant le dernier prélèvement sanguin (3-5 heure suivant le stress). Ce délai a pour but de permettre aux animaux de retourner à un état davantage basal suivant le stress autant pour les niveaux d'hormones de stress que l'activité monoaminergique (Imperato *et al.*, 1992; 1993; Puglisi-Allegra, 1992). L'objectif n'était pas de mesurer l'activité neurochimique immédiatement après la réponse de stress, parce que nous souhaitions observer un retour à la normale de l'activité de l'axe HHS afin de bien évaluer l'ensemble du profil neuroendocrinien relié à la réponse de stress. Compte tenu de la quantité de sang prélevé lors de ces trois prélèvements, il est important de mentionner que cette technique est une procédure fatale ce qui nous oblige à sacrifier les animaux le même jour. Ainsi, en attendant au minimum trois heures après le stress, ces mesures neurochimiques *post mortem* visent donc

davantage à démontrer les différences sexuelles en relation avec le H ou l'influence de l'expérience d'un stress répété plutôt que les conséquences neurochimique la réponse de stress en soi.

Les rats ont donc été décapités suivant une anesthésie rapide à l'halothane. Les cerveaux furent ensuite rapidement retirés et disséqués sur la glace, les régions furent séparées par hémisphère et congelées à -80°C pour des analyses subséquentes. Les régions prélevées comprennent le cortex préfrontal ventromédial ou infralimbique, IL, l'insula ou cortex viscérosensoriel, l'amygdale (les noyaux central, latéral et basolatéral), l'hippocampe dorsal (incluant le gyrus dentelé, et les régions CA1 et CA3) et le NAc (incluant le centre et le pourtour). Ces régions sont connues pour leur importance dans la régulation du stress et des émotions.

Lors de l'analyse, les échantillons furent d'abord pesés, décongelés et solubilisés par ultra sons dans 250, 500 ou 800 μl (dépendamment de la région) de 0.12 M d'acide perchlorique et de 9 μM de dihydroxybenzylamine (DHBA), utilisé comme standard interne. Les homogénats furent ensuite centrifugés à 10 800 rpm pendant 5 min. et les surnageants récoltés furent filtrés dans des filtres microcentrifuges de 22 μm (Fisher Sci). Des filtrats, 10 μl furent injectés dans le système ESA Coulochem III de chromatographie liquide à haute performance avec détection électrochimique (HPLC-EC) afin de déterminer les concentrations de DA, 5-HT et leurs principaux métabolites DOPAC et 5-HIAA. Ces échantillons furent purifiés à travers une colonne C18 (chaîne de 18 atomes de carbones) Haisil 100 en phase inversée et quantifiés avec une cellule de graphite coulométrique émettant un potentiel positif de 300mV. La phase mobile utilisée consiste en 12 % de méthanol, 0,09M d'acétate de sodium, 130 μM d' ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), 0.035 M d'acide citrique et 460 μM de sulfite heptane avec un

pH de 4,25. Le débit fut établi à 0.7 ml/min. Les concentrations ont été exprimées en pg ou ng/mg de tissue humide.

Analyses statistiques

Les mesures comportementales sont analysées par une anova utilisant le traitement (H/NH) x le sexe (M/F) comme facteurs. Les niveaux d'hormones de stress ont été analysés par une ANOVA avec les facteurs de traitement (H/NH) x de sexe (M/F) et de stress (A/R), avec des mesures répétées pour le temps d'échantillonnage (0, 20, 80 min). Les mesures régionales neurochimiques ont été analysées par la même ANOVA à trois voies avec l'hémisphère (D/G) comme un facteur intra sujet. Des analyses Post-hoc ont été pratiquées avec le test de *Student-Newman-Keuls* (with a level of significance of $\alpha < 0.05$). Des corrélations entre les mesures individuelles ont été examinées avec le test de coefficient de corrélation de *Pearson*.

ARTICLE SOUMIS À *NEUROSCIENCE*

**Gender differences in dopamine and serotonin function in relation to
stress and emotion regulation in the rat**

Apport original de l'étudiante à l'article présenté

La majorité des résultats obtenus dans cet article sont tirés d'expérimentations que j'ai effectués. J'ai participé activement à l'écriture du manuscrit en rédigeant entre autres une première version complète de l'article. Ainsi, il est possible d'affirmer que j'ai participé activement à toutes les phases de la production de l'article présenté et que mon apport a été majeur et essentiel à sa réalisation.

Résumé

L'incidence des troubles psychiatriques reliés au stress est particulièrement élevée chez les femmes, renforçant la nécessité de comprendre les déterminants neurobiologiques à l'origine de cette vulnérabilité. Cette étude a pour objectif de caractériser les différences sexuelles dans le comportement, l'activité de l'axe hypothalamo-hypophysaire – surrénale et la neurochimie *post-mortem* du rat, plus particulièrement des systèmes dopaminergique et sérotoninergique. Ainsi, des rats des deux sexes ont d'abord reçu un traitement de manipulations néonatales (H) ou n'ont reçu aucune manipulation (NH). À l'âge adulte, l'ensemble des animaux a été exposé à un bref stress d'immobilisation aigu ou répété. Les résultats révèlent que les femelles explorent davantage que les mâles dans le labyrinthe en croix surélevé et dans la boîte d'exploration avec des trous. Lors du stress d'immobilisation, les femelles, comparativement aux mâles, présentent des concentrations plasmatiques significativement plus élevées de corticotrophine (ACTH) et de corticoïdes à chaque temps d'échantillonnage. Aucune différence sexuelle n'a été observée dans l'habituation de la réponse de stress suivant une exposition répétée au même stresser. En général, les femelles ont de concentrations de dopamine (DA) et de sérotonine (5-HT) plus

importantes que les mâles, mais les mâles présentent des niveaux de métabolites et des ratios de métabolisation plus élevés, suggérant qu'ils utilisent davantage de neurotransmetteurs. Spécifiquement, les concentrations de DA du cortex préfrontal ventromédian (CPFvm), du cortex insulaire (insula) et du noyau accumbens de même que les concentrations de 5-HT dans le CPFvm, l'amygdale, l'hippocampe dorsale et l'insula sont plus importantes chez les femelles. Les mâles présentent des niveaux plus élevés du métabolite de la DA, DOPAC, ou du ratio DOPAC/DA que les femelles dans l'ensemble des régions. Il en va de même pour le métabolite de la 5-HT, 5-HIAA, et le ratio 5-HIAA/5-HT, à l'exception de l'hippocampe. Le H a produit peu d'effet sur le comportement et l'activité neuroendocrinienne, mais a entraîné une augmentation de la métabolisation de la 5-HT chez les mâles dans l'ensemble des régions à l'exception du noyau accumbens. Compte tenu de l'importance de la neurotransmission dopaminergique et sérotoninergique dans la régulation de la réponse de stress et des émotions, les importantes différences sexuelles rapportées dans cette étude sont fort probablement déterminantes dans l'observation de la vulnérabilité des femmes à développer des troubles relié à une dysfonction de la réponse de stress et des émotions.

Gender differences in dopamine and serotonin function in relation to stress and emotion regulation in the rat

Annie Duchesne, Marc M. Dufresne and Ron M. Sullivan¹

Centre de Recherche Fernand-Seguin
Département de Psychiatrie
Université de Montréal

No. Pages :
No. Figures : 3
No. Tables : 10

¹Corresponding Author :
Ron Sullivan PhD
Centre de Recherche Fernand-Seguin
7331 rue Hochelaga
Montréal, Québec
CANADA H1N 3V2
Phone : 514-251-4015
FAX : 514-251-2617
e-mail : 

Section Editor :
Behavioral Neuroscience
Dr. Gregory J. Quirk

Abbreviations

ACTH	Adrenocorticotrophic hormone
A	Acute (restraint stress)
CORT	Corticosterone
DA	Dopamine
DHBA	Dihydroxybenzylamine
DOPAC	3,4-dihydroxyphenylacetic acid
EPM	Elevated plus maze
F	Female
H	Handling or Handled
HPA	Hypothalamic-pituitary-adrenal axis
HPLC-E	High performance liquid chromatography- electrochemical detection
L	Left
M	Male
mRNA	Messenger ribonucleic acid
NE	Norepinephrine
NH	Nonhandling or Nonhandled
R	Repeated (restraint stress)
R	Right
vmPFC	Ventromedial prefrontal cortex
5-HT	5-hydroxytryptamine (serotonin)
5-HIAA	5-hydroxyindole acetic acid

Abstract

The incidence of stress-related psychopathology is particularly high in females, and there is an increasing urgency to understand the neurobiological substrates of this differential vulnerability. The present study examines gender differences in behaviour, hypothalamic-pituitary-adrenal axis function and *post mortem* neurochemistry in the rat, with a focus on dopamine (DA) and serotonin (5-HT) systems. Rats of both sexes received either postnatal handling or nonhandling treatments, and subgroups were examined following experience with acute or repeated mild restraint stress. Behaviourally, females were hyperexploratory in the elevated plus maze and an openfield/holeboard apparatus. Females also exhibited significantly higher levels of adrenocorticotrophic hormone and corticosterone at all time points relative to restraint stress than males across conditions, with no gender differences in neuroendocrine habituation to repeated stress. In general, females had significantly higher levels of both DA and 5-HT, while males had higher metabolite levels and turnover ratios, suggesting greater neurotransmitter utilization in males. Specifically, females had higher DA content in the ventromedial prefrontal cortex (vmPFC), insular cortex and n. accumbens, and higher 5-HT content in vmPFC, amygdala, dorsal hippocampus and insula. In contrast, males had higher levels of the DA metabolite DOPAC or DOPAC/DA ratios than females in all five regions examined. As well, males had higher levels of the 5-HT metabolite 5-HIAA or 5-HIAA/5-HT ratios in vmPFC, amygdala and insula, the only exception being 5-HIAA levels in hippocampus. Handling had minimal effects on behaviour or neuroendocrine function, yet resulted in a male-specific upregulation of 5-

HT metabolism in all regions except n. accumbens. Given the highly adaptive role of 5-HT and DAergic neurotransmission in stress and emotion regulation, the intrinsic and substantial gender differences we report in the functional status of these systems across numerous conditions, may be highly relevant to the differential vulnerability to disorders of stress and emotion regulation.

Keywords:

neuroendocrine
amygdala

exploratory behaviour
hippocampus

infralimbic
depression

Introduction

The incidence of stress-related psychiatric conditions like clinical depression, anxiety disorders and post-traumatic stress disorder, are approximately doubled in females compared to males (Kessler, 2003; Holden, 2005). Large scale studies have concluded that this gender discrepancy is not accounted for by a wide range of socio-demographic variables or by the number or type of social roles occupied (Weich *et al.*, 1998; Klose and Jacobi, 2004). What is certain, is that the male and female brain (be it human or rodent) differs generally on many levels, including anatomically, metabolically and neurochemically (Witelson, 1991; Witelson *et al.*, 1995; Murphy *et al.*, 1996; Biver *et al.*, 1996; Kaasinen *et al.*, 2002; Wager *et al.*, 2003; Hall *et al.*, 2004; Cahill, 2006; 2005), and specifically in the activational responses to emotional stimuli (Killgore *et al.*, 2001; 2004; Canli *et al.*, 2002; Kemp *et al.*, 2004; White *et al.*, 2005; Cahill 2005; Tranel *et al.*, 2005).

The hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis plays a central role in responding to and coping with stress. Clinical studies have shown HPA axis function to be sexually dimorphic in both normal and pathologic conditions such as major depressive disorder, as females have higher cortisol levels and are more resistant to HPA axis suppression with dexamethasone (Young, 1998; Klein and Corwin, 2002; Kudielka and Kirschbaum, 2005). In rats, gender differences have frequently been demonstrated in HPA axis function and in the behavioural responses to stressful or anxiety-provoking situations (Blanchard *et al.*, 1991; Bowman *et al.*, 2002; 2003; Karandrea *et al.*, 2002; 2000; Beiko *et al.*, 2004; Curtis *et al.*, 2006). Relative to males, females have higher levels of the plasma stress hormones adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone, and tend to be hyper-exploratory (Johnston and File 1991; Mendelson and McEwen, 1991;

Viau and Meaney, 1991; Imhof *et al.*, 1993; Burgess and Handa, 1993; Lunga and Herbert, 2004).

Central monoamine activity in limbic and cortical terminal regions also plays an integral role in the coordination of behavioural and physiological responses to stress, and in the adaptive maintenance of homeostasis. It is well known that the majority of pharmacotherapies in the treatment of stress-related psychopathology enhance serotonin (5-HT) neurotransmission specifically, and frequently norepinephrine (NE) and dopamine (DA) function as well. However, a number of studies have shown that these systems can exhibit sex differences in their functional nature and in response to various challenges (Carlsson *et al.*, 1985; Becker, 1999; Andersen and Teicher, 2000; Dluzen and McDermott, 2000).

Early life adversity is known to be a predisposing factor in the development of many stress-related psychopathologies like depression (Graham *et al.*, 1999; Heim *et al.*, 2004), as early life events are critically involved in the long-term programming of neuroendocrine systems and behaviour. For example, postnatal handling (H) stimulation facilitates the optimal development of central systems involved in stress and emotion regulation (Levine, 1957; Meaney *et al.*, 1991). There are a number of examples however, in which the long-term effects of early H treatments may show gender differences in terms of stress-related neurochemical and neuroendocrine measures (Papaiaounnou *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003; Panagiotaropoulos *et al.*, 2004; Severino *et al.*, 2004).

The aim of the present study is to systematically examine gender differences on a variety of behavioural, neuroendocrine and neurochemical endpoints, across a number of conditions. Males and females from both postnatally H and nonhandled (NH) treatments

are studied. As well, subgroups of rats are included which underwent either an acute mild restraint stress or five repeated restraint sessions (for stress-related neuroendocrine assessments), as we were interested in studying possible differences in the ability to habituate to repeated mild stress. Finally, we incorporated the factor of hemisphere in neurochemical measures of monoamine function across several key brain regions in stress and emotion regulation, as cerebral laterality can be a significant factor in stress/emotion processing, and functional lateralization itself, is strongly associated with early life stimulation (Denenberg, 1981; Sullivan, 2004; Sullivan and Dufresne, 2006).

Methods

All procedures in the present study conformed to the guidelines of the Canadian Council on Animal Care, with approval from the local hospital (Louis-H. Lafontaine) research ethics committee, while attempting to employ the minimum number of animals possible.

Animals and Neonatal Handling Procedure

Pregnant Long-Evans rats (Charles River, St. Constant, Québec, Canada) were acclimated to the animal facility for 7-10 days before giving birth, and maintained on a 12-h light/dark cycle with free access to food and water.

Following birth, litters were culled to a maximum of 12 pups per litter with roughly equal numbers of males and females. Litters were randomly assigned to either H or NH treatments. Neonatal H was performed daily for 14 days beginning the day after birth, between 10:00 and 11:00 hr as follows. First, the dams were removed to an adjacent cage lined with regular bedding. Pups were then removed from the homecage with the entire litter placed in a cage lined with paper towel for 15 min. Pups were then returned to the homecage, followed by the return of the dam. During this 14 day period, NH litters were left completely undisturbed except for cage maintenance conducted once on day 7.

Standard (biweekly) cage maintenance was resumed on day 15 and all animals were weaned on day 21 and pair housed with rats of the same sex and treatment condition until adulthood.

Elevated plus maze

Between 60-70 days of age, rats were videotaped for 5 min. in the elevated plus maze (EPM) to measure anxiety-like behaviour (Handley and McBlane, 1993; Pellow *et al.*, 1985). The test was performed between 10:00 and 14:00 hr under low light conditions to encourage open arm exploration. Each rat was placed in the center square of the maze facing an open arm. The primary measures of interest were time spent in the open and closed arms, ratio of time in open/closed arms, the number of entries in open and closed arms, as well as defensive stretch/attend behaviours. Entries were defined as having all four paws entering an arm of the maze.

Holeboard Testing

A week following plus maze testing, rat behaviour was videotaped for 10 min in a holeboard/openfield apparatus (100 x 100 x 50 cm) with a raised floor containing 9 equidistant holes (5 cm diameter). The total number of holes (1 center and 8 outer) actively investigated was recorded. The purpose of this test was twofold. First, this served as a behavioural indicator of the effectiveness of the H procedure, as we typically observe that H rats investigate significantly (approximately 30%) more holes than NH rats (eg. Sullivan and Dufresne, 2006). Second, this provided a measure of individual behavioural differences by which to rank rats within each treatment condition, so they could be alternately assigned to the subgroups described below, assuring that subgroups for stress testing were equivalent from a behavioural/activity baseline.

Acute and Repeated Restraint Stress

Rats from each of the four main conditions (H–males, H–females, NH–males, NH–females) were ranked from high to low on the basis of total holes explored in the above test, and alternately assigned to one of two subgroups receiving either acute (A) restraint or repeated (R) restraint testing. This resulted in a 2 x 2 x 2 study design with an n = 9-12 for each of the eight subgroups. Beginning the week following holeboard testing, rats in the acute condition were placed in plexiglas restrainers at room temperature for 20 min between 10:00 and 13:00 hr. Blood samples taken from the tail vein at 0, 20 and 80 min corresponding to pre- stress, peak stress and stress recovery time points. Rats in the repeated condition were similarly restrained for 20 min for 5 consecutive days with blood sampling only on the 5th day. Blood samples (100-150 µls) were collected at each time point within a 30 sec. period, placed on ice and centrifuged for 15 min at 2200 rpms. Plasma was frozen at -80°C for later determination of CORT and ACTH levels with commercially available radioimmunoassay kits (Medicor). The limits of detection in the assays for CORT and ACTH were 0.77 µgs/dl and 5.7 pgs/ml, respectively, both well below the range of the present samples.

Post mortem neurochemical analysis with HPLC

All rats were sacrificed 2 – 4 hrs following the last blood sampling (3-5 hrs post-restraint). The purpose of this timing was to allow the animals to return to a more baseline state following stress exposure, both in terms of stress hormone levels and neurotransmitter function (eg. Imperato *et al.*, 1992; 1993; Puglisi-Allegra, 1992). Rats were not sacrificed for neurochemical analysis immediately following restraint because we wished to obtain an important post-stress (1 hr recovery) blood sample as part of the stress-related neuroendocrine profile of all animals. Thus, by waiting at least 3 hrs after restraint, this *post mortem* neurochemical “snapshot” was intended to be more a

reflection of existing gender differences, treatment effects and the influence of repeated stress *experience*, than of neurochemical activity during stress *per se*.

Rats were decapitated following rapid halothane anesthesia and brains quickly removed and dissected on ice. Tissue samples were taken separately from the left and right brain structures and frozen at -80°C for future analysis. Regions of interest, of known importance in stress or emotion regulation, included the infralimbic or ventromedial prefrontal cortex (vmPFC), the insula or viscerosensory cortex, the amygdala (included central, lateral and basolateral nuclei), the dorsal hippocampus (included dentate gyrus, CA1, CA3 subregions), and the nucleus accumbens (included shell and core).

Samples were thawed, weighed and sonicated in 250, 500 or 800 μl s (depending on brain region) of 0.12 M perchloric acid and 9 pM dihydroxybenzylamine (DHBA) used as an internal standard. Homogenates were centrifuged at 10,800 rpm for 5 min. and supernatants were filtered through 22 μm microcentrifuge filters (Fisher Sci.). From the filtered supernatant, 10 μl s were injected into an ESA Coulochem III high performance liquid chromatography system with electrochemical detection (HPLC-EC) to determine the concentration of monoamines and major metabolites. Samples were run through a Haisil 100 reverse phase C18 column and analytes quantified with a graphite coulometric detector cell with a positive potential of 300 mV. Mobile phase consisted of 12% methanol, 0.09 M sodium acetate, 130 μM ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), 0.035 M citric acid and 460 μM sodium heptane sulfonate, with pH adjusted to 4.25. The flow rate was set at 0.7 ml/min. The compounds readily quantifiable under these conditions included DA, its major metabolite 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC),

5HT and its major metabolite 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA). Concentrations are expressed as pgs or ngs/mg wet tissue weight.

Statistical Analysis

Behavioural measures (prior to assignment to stress condition) were analysed using a Treatment (H/NH) x Sex (M/F) ANOVA. Neuroendocrine data were analysed using a Treatment (H/NH) x Sex (M/F) x Stress (A/R) ANOVA, with repeated measures on Sample (0, 20, 80 min). Regional neurochemical measures were similarly analysed by 3-factor ANOVA with the additional Within Subjects factor of Side (L/R). Post-hoc comparisons were conducted with Student-Newman-Keuls tests (with a level of significance of $\alpha < 0.05$). As well, correlations between individual measures were examined with Pearson's test of correlation coefficients.

Results

In the elevated plus maze, female rats spent significantly more time in the open arms than males and had a significantly higher ratio of open/closed time than males ($p < 0.05$ in both cases). However, as depicted in Fig. 1 (top), females were more active in general than males, as they not only had more open arm entries, but also more closed arm (and total) entries. No differences were found for stretch/attend behaviours. Moreover, H treatment was without effect on plus maze behaviours.

In the holeboard apparatus, females were once again more active than males (Fig. 1, bottom), both for the frequently explored outer holes and the more rarely explored center hole. The ratios of center/outer holes explored did not differ. Finally, H treatment did not significantly affect these measures, although it did tend to increase the total

number of holes explored ($p = 0.08$), in a manner similar to, but less pronounced than we have previously observed (Sullivan and Dufresne, 2006).

As expected, large gender differences in the plasma levels of ACTH and CORT were observed, as seen in Fig. 2. Females had significantly higher plasma levels of ACTH across samples (Sex Effect, $F_{(1,68)} = 19.0$, $p < 0.0005$) and similarly for CORT (Sex Effect, $F_{(1,74)} = 160.8$, $p < 0.0005$). For ACTH, there was also a main effect of Stress ($F_{(1,68)} = 6.72$, $p = 0.012$) as repeatedly restrained rats of both sexes showed habituated responses relative to acutely stressed rats. No such habituation was observed in the levels of CORT. There was however, a significant Sex x Sample interaction for CORT levels ($F_{(2,148)} = 11.48$, $p < 0.0005$) as females showed greater restraint stress-induced increases in CORT relative to pre-stress levels, than did males. (As always, there were huge main effects for Sample for ACTH and CORT, confirming the effectiveness of restraint in increasing levels of both). Finally and somewhat surprisingly, H treatment was without significant effects on HPA measures, although H rats did tend strongly to show habituated levels of ACTH relative to NH rats, in response to repeated restraint (Treatment x Stress interaction, $p = 0.06$). The direction of this interaction is also similar to, but less pronounced than that which we have previously reported (eg. Sullivan and Dufresne, 2006).

The extensive neurochemical data for all eight subgroups in the study is presented in table form, with Tables 1-5 corresponding to each of the five brain regions examined. Each is accompanied by a summary table describing all statistically significant main effects and interactions, and the nature or direction of these effects. By far, the strongest of these effects were main effects of Sex. In general, some highly consistent patterns

emerged across brain regions. With few exceptions females had higher tissue levels of DA and 5-HT, while males had much higher levels of metabolites and turnover ratios.

Specifically, females had higher 5-HT content in vmPFC, amygdala, dorsal hippocampus and insular cortex, and higher DA content in vmPFC, insula and n. accumbens. In contrast, males had higher levels of DOPAC or DOPAC/DA ratios than females in all regions examined. Males also had higher 5-HIAA levels or 5-HIAA/5-HT ratios in vmPFC, amygdala and insula, the only exception being 5-HIAA levels in hippocampus which were female biased. There were also numerous lateralized (Side) effects, but in most cases, these did not interact with Sex.

A particularly interesting pattern emerged as a function of H treatment, as depicted in Fig. 3. Serotonin metabolite levels and/or turnover ratios were selectively enhanced by H in males, but not females, in all brain regions except n. accumbens where there were no effects of any kind on 5-HT function. This gender-specific H effect was not seen in DAergic systems.

Finally, given the enormous number of possible correlations between neurochemical, behavioural and neuroendocrine measures within all the subgroups, not surprisingly a huge number were statistically significant. Briefly stated, the strongest correlations and most consistent patterns indicated that both DA and 5-HT metabolite levels or turnover ratios in vmPFC, amygdala, hippocampus and insula, were *negatively* correlated with ACTH and CORT levels. In contrast, when such metabolism measures in n. accumbens were significantly correlated with stress hormone levels, the direction was *positive*. This pattern held true for both sexes. Frequently however, such correlations would be particularly strong in either the left or right hemisphere for a given region, and

the prominent hemisphere in these functional correlations was often different in males and females.

Discussion

The present results show that male and female rats differ greatly in the functional nature of DA and 5-HT systems across several brain regions involved in stress and emotion regulation. In general, females have higher monoamine tissue content, but males have higher levels of metabolites and by inference, greater transmitter utilization. This pattern was particularly evident for DA systems across regions, with that of 5-HT being somewhat more variable, at least in hippocampus and nucleus accumbens. This pattern was generally independent of experience with repeated mild stress. However, H treatment appeared to exert a gender-specific upregulation of 5-HT metabolism in males across numerous regions.

In this relatively large, multifactorial study we did not control for stages of estrous within females. It is well known however, that ovarian hormones can significantly modulate the neurochemical systems under investigation (Burgess and Handa, 1992; Marcondes *et al.*, 2001; Frye *et al.*, 2000; Rhodes and Frye, 2001; Figueiredo *et al.*, 2002; Lunga and Herbert, 2004). A variety of effects of ovarian hormonal actions have been observed on serotonergic measures in hippocampus, raphe nuclei and hypothalamus in the rat and monkey (Jackson and Uphouse, 1998; Pecins-Thompson and Bethea, 1999; Lu and Bethea, 2002; Lu *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2005). Estrogens or estradiol are also known to facilitate DAergic neurotransmission in regions such as dorsal striatum, nucleus accumbens and amygdala, especially upon pharmacological challenge or during conditions of neural activation (Morissette and Di Paolo, 1993; Thompson and Moss, 1997; Becker, 2000; Liu and Xie, 2004; Thompson

and Certain, 2005). The present *post mortem* measures most likely reflect a more basal functional state, as opposed to a more activational state associated with the immediate experience of a stressor. As well, the variation in our neurochemical measures within our female groups was certainly no greater than within the male groups. This suggests that while some influence of ovarian hormones certainly cannot be ruled out, estrous cyclicity is not likely to have contributed substantially to the large gender effects we report in *post mortem* tissue measures.

The relative lack of H effects in behavioural and neuroendocrine measures was somewhat surprising. Many studies have reported that postnatal H (particularly in male rats) results in long-term adaptive changes reflected in increased exploratory behaviour, reduced anxiety-like behaviours, attenuated stress-induced increases in ACTH and CORT, more efficient negative feedback regulation and enhanced habituation to repeated mild stress (Levine 1962; Meaney *et al.*, 1985; Plotsky and Meaney, 1993; Nunez *et al.*, 1996; Vallée *et al.*, 1997; Meerlo, *et al.*, 1999; Panagiotaropoulos, *et al.*, 2004; Sullivan and Dufresne, 2006). These H effects are mediated or modulated (see Tang *et al.*, 2006) in part by the increases in maternal behaviours which the treatment stimulates such as licking/grooming and arched back nursing (Levine, 1967; Plotsky and Meaney, 1993; Liu *et al.*, 1997). There exists a natural and individually stable variation in the extent of maternal care provided by dams. Since we did not confirm differences in maternal care with detailed observations during the H period, it is possible that uneven distribution of naturally high or low maternal care dams in the H and NH treatments may have diminished the usual H effects. It should be noted however, that H rats tended nonsignificantly to show both the expected habituation of the ACTH response to repeated restraint stress, relative to NH rats, as well as enhanced holeboard/openfield exploration.

What is important to emphasize, is that even in the absence of the typically strong H effects on exploratory behaviour and neuroendocrine function, the treatment was nonetheless sufficient to induce gender-specific and highly consistent neurochemical changes in 5-HT function in numerous terminal regions.

As expected, we observed (Fig. 2) pronounced gender differences in stress hormone levels, as females had significantly higher levels of CORT and ACTH at all time points (see also Mendelson and McEwen, 1991; Viau and Meaney 1991; Burgess and Handa, 1992; Lunga and Herbert, 2004). As well, females in general, showed larger CORT increases in response to stress than males, consistent with earlier findings (Kant *et al.*, 1983; Weinstock *et al.*, 1998). However, we observed similar habituation in ACTH levels to repeated stress in both males and females, while neither sex showed habituated CORT responses. Depending upon the paradigm employed (chronicity or severity of repeated stress), gender differences have been described in various stress-related measures of habituation (Kennett *et al.*, 1986; Karandrea *et al.*, 2002; Figueiredo *et al.*, 2003; Bowman *et al.*, 2004). However, with the present relatively mild stress paradigm, no such gender differences in habituation were observed, as gender differences in stress hormone levels were maintained across conditions.

Behaviourally, females were more active than males in both tests employed. In the EPM, females additionally spent more time in the open arms than males, as previously reported (Zimmerberg *et al.*, 1993; Marcondes *et al.*, 2001; Dominguez *et al.*, 2003). While this may seem paradoxical in the present context, as open arm exploration normally reflects *reduced* anxiety, it should be noted that the use of the EPM to specifically assess anxiety has only been well validated in males and not females (Pellow *et al.*, 1985, Palanza, 2001). Other tests of anxiety like the Vogel conflict test, do suggest

that females are more anxious than males, while in the EPM the gender differences may reflect general activity differences contributing to greater activity in females (Johnston and File, 1991).

The neurochemical data (Tables 1 – 5) revealed numerous examples of hemispheric asymmetries as expected, although in general these Side effects did not interact with gender (except for hippocampal 5-HT and 5-HIAA, Table 3B). Functional cerebral asymmetries are known to be stimulated by, or dependent upon, a critical level of postnatal stimulation or by H (Denenberg 1981; Sullivan and Dufresne, 2006). As well, a number of gender differences have been reported in response to early life manipulations in the nature and direction of various types of cerebral asymmetries (Ross *et al.*, 1981; Camp *et al.*, 1984; Fleming *et al.*, 1986; Diamond, 1991; Clark *et al.*, 1998; Kristofikova *et al.*, 2004; Akers *et al.*, 2004). Since our H effects were not as strong as usual, this may have precluded the demonstration of more pronounced neurochemical asymmetries, and of potential gender differences in the nature of such asymmetries.

By far however, the most significant effects seen in the present study were the general sex differences in tissue monoamine content (female biased), metabolite levels and turnover ratios (male biased), which appear to be larger and more consistent in direction across several brain regions than in previous studies (Camp and Robinson, 1988; Tanila *et al.*, 1994; Beck and Luine, 2002; Papaioannou *et al.*, 2002; Bisagno *et al.*, 2003; Bowman *et al.*, 2004). Part of these differences, is undoubtedly due to methodological variations, particularly the experiential history of the animals, which ranges from minimal in some cases (Camp and Robinson, 1988; Tanila *et al.* 1994; Bisagno *et al.*, 2003) to more severe chronic stress paradigms in others (Beck and Luine, 2002; Bowman *et al.*, 2004). Our animals all had mild stress experience, including

spontaneous behavioural assessments and brief restraint stress. Even in the repeatedly stressed groups, these animals show neuroendocrine adaptation, attesting to the relatively mild nature of their experiences. In a sense, the reported results may be somewhat representative of 'real-life' (gender) differences consequent to a mild or manageable degree of stress experience.

On the surface, our results may seem to suggest that in most regions examined, males are simply utilizing more DA (or 5-HT) stores, presumably via enhanced release, reuptake and conversion to metabolites, than are females. However, other studies point to a more complicated scenario. For example, at least in the nigrostriatal system, females release *more* DA than males in response to amphetamine or electrical stimulation (Walker *et al.*, 2000; Becker, 1999). We also have observed that stress-induced increases in extracellular DA release in IL cortex appears to be greater in females than males (unpubl. observations). While this is consistent with the higher tissue content of neurotransmitter we observe, it does not explain why females have lower metabolite levels or turnover ratios. Given that DA conversion to DOPAC is primarily intracellular following reuptake, differences in reuptake kinetics may partially explain the gender differences. Some studies have reported that estrogen reduces DA reuptake or DA transporter (DAT) sensitivity (Thompson 1999; Thompson and Certain 2005; Disshon *et al.*, 1998), and that females in general, are more resistant to neurotoxic damage with 6-hydroxydopamine which is taken up by DAT (Dluzen 1997). Others however, have reported that female rats have greater uptake and density of striatal DAT compared to males (Walker *et al.*, 2000; Morissette and Di Paolo, 1993).

Another possibility is that females preferentially metabolize DA to homovanillic acid (HVA) rather than DOPAC. Our protocol did not allow us to reliably

quantify HVA in all cases, other than *n. accumbens* (data not shown). In the latter case however, females also tended to have lower HVA levels than males, just as with DOPAC, so we think that alternate metabolism is unlikely to explain the present results.

Additional mechanisms may account for these gender differences, particularly in most of the terminal regions we examined, where DAergic function is less tightly self-regulated by DAT and autoreceptors, than say in striatum (Madras *et al.*, 2005). In PFC, the NE transporter (NET) is significantly involved in regulating extracellular DA levels and clearance (Moron *et al.*, 2002; Devoto *et al.*, 2004). Moreover, females reportedly have higher NET levels than males in PFC (Vathy *et al.*, 1997; Duchesne *et al.*, 2006). As such, extracellular DA in such regions may be cleared more rapidly in females, with males having relatively more reuptake into DAergic terminals than females, hence the higher DOPAC levels we observe.

Gender effects have also been reported in 5-HT systems. Consistent with our findings, females have been shown to have higher tissue concentrations of 5-HT in a number of regions including hippocampus, frontal cortex, hypothalamus and striatum (Carlsson *et al.*, 1985; Carlsson and Carlsson, 1988; Haleem *et al.*, 1990; Papaioannou *et al.*, 2002; Beck and Luine, 2002; Droussopoulou *et al.* 2004). However, some studies have also found females to have higher 5-HIAA levels than males (eg. Carlsson *et al.*, 1985; Carlsson and Carlsson, 1988; Haleem *et al.*, 1990). In our study, females only showed higher 5-HIAA levels only in hippocampus (despite males having a higher turnover ratio there), with males having higher 5-HIAA levels and turnover ratios in amygdala and cortical regions. Females are also reported to be behaviourally more sensitive to serotonergic challenge than males (Carlsson *et al.*, 1985; Dickinson and Curzon, 1986; Blanchard *et al.*, 1991; Haleem *et al.*, 1990; Biegon *et al.*, 1979). Human

imaging studies have suggested that the 5-HT synthesis rate is more than 50% greater in males than females (Sakai *et al.*, 2006; Nishizawa *et al.*, 1997) and that the same measure of 5-HT synthesis in cortex is negatively correlated with severe depression or suicidal behaviour (Leyton *et al.*, 2006). Moreover, in rats the spontaneous firing rate of dorsal raphe neurons in males is more than 40% higher than in freely cycling females (Klink *et al.*, 2002). This pattern would appear to be consistent with the present scenario with males having higher metabolite levels or turnover ratios in most of the terminal regions examined, suggesting generally higher functional activity in the male 5-HT systems.

One of the most notable result of the present findings is that our H treatment (whose typical effects were very mild at best), still resulted in significant upregulation of 5-HT metabolism in males and not females (Fig. 3). H has previously been shown to increase 5-HT turnover in the frontal cortex and hippocampus of neonates, but not adults (Smythe *et al.*, 1994). It is possible that the mild behavioural and stress experience of our adult animals unmasked this latent H effect on 5-HT function, and most interestingly only in males. Recently, a similar sexually dimorphic effect of early H was described in the adult hippocampus, as 5-HT_{1A} receptor mRNA was increased in H males, but decreased in H females (Stamatakis *et al.*, 2006). Such findings may help explain how H exerts typically adaptive effects in males in terms of neuroendocrine function, behaviour and neurochemistry, yet the same treatment can have deleterious long-term effects in females, enhancing vulnerability to depression-like behaviour or causing neuroendocrine hyperfunction (Papaioannou *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003; Panagiotaropoulos *et al.*, 2004). Moreover, under the present conditions, we revealed that the gender-specific H effects on 5-HT function were indeed more widespread across key corticolimbic regions than previously reported.

DAergic measures, despite showing large gender differences, did not show any gender-specific effects of H. While DAergic function can certainly be affected by H treatments or differences in early maternal care (Zhang *et al.*, 2005; Sullivan and Dufresne 2006), the present findings suggest that these neonatal influences on developing serotonergic systems may be more sexually dimorphic in nature than on developing DAergic systems.

The precise mechanisms mediating the described neurochemical gender differences are not clear. For example, it is not certain whether the elevated metabolite levels or turnover ratios generally seen in males, actually reflect greater (post)synaptic actions and/or utilization of these neurotransmitters. Regardless of the specific mechanism(s) at play however, these metabolite and turnover measures (in cortical regions, amygdala and hippocampus) were significantly and consistently associated with reduced stress hormone levels (see results text). The adaptive role of serotonergic neurotransmission in stress and emotion regulation is the cornerstone of antidepressant pharmacotherapy, and DAergic systems (particularly in PFC and amygdala) are extremely important in coping with stress, adapting to changing conditions and protecting against stress-related pathology (Ray and Henke, 1991; reviewed in Sullivan, 2004; Sullivan and Dufresne, 2006). It thus appears that at least under some conditions, intrinsic gender differences in the functional status of 5-HT and DAergic systems, may confer differential vulnerability to disorders of stress and emotion regulation. A goal of future studies will be to refine our understanding of these differences, with the realization that optimal therapies for such disorders may require gender-specific approaches based on this knowledge.

Acknowledgements

Portions of this work were supported by the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) and the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (FRSQ). R.M.S. is holder of a Chercheur Boursier salary award of the FRSQ. This work was also supported by an award to A.D. from the Comité permanent sur le statut de la femme.

References

- Akers KG, Reeb BC, Tang AC, 2004. Developmentally stable sex-dependent modulation of turning asymmetry by neonatal novelty exposure. *Behav. Brain Res.* 155: 257-263.
- Andersen SL, Teicher MH, 2000. Sex differences in dopamine receptors and their relevance to ADHD. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 24: 137-141.
- Andrade TG, Nakamuta JS, Avanzi V, Graeff FG, 2005. Anxiolytic effect of estradiol in the median raphe nucleus mediated by 5-HT1A receptors. *Behav. Brain Res.* 163: 18-25.
- Beck KD, Luine VN, 2002. Sex differences in behavioral and neurochemical profiles after chronic stress: role of housing conditions. *Physiol Behav.* 75: 661-673.
- Becker JB, 1999. Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 64: 803-812.
- Becker JB, 2000. Oestrogen effects on dopaminergic function in striatum. *Novartis. Found. Symp.* 230: 134-145.
- Beiko J, Lander R, Hampson E, Boon F, Cain DP, 2004. Contribution of sex differences in the acute stress response to sex differences in water maze performance in the rat. *Behav. Brain Res.* 151: 239-253.
- Biegan A, Segal M, Samuel D, 1979. Sex differences in behavioral and thermal responses to pargyline and tryptophan. *Psychopharmacology (Berl)* 61: 77-80.
- Bisagno V, Ferguson D, Luine VN, 2003. Chronic D-amphetamine induces sexually dimorphic effects on locomotion, recognition memory, and brain monoamines. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 74: 859-867.
- Biver F, Lotstra F, Monclus M, Wikler D, Damhaut P, Mendlewicz J, Goldman S, 1996. Sex difference in 5HT2 receptor in the living human brain. *Neurosci. Lett.* 204: 25-28.
- Blanchard DC, Shepherd JK, De Padua CA, Blanchard RJ, 1991. Sex effects in defensive behavior: baseline differences and drug interactions. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 15: 461-468.

Bowman RE, Ferguson D, Luine VN, 2002. Effects of chronic restraint stress and estradiol on open field activity, spatial memory, and monoaminergic neurotransmitters in ovariectomized rats. *Neuroscience* 113: 401-410.

Bowman RE, Beck KD, Luine VN, 2003. Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity. *Horm. Behav.* 43: 48-59.

Bowman RE, MacLusky NJ, Sarmiento Y, Frankfurt M, Gordon M, Luine VN, 2004. Sexually dimorphic effects of prenatal stress on cognition, hormonal responses, and central neurotransmitters. *Endocrinology* 145: 3778-3787.

Burgess LH, Handa RJ, 1992. Chronic estrogen-induced alterations in adrenocorticotropin and corticosterone secretion, and glucocorticoid receptor-mediated functions in female rats. *Endocrinology* 131: 1261-1269.

Cahill L, 2005. His brain, her brain. *Sci. Am.* 292: 40-47.

Cahill L, 2006. Why sex matters for neuroscience. *Nat. Rev. Neurosci.* 7: 477-484.

Camp DM, Robinson TE, Becker JB, 1984. Sex differences in the effects of early experience on the development of behavioral and brain asymmetries in rats. *Physiol Behav.* 33: 433-439.

Camp DM, Robinson TE, 1988. Susceptibility to sensitization. I. Sex differences in the enduring effects of chronic D-amphetamine treatment on locomotion, stereotyped behavior and brain monoamines. *Behav. Brain Res.* 30: 55-68.

Canli T, Desmond JE, Zhao Z, Gabrieli JD, 2002. Sex differences in the neural basis of emotional memories. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 99: 10789-10794.

Carlsson M, Svensson K, Eriksson E, Carlsson A, 1985. Rat brain serotonin: biochemical and functional evidence for a sex difference. *J. Neural Transm.* 63: 297-313.

- Carlsson M, Carlsson A, 1988. A regional study of sex differences in rat brain serotonin. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 12: 53-61.
- Clark MM, Santamaria BT, Robertson RK, Galef BG, Jr., 1998. Effects of gonadectomy in infancy and adulthood on handedness in male and female Mongolian gerbils. *Behav. Neurosci.* 112: 1026-1029.
- Curtis AL, Bethea T, Valentino RJ, 2006. Sexually dimorphic responses of the brain norepinephrine system to stress and corticotropin-releasing factor. *Neuropsychopharmacology* 31: 544-554.
- Denenberg V.H. Hemispheric laterality in animals and the effects of early experience. *Behav. Brain Sci.* 1981, (4): 1-49.
- Devoto P, Flore G, Pira L, Longu G, Gessa GL, 2004. Mirtazapine-induced corelease of dopamine and noradrenaline from noradrenergic neurons in the medial prefrontal and occipital cortex. *Eur. J. Pharmacol.* 487: 105-111.
- Diamond MC, 1991. Hormonal effects on the development or cerebral lateralization. *Psychoneuroendocrinology* 16: 121-129.
- Dickinson SL, Curzon G, 1986. 5-Hydroxytryptamine-mediated behaviour in male and female rats. *Neuropharmacology* 25: 771-776.
- Disshon KA, Boja JW, Dluzen DE, 1998. Inhibition of striatal dopamine transporter activity by 17beta-estradiol. *Eur. J. Pharmacol.* 345: 207-211.
- Dluzen D, 1997. Estrogen decreases corpus striatal neurotoxicity in response to 6-hydroxydopamine. *Brain Res.* 767: 340-344.
- Dluzen DE, McDermott JL, 2000. Gender differences in neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system: implications for Parkinson's disease. *J. Gen. Specif. Med.* 3: 36-42.
- Dominguez R, Cruz-Morales SE, Carvalho MC, Xavier M, Brandao ML, 2003. Sex differences in serotonergic activity in dorsal and median raphe nucleus. *Physiol Behav.* 80: 203-210.

Drossopoulou G, Antoniou K, Kitraki E, Papathanasiou G, Papalexi E, Dalla C, Papadopoulou-Daifoti Z, 2004. Sex differences in behavioral, neurochemical and neuroendocrine effects induced by the forced swim test in rats. *Neuroscience* 126: 849-857.

Duchesne A, Dufresne MM, Sullivan RM, 2006. Poster presentation during the 36^e congress of the Society for Neuroscience.

Figueiredo HF, Dolgas CM, Herman JP, 2002. Stress activation of cortex and hippocampus is modulated by sex and stage of estrus. *Endocrinology* 143: 2534-2540.

Fleming DE, Anderson RH, Rhees RW, Kinghorn E, Bakaitis J, 1986. Effects of prenatal stress on sexually dimorphic asymmetries in the cerebral cortex of the male rat. *Brain Res. Bull.* 16: 395-398.

Frye CA, Petralia SM, Rhodes ME, 2000. Estrous cycle and sex differences in performance on anxiety tasks coincide with increases in hippocampal progesterone and 3alpha,5alpha-THP. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 67: 587-596.

Graham YP, Heim C, Goodman SH, Miller AH, Nemeroff CB, 1999. The effects of neonatal stress on brain development: implications for psychopathology. *Dev. Psychopathol.* 11: 545-565.

Haleem DJ, Kennett GA, Curzon G, 1990. Hippocampal 5-hydroxytryptamine synthesis is greater in female rats than in males and more decreased by the 5-HT1A agonist 8-OH-DPAT. *J. Neural Transm. Gen. Sect.* 79: 93-101.

Hall, GB, Witelson, SF, Szechtman, H and Nahmias, C (2004) Sex differences in functional activation patterns revealed by increased emotion processing demands. *Neuroreport.* 15(2):219-23.

Handley SL, McBlane JW, 1993. An assessment of the elevated X-maze for studying anxiety and anxiety-modulating drugs. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 29: 129-138.

Heim C, Plotsky PM, Nemeroff CB, 2004. Importance of studying the contributions of early adverse experience to neurobiological findings in depression. *Neuropsychopharmacology* 29: 641-648.

Holden C, 2005. Sex and the suffering brain. *Science* 308: 1574.

Imhof JT, Coelho ZM, Schmitt ML, Morato GS, Carobrez AP, 1993. Influence of gender and age on performance of rats in the elevated plus maze apparatus. *Behav. Brain Res.* 56: 177-180.

Imperato A, Puglisi-Allegra S, Grazia SM, Casolini P, Bacchi S, Angelucci L, 1992. Cortical and limbic dopamine and acetylcholine release as neurochemical correlates of emotional arousal in both aversive and non-aversive environmental changes. *Neurochem. Int.* 20 Suppl: 265S-270S.

Imperato A, Cabib S, Puglisi-Allegra S, 1993. Repeated stressful experiences differently affect the time-dependent responses of the mesolimbic dopamine system to the stressor. *Brain Res.* 601: 333-336.

Jackson A, Uphouse L, 1998. Dose-dependent effects of estradiol benzoate on 5-HT_{1A} receptor agonist action. *Brain Res.* 796: 299-302.

Johnston AL, File SE, 1991. Sex differences in animal tests of anxiety. *Physiol Behav.* 49: 245-250.

Kaasinen V, Kemppainen N, Nagren K, Helenius H, Kurki T, Rinne JO, 2002. Age-related loss of extrastriatal dopamine D(2) -like receptors in women. *J. Neurochem.* 81: 1005-1010.

Kant GJ, Lenox RH, Bunnell BN, Mougey EH, Pennington LL, Meyerhoff JL, 1983. Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology* 8: 421-428.

Karandrea D, Kittas C, Kitraki E, 2000. Contribution of sex and cellular context in the regulation of brain corticosteroid receptors following restraint stress. *Neuroendocrinology* 71: 343-353.

Karandrea D, Kittas C, Kitraki E, 2002. Forced swimming differentially affects male and female brain corticosteroid receptors. *Neuroendocrinology* 75: 217-226.

Kemp AH, Silberstein RB, Armstrong SM, Nathan PJ, 2004. Gender differences in the cortical electrophysiological processing of visual emotional stimuli. *Neuroimage.* 21: 632-646.

Kennett GA, Chaouloff F, Marcou M, Curzon G, 1986. Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression: the possible role of serotonin. *Brain Res.* 382: 416-421.

- Kessler RC, 2003. Epidemiology of women and depression. *J. Affect. Disord.* 74: 5-13.
- Killgore WD, Yurgelun-Todd DA, 2001. Sex differences in amygdala activation during the perception of facial affect. *Neuroreport* 12: 2543-2547.
- Killgore WD, Yurgelun-Todd DA, 2004. Sex-related developmental differences in the lateralized activation of the prefrontal cortex and amygdala during perception of facial affect. *Percept. Mot. Skills* 99: 371-391.
- Klein LC, Corwin EJ, 2002. Seeing the unexpected: how sex differences in stress responses may provide a new perspective on the manifestation of psychiatric disorders. *Curr. Psychiatry Rep.* 4: 441-448.
- Klink R, Robichaud M, Debonnel G, 2002. Gender and gonadal status modulation of dorsal raphe nucleus serotonergic neurons. Part II. Regulatory mechanisms. *Neuropharmacology* 43: 1129-1138.
- Klose M, Jacobi F, 2004. Can gender differences in the prevalence of mental disorders be explained by sociodemographic factors? *Arch. Womens Ment. Health* 7: 133-148.
- Kristofikova Z, Stastny F, Bubenikova V, Druga R, Klaschka J, Spaniel F, 2004. Age- and sex-dependent laterality of rat hippocampal cholinergic system in relation to animal models of neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Neurochem. Res.* 29: 671-680.
- Kudielka BM, Kirschbaum C, 2005. Sex differences in HPA axis responses to stress: a review. *Biol. Psychol.* 69: 113-132.
- Levine S, Alpert M, Lewis GW, 1957. Infantile experience and the maturation of the pituitary adrenal axis. *Science* 126: 1347.
- Levine S, 1967. Maternal and environmental influences on the adrenocortical response to stress in weanling rats. *Science* 156: 258-260.

- Leyton M, Paquette V, Gravel P, Rosa-Neto P, Weston F, Diksic M, Benkelfat C, 2006. alpha-[11C]Methyl-L-tryptophan trapping in the orbital and ventral medial prefrontal cortex of suicide attempters. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 16: 220-223.
- Liu B, Xie J, 2004. Increased dopamine release in vivo by estradiol benzoate from the central amygdaloid nucleus of Parkinson's disease model rats. *J. Neurochem.* 90: 654-658.
- Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ, 1997. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277: 1659-1662.
- Lu NZ, Bethea CL, 2002. Ovarian steroid regulation of 5-HT1A receptor binding and G protein activation in female monkeys. *Neuropsychopharmacology* 27: 12-24.
- Lu NZ, Eshleman AJ, Janowsky A, Bethea CL, 2003. Ovarian steroid regulation of serotonin reuptake transporter (SERT) binding, distribution, and function in female macaques. *Mol. Psychiatry* 8: 353-360.
- Lunga P, Herbert J, 2004. 17Beta-oestradiol modulates glucocorticoid, neural and behavioural adaptations to repeated restraint stress in female rats. *J. Neuroendocrinol.* 16: 776-785.
- Madras BK, Miller GM, Fischman AJ, 2005. The dopamine transporter and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol. Psychiatry* 57: 1397-1409.
- Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL, Spadari-Bratfisch RC, 2001. Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav.* 74: 435-440.
- Meaney MJ, Aitken DH, Bodnoff SR, Iny LJ, Tatarewicz JE, Sapolsky RM, 1985. Early postnatal handling alters glucocorticoid receptor concentrations in selected brain regions. *Behav. Neurosci.* 99: 765-770.
- Meaney MJ, Mitchell JB, Aitken DH, Bhatnagar S, Bodnoff SR, Iny LJ, Sarrieau A, 1991. The effects of neonatal handling on the development of the adrenocortical response to stress: implications for neuropathology and cognitive deficits in later life. *Psychoneuroendocrinology* 16: 85-103.

- Meerlo P, Horvath KM, Nagy GM, Bohus B, Koolhaas JM, 1999. The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. *J. Neuroendocrinol.* 11: 925-933.
- Mendelson SD, McEwen BS, 1991. Autoradiographic analyses of the effects of restraint-induced stress on 5-HT_{1A}, 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptors in the dorsal hippocampus of male and female rats. *Neuroendocrinology* 54: 454-461.
- Morissette M, Di Paolo T, 1993. Sex and estrous cycle variations of rat striatal dopamine uptake sites. *Neuroendocrinology* 58: 16-22.
- Moron JA, Brockington A, Wise RA, Rocha BA, Hope BT, 2002. Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. *J. Neurosci.* 22: 389-395.
- Murphy JF, Hepworth JT, 1996. Age and gender differences in health services utilization. *Res. Nurs. Health* 19: 323-329.
- Nishizawa S, Benkelfat C, Young SN, Leyton M, Mzengeza S, de MC, Blier P, Diksic M, 1997. Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 94: 5308-5313.
- Nunez JF, Ferre P, Escorihuela RM, Tobena A, Fernandez-Teruel A, 1996. Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis, and prolactin reactivity to novelty and conflict. *Physiol Behav.* 60: 1355-1359.
- Palanza P, 2001. Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci. Biobehav. Rev.* 25: 219-233.
- Panagiotaropoulos T, Pondiki S, Papaioannou A, Alikaridis F, Stamatakis A, Gerozissis K, Stylianopoulou F, 2004. Neonatal handling and gender modulate brain monoamines and plasma corticosterone levels following repeated stressors in adulthood. *Neuroendocrinology* 80: 181-191.

- Papaioannou A, Dafni U, Alikaridis F, Bolaris S, Stylianopoulou F, 2002. Effects of neonatal handling on basal and stress-induced monoamine levels in the male and female rat brain. *Neuroscience* 114: 195-206.
- Park MK, Hoang TA, Belluzzi JD, Leslie FM, 2003. Gender specific effect of neonatal handling on stress reactivity of adolescent rats. *J. Neuroendocrinol.* 15: 289-295.
- Pecins-Thompson M, Bethea CL, 1999. Ovarian steroid regulation of serotonin-1A autoreceptor messenger RNA expression in the dorsal raphe of rhesus macaques. *Neuroscience* 89: 267-277.
- Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M, 1985. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Methods* 14: 149-167.
- Plotsky PM, Meaney MJ, 1993. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 18: 195-200.
- Puglisi-Allegra S, Cabib S, 1992. Genotype-dependent adaptation of mesolimbic dopamine system and stress-induced behavioral sensitization to amphetamine. *Clin. Neuropharmacol.* 15 Suppl 1 Pt A: 251A-252A.
- Ray A, Henke PG, 1991. The basolateral amygdala, dopamine and gastric stress ulcer formation in rats. *Brain Res.* 558: 335-338.
- Rhodes ME, Frye CA, 2001. Inhibiting progesterone metabolism in the hippocampus of rats in behavioral estrus decreases anxiolytic behaviors and enhances exploratory and antinociceptive behaviors. *Cogn Affect. Behav. Neurosci.* 1: 287-296.
- Sakai Y, Nishikawa M, Leyton M, Benkelfat C, Young SN, Diksic M, 2006. Cortical trapping of alpha-[(11)C]methyl-l-tryptophan, an index of serotonin synthesis, is lower in females than males. *Neuroimage.* 33: 815-824.

Severino GS, Fossati IA, Padoin MJ, Gomes CM, Trevizan L, Sanvitto GL, Franci CR, nselmo-Franci JA, Lucion AB, 2004. Effects of neonatal handling on the behavior and prolactin stress response in male and female rats at various ages and estrous cycle phases of females. *Physiol Behav.* 81: 489-498.

Smythe JW, Rowe WB, Meaney MJ, 1994. Neonatal handling alters serotonin (5-HT) turnover and 5-HT₂ receptor binding in selected brain regions: relationship to the handling effect on glucocorticoid receptor expression. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 80: 183-189.

Stamatakis A, Mantelas A, Papaioannou A, Pondiki S, Fameli M, Stylianopoulou F, 2006. Effect of neonatal handling on serotonin 1A sub-type receptors in the rat hippocampus. *Neuroscience* 140: 1-11.

Sullivan RM, Szechtman H, 1995. Asymmetrical influence of mesocortical dopamine depletion on stress ulcer development and subcortical dopamine systems in rats: implications for psychopathology. *Neuroscience* 65: 757-766.

Sullivan RM, 2004. Hemispheric asymmetry in stress processing in rat prefrontal cortex and the role of mesocortical dopamine. *Stress.* 7: 131-143.

Sullivan RM, Dufresne MM, 2006. Mesocortical dopamine and HPA axis regulation: role of laterality and early environment. *Brain Res.* 1076: 49-59.

Tang AC, Akers KG, Reeb BC, Romeo RD, McEwen BS, 2006. Programming social, cognitive, and neuroendocrine development by early exposure to novelty. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103: 15716-15721.

Tanila H, Taira T, Piepponen TP, Honkanen A, 1994. Effect of sex and age on brain monoamines and spatial learning in rats. *Neurobiol. Aging* 15: 733-741.

Thompson TL, Moss RL, 1997. Modulation of mesolimbic dopaminergic activity over the rat estrous cycle. *Neurosci. Lett.* 229: 145-148.

Thompson TL, 1999. Attenuation of dopamine uptake in vivo following priming with estradiol benzoate. *Brain Res.* 834: 164-167.

- Thompson TL, Certain ME, 2005. Estrogen mediated inhibition of dopamine transport in the striatum: regulation by G alpha i/o. *Eur. J. Pharmacol.* 511: 121-126.
- Tranel D, Damasio H, Denburg NL, Bechara A, 2005. Does gender play a role in functional asymmetry of ventromedial prefrontal cortex? *Brain* 128: 2872-2881.
- Vallee M, Mayo W, Dellu F, Le MM, Simon H, Maccari S, 1997. Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *J. Neurosci.* 17: 2626-2636.
- Vathy I, Sokol J, Etgen AM, 1997. Gender-related differences exist in cortical [3H]nisoxetine binding and are not affected by prenatal morphine exposure. *Neuroscience* 76: 331-334.
- Viau V, Meaney MJ, 1991. Variations in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 129: 2503-2511.
- Wager TD, Phan KL, Liberzon I, Taylor SF, 2003. Valence, gender, and lateralization of functional brain anatomy in emotion: a meta-analysis of findings from neuroimaging. *Neuroimage.* 19: 513-531.
- Walker QD, Rooney MB, Wightman RM, Kuhn CM, 2000. Dopamine release and uptake are greater in female than male rat striatum as measured by fast cyclic voltammetry. *Neuroscience* 95: 1061-1070.
- Weich S, Sloggett A, Lewis G, 1998. Social roles and gender difference in the prevalence of common mental disorders. *Br. J. Psychiatry* 173: 489-493.
- Weinstock M, Razin M, Schorer-Apelbaum D, Men D, McCarty R, 1998. Gender differences in sympathoadrenal activity in rats at rest and in response to footshock stress. *Int. J. Dev. Neurosci.* 16: 289-295.
- White PM, Kanazawa A, Yee CM, 2005. Gender and suppression of mid-latency ERP components during stress. *Psychophysiology* 42: 720-725.

Witelson SF, 1991. Neural sexual mosaicism: sexual differentiation of the human temporo-parietal region for functional asymmetry. *Psychoneuroendocrinology* 16: 131-153.

Witelson SF, Glezer II, Kigar DL, 1995. Women have greater density of neurons in posterior temporal cortex. *J. Neurosci.* 15: 3418-3428.

Young EA, 1998. Sex differences and the HPA axis: implications for psychiatric disease. *J. Gend. Specif. Med.* 1: 21-27.

Zhang L, Ma W, Barker JL, Rubinow DR, 1999. Sex differences in expression of serotonin receptors (subtypes 1A and 2A) in rat brain: a possible role of testosterone. *Neuroscience* 94: 251-259.

Zimmerberg B, Farley MJ, 1993. Sex differences in anxiety behavior in rats: role of gonadal hormones. *Physiol Behav.* 54: 1119-1124.

TABLES

		MALES				FEMALES			
		Handled		Non Handled		Handled		Non Handled	
		Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated
DA	L	179.43 (17.5)	168.85 (9.6)	179.05 (11.5)	152.53 (11.5)	215.62 (15.2)	196.6 (17.5)	180.98 (10.9)	189.51 (10.3)
	R	176.37 (12.8)	145.12 (8.7)	164.83 (13.8)	129.09 (10.9)	198.01 (13.8)	162.21 (11.4)	169.39 (11.9)	178.08 (12.8)
DOPAC	L	102.42 (8)	93.05 (6.27)	86.51 (4.1)	83.47 (5.7)	84.02 (6.1)	71.64 (9.2)	70.37 (5.8)	61.08 (3.3)
	R	96.52 (6.1)	84.84 (6.3)	101.59 (16.1)	69.2 (5.8)	75.85 (5.1)	57.82 (4.7)	61.07 (6.9)	59.98 (7.3)
DOPAC / DA	L	0.6 (0.05)	0.56 (0.03)	0.51 (0.05)	0.56 (0.05)	0.40 (0.03)	0.37 (0.02)	0.41 (0.05)	0.33 (0.01)
	R	0.57 (0.04)	0.59 (0.03)	0.54 (0.04)	0.55 (0.05)	0.39 (0.08)	0.36 (0.01)	0.38 (0.05)	0.34 (0.03)
5HT	L	358.11 (38.8)	395.7 (20.8)	431.58 (20.6)	431.07 (19.7)	486.09 (18)	535.07 (19.6)	515.17 (20.6)	543.63 (17.4)
	R	363.43 (16.8)	368.1 (15)	406.43 (16.7)	399.03 (27.5)	507.49 (28)	531.85 (17.3)	476.58 (20.6)	528.29 (19.9)
5-HIAA	L	578.18 (37.6)	574.34 (27.3)	512.06 (26.3)	536.58 (36.5)	510.97 (23.3)	513.04 (35.1)	538.54 (26.5)	467.97 (12.7)
	R	551.67 (21.8)	574.44 (28.7)	484.67 (26.2)	457.37 (37.3)	487.11 (15.6)	497.83 (27.4)	463.76 (29.1)	447.35 (23)
5-HIAA / 5HT	L	1.69 (0.19)	1.48 (0.09)	1.22 (0.11)	1.27 (0.1)	1.07 (0.07)	0.95 (0.05)	1.08 (0.09)	0.87 (0.04)
	R	1.53 (0.08)	1.55 (0.06)	1.25 (0.06)	1.19 (0.13)	0.99 (0.08)	0.93 (0.04)	1.01 (0.11)	0.85 (0.04)

Table 1A. DAergic and serotonergic measures in the ventromedial **prefrontal cortex** for all eight subgroups in the study. Neurotransmitter and metabolite levels are expressed as mean (\pm SEM) pg/mg tissue, separately for left (L) and right (R) side (n = 9-12 per group). Statistical details are summarized in the table below.

Measures	Effects and Interactions	F value	P value	Nature of Effect
DA	Sex	$F_{(1,80)} = 9.66$	0.003	F > M
	Stress	$F_{(1,80)} = 6.04$	0.016	A > R
	Side	$F_{(1,80)} = 12.82$	0.001	L > R
DOPAC	Sex	$F_{(1,79)} = 24.09$	< 0.0005	M >> F
	Treatment	$F_{(1,79)} = 4.60$	0.035	H > NH
	Stress	$F_{(1,79)} = 7.68$	0.007	A > R
	Side	$F_{(1,79)} = 3.98$	0.05	L > R
DOPAC/DA	Sex	$F_{(1,78)} = 69.87$	< 0.0005	M >> F
5HT	Sex	$F_{(1,79)} = 94.69$	< 0.0005	F >> M
	Sex x Treatment	$F_{(1,79)} = 4.3$	0.009	H > NH only in males
	Side	$F_{(1,79)} = 5.54$	0.021	L > R
5-HIAA	Sex	$F_{(1,80)} = 5.75$	0.019	M > F
	Treatment	$F_{(1,80)} = 7.18$	0.009	H > NH
	Side	$F_{(1,80)} = 12.05$	0.001	L > R
5-HIAA/5HT	Sex	$F_{(1,76)} = 59.32$	< 0.0005	M >> F
	Treatment	$F_{(1,76)} = 9.39$	0.003	H > NH
	Sex x Treatment	$F_{(1,76)} = 6.23$	0.015	H > NH, only in males

Table 1B. Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in ventromedial **prefrontal cortex**. Tissue neurotransmitter (DA and 5-HT) content was higher in females (F) than males (M), especially for 5-HT. In contrast, both metabolites and turnover ratios for DA and 5-HT systems were much higher in males. Handling (H) treatments resulted in a general enhancement in DOPAC and 5-HIAA and in 5-HT turnover ratio. Notably, H produced gender-specific effects only in the 5-HT

system as both 5-HT and 5-HIAA/5-HT were selectively enhanced in males, but not females. As well, a left-biased side effect was seen for both neurotransmitters and metabolites.

		MALES				FEMALES			
		Handled		Non Handled		Handled		Non Handled	
		Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated
DA	L	959.18 (169)	738.61 (94.2)	721.48 (113)	884.89 (210)	952.84 (134)	790.32 (85.8)	747.42 (175)	1160 (187)
	R	1335 (185)	884.51 (101)	995.18 (204)	1032 (259)	952.33 (140)	1291 (266)	894.5 (119.9)	1264 (123)
DOPAC	L	380.33 (77.6)	290.11 (34.7)	229.84 (43.4)	309.25 (57.1)	210.73 (38.2)	169.47 (29.3)	170.41 (32.5)	192.94 (28)
	R	675.48 (92)	403.74 (68.8)	457.86 (84.6)	473.25 (125)	437.15 (131)	281.26 (54.5)	229.42 (50.5)	277.77 (32.8)
DOPAC / DA	L	0.31 (0.02)	0.38 (0.02)	0.33 (0.04)	0.36 (0.02)	0.22 (0.02)	0.26 (0.08)	0.22 (0.03)	0.16 (0.01)
	R	0.41 (0.04)	0.44 (0.03)	0.44 (0.07)	0.45 (0.03)	0.43 (0.13)	0.18 (0.01)	0.22 (0.03)	0.19 (0.01)
5-HT	L	991.63 (22.1)	946.52 (53.8)	889.48 (51.8)	1001 (53.5)	1158 (54.4)	1273 (121)	1147 (45.1)	1270 (28.5)
	R	971.87 (38.1)	960.29 (68.7)	939.48 (58.1)	991.88 (51.8)	1172 (95.6)	1446 (160)	1256 (29.6)	1194 (49.4)
5-HIAA	L	1341 (61.2)	1225 (75.7)	994.61 (73.2)	1225 (39.8)	1053 (63.8)	1079 (52)	984.89 (56.9)	1019 (68.1)
	R	1475 (61.5)	1417.8 (40.3)	1147 (90.2)	1343 (96.4)	1108 (65.8)	1068 (61.1)	1141 (35.7)	1083 (63.8)
5-HIAA / 5-HT	L	1.35 (0.06)	1.31 (0.07)	1.12 (0.06)	1.24 (0.05)	0.92 (0.06)	1.07 (0.24)	0.87 (0.07)	0.8 (0.04)
	R	1.55 (0.1)	1.55 (0.13)	1.22 (0.07)	1.36 (0.1)	1 (0.09)	0.81 (0.07)	0.91 (0.03)	0.94 (0.09)

Table 2A. DAergic and serotonergic measures in the **amygdala** for all eight subgroups in the study. Neurotransmitter and metabolite levels are expressed as mean (\pm SEM) pg/mg tissue separately for left (L) and right (R) side (n = 9-12 per group). Statistical details are summarized in the table below.

Measures	Effects and Interactions	F value	P value	Nature of Effect
DA	Stress x Sex Side	$F_{(1,67)} = 4.66$ $F_{(1,67)} = 6.65$	0.035 0.012	R > A, in females R > L
DOPAC	Sex Treatment x Stress Side	$F_{(1,79)} = 19.25$ $F_{(1,79)} = 5.94$ $F_{(1,79)} = 27.93$	< 0.0005 0.017 < 0.0005	M >> F A > R, in H rats R >> L
DOPAC/DA	Sex Side	$F_{(1,66)} = 23.63$ $F_{(1,66)} = 5.11$	< 0.0005 0.028	M >> F R > L
5HT	Sex	$F_{(1,81)} = 40.06$	< 0.0005	F >> M
5-HIAA	Sex Treatment Sex x Treatment Side	$F_{(1,81)} = 31.66$ $F_{(1,81)} = 8.27$ $F_{(1,81)} = 5.02$ $F_{(1,81)} = 14.05$	< 0.0005 0.005 0.028 < 0.0005	M >> F H > NH H > NH, only in males R >> L
5-HIAA/5HT	Sex Treatment	$F_{(1,81)} = 59.32$ $F_{(1,81)} = 5.79$	< 0.0005 0.019	M >> F H > NH

Table 2B. Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **amygdala**. As in PFC, females had much higher levels of 5-HT than males, although DA levels did not show a gender difference. Again however, metabolite levels and turnover ratios for both DA and 5-HT systems were much greater in males. Similar to PFC, H selectively increased 5-HIAA levels in males, but not females. Finally, a

pronounced right-sided asymmetry was found for all DAergic measures as well as for 5-HIAA.

		MALES				FEMALES			
		Handled		Non Handled		Handled		Non Handled	
		Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated
DA	L	25.26 (3.9)	25.28 (4.8)	33.57 (10.8)	38.49 (15.5)	28.58 (8.4)	23.3 (5.6)	21.86 (4.1)	21.79 (4.1)
	R	25.56 (3.2)	25.62 (6.2)	33.5 (5.4)	40.59 (22.5)	34.24 (7.7)	27.02 (5.2)	19.79 (7.2)	34.98 (9.1)
DOPAC	L	22.37 (3)	14.27 (2.4)	17.11 (2.9)	19.21 (4.5)	11.23 (1.4)	9.51 (0.3)	7.97 (0.8)	10.79 (1.8)
	R	19.26 (1.8)	26.72 (9.8)	34.24 (9.3)	15.5 (4.9)	14.71 (2)	17.65 (5.8)	11.7 (1.4)	14.61 (1.1)
DOPAC / DA	L	0.99 (0.2)	0.67 (0.12)	0.62 (0.08)	0.73 (0.2)	0.52 (0.1)	0.48 (0.09)	0.39 (0.05)	0.59 (0.08)
	R	0.81 (0.11)	0.98 (0.18)	1.04 (0.13)	0.76 (0.18)	0.52 (0.07)	0.64 (0.09)	0.84 (0.17)	0.57 (0.08)
5HT	L	349.06 (10.2)	334.76 (20.5)	336.08 (24.6)	314.3 (26.7)	451.56 (47.9)	583.5 (29.2)	411.28 (25.7)	425.81 (26)
	R	343.35 (17.3)	314.85 (23.7)	348.5 (13.6)	319.18 (14.8)	382.65 (15.5)	454.17 (20.2)	430.52 (34.7)	375.86 (19.7)
5-HIAA	L	945.03 (22.8)	1026 (39.5)	795.43 (31)	829.3 (80.2)	1026 (65)	1215 (37.8)	1062 (56.6)	1046 (51.9)
	R	1023 (39.2)	943.22 (45.2)	873.83 (32.7)	908.32 (58.6)	935.25 (59.3)	1093 (58)	1173 (74.6)	973.5 (45.7)
5-HIAA / 5HT	L	2.73 (0.09)	3.03 (0.20)	2.43 (0.17)	2.63 (0.03)	2.34 (0.14)	2.09 (0.06)	2.61 (0.11)	2.49 (0.09)
	R	3 (0.14)	3.04 (0.15)	2.52 (0.19)	2.84 (0.11)	2.45 (0.12)	2.4 (0.04)	2.76 (0.16)	2.62 (0.12)

Table 3A. DAergic and serotonergic measures in the **dorsal hippocampus** for all eight subgroups in the study. Neurotransmitter and metabolite levels are expressed as mean (\pm SEM) pg/mg tissue, separately for left (L) and right (R) side. Unfortunately, approximately half of the hippocampal samples (evenly distributed across groups) were damaged in processing, thus reducing the n's to 4-6 in each of the eight subgroups. Statistical details are summarized in the table below.

Measures	Effects and Interactions	F value	P value	Nature of Effect
DOPAC	Sex	$F_{(1,39)} = 14.56$	0.001	M > F
DOPAC/DA	Sex	$F_{(1,35)} = 12.54$	0.001	M > F
5HT	Sex	$F_{(1,41)} = 28.34$	< 0.0005	F >> M
	Side	$F_{(1,41)} = 13.33$	0.001	L > R
	Sex x Side	$F_{(1,41)} = 8.34$	0.007	L > R, in females
5-HIAA	Sex	$F_{(1,40)} = 16.72$	< 0.0005	F >> M
	Sex x Side	$F_{(1,40)} = 6.26$	0.018	L > R, in females
5-HIAA/5HT	Sex	$F_{(1,41)} = 4.89$	0.034	M > F
	Sex x Treatment	$F_{(1,41)} = 7.12$	0.012	H > NH, in males
	Side	$F_{(1,41)} = 16.95$	< 0.0005	R > L

Table 3B. Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **dorsal hippocampus**. Despite the reduced n's in this brain region, a number effects emerged, similar to PFC and amygdala. Again, females had much more 5-HT than males, particularly in the left side. Males also had significantly higher DOPAC levels and DOPAC/DA ratio. Unlike the other regions, females in this case had higher 5-

HIAA levels than males. Despite females having higher levels of both 5-HT and 5-HIAA, when expressed as turnover ratio, males were slightly higher. Interestingly, the same gender-specific H effect was observed in this region, as H selectively increased 5-HIAA/5-HT ratio in males and not females. There were also side effects, in that while 5-HT was greater in the left side, 5-HT turnover ratio was greater in the right side.

MALES					FEMALES				
		Handled		Non Handled		Handled		Non Handled	
		Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated
DA	L	112.47 (14.9)	107.11 (16.2)	132.84 (11.2)	107.76 (8.5)	167.19 (26.8)	1366.3 (13.3)	124.67 (19.4)	126.92 (11.1)
	R	94.77 (11.4)	1110 (14.3)	118.99 (21.9)	113.19 (18.6)	129.45 (21.4)	124.68 (16.4)	155.47 (24.5)	123.62 (12.6)
DOPAC	L	57.54 (12.4)	66.44 (14.8)	65.13 (4.2)	43.17 (10.7)	50.97 (10.3)	53.33 (5.8)	35.66 (4.6)	52.81 (10.1)
	R	44.94 (6.1)	43.14 (5.5)	61.87 (10.8)	49.09 (12.5)	56.74 (13.2)	41.99 (8)	51.49 (16.2)	33.02 (4.7)
DOPAC / DA	L	0.5 (0.08)	0.67 (0.19)	0.5 (0.04)	0.4 (0.09)	0.34 (0.06)	0.4 (0.03)	0.32 (0.05)	0.31 (0.03)
	R	0.48 (0.07)	0.42 (0.05)	0.53 (0.05)	0.41 (0.04)	0.46 (0.1)	0.37 (0.05)	0.31 (0.05)	0.27 (0.04)
5HT	L	453.09 (18.4)	459.61 (37.5)	469.65 (17.5)	362.67 (51)	568.01 (48.9)	629.26 (44.2)	537.06 (34.9)	536.29 (35.9)
	R	434.69 (46.3)	493.5 (40.1)	442.49 (30.5)	478.33 (39.3)	536.05 (28.9)	551.67 (18.4)	569.17 (34.3)	601.63 (30.7)
5-HIAA	L	346.14 (14.7)	367.26 (19.1)	302.1 (18.7)	304.65 (21.5)	340.62 (29.4)	324.04 (18.6)	298.56 (10.4)	318.37 (17.7)
	R	314.03 (28.5)	418.65 (20)	283.7 (27.5)	364.88 (46.2)	250.79 (40.2)	348.64 (14.7)	318.97 (16.4)	344.13 (22.3)
5-HIAA / 5HT	L	0.77 (0.03)	0.87 (0.11)	0.64 (0.03)	1 (0.22)	0.61 (0.05)	0.53 (0.03)	0.58 (0.05)	0.64 (0.07)
	R	0.77 (0.07)	0.89 (0.06)	0.65 (0.05)	0.77 (0.09)	0.48 (0.09)	0.63 (0.02)	0.56 (0.03)	0.57 (0.03)

Table 4A. DAergic and serotonergic measures in the **insular cortex** for all eight subgroups in the study. Neurotransmitter and metabolite levels are expressed as mean (\pm SEM) pg/mg tissue, separately for left (L) and right (R) side (n = 9-12 per group). Statistical details are summarized in the table below.

Measures	Effects and Interactions	F value	P value	Nature of Effect
DA	Sex.	$F_{(1,74)} = 6.04$	0.017	F > M
DOPAC/DA	Sex	$F_{(1,71)} = 14.7$	< 0.0005	M >> F
5HT	Sex	$F_{(1,75)} = 29.7$	< 0.0005	F >> M
5-HIAA	Stress	$F_{(1,77)} = 8.64$	0.004	R > A
	Sex by Treatment	$F_{(1,77)} = 5.04$	0.028	H > NH, only in males
5-HIAA/5HT	Sex	$F_{(1,74)} = 5.77$	0.019	M >> F
	Stress	$F_{(1,74)} = 6.52$	0.013	R > A

Table 4B. Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **insular cortex**. As in the above brain regions, females had higher levels of DA and particularly 5-HT, yet the turnover ratios for each showed a highly significant difference favouring males. Stress condition was also a significant factor here, as repeatedly stressed rats (R) had higher 5-HIAA levels and 5-HT turnover ratios than acutely stressed rats (A). Again, H selectively increased 5-HIAA levels in males but not females.

		MALES				FEMALES			
		Handled		Non Handled		Handled		Non Handled	
		Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated	Acute	Repeated
DA	L	7149 (588)	7519 (600)	7764 (1371)	6869 (589)	7887 (652)	9209 (882)	8300 (683)	7933 (671)
	R	7375 (422)	7208 (420)	6915 (772)	6362 (1153)	8056 (698)	7898 (582)	8371 (885)	8278 (783)
DOPAC	L	3547 (298)	3328 (455)	3487 (582)	3689 (609)	1978 (154)	2523 (341)	2210 (245)	1996 (138)
	R	5057 (917)	3518 (319)	3349 (596)	2710 (588)	2656 (413)	2058 (109)	2031 (271)	2914 (438)
DOPAC / DA	L	0.58 (0.12)	0.45 (0.06)	0.52 (0.11)	0.60 (0.14)	0.26 (0.02)	0.3 (0.05)	0.28 (0.04)	0.27 (0.03)
	R	0.7 (0.13)	0.52 (0.09)	0.63 (0.19)	0.47 (0.1)	0.36 (0.07)	0.28 (0.03)	0.25 (0.03)	0.51 (0.22)
5HT	L	757.98 (67.6)	618.62 (24)	728.21 (60.6)	644.6 (65.5)	690.42 (49.8)	795.74 (43)	638.29 (60.5)	871.08 (77.4)
	R	780.73 (83.2)	693.52 (65.4)	720.05 (69.1)	1338 (718)	739.55 (47.7)	767.96 (66.5)	743.26 (81.8)	805.31 (33.9)
5-HIAA	L	1057 (89.9)	844.43 (48)	815.88 (48.7)	822.57 (60)	820.59 (63.6)	961.79 (42.9)	884.85 (50)	950.44 (68.5)
	R	893 (53.1)	923.86 (70.7)	728.11 (39.8)	1404 (692)	904.84 (58.9)	886.38 (59.6)	824.22 (51.8)	866.02 (48.4)
5-HIAA / 5HT	L	1.57 (0.3)	1.37 (0.06)	1.14 (0.06)	1.34 (0.13)	1.2 (0.05)	1.23 (0.06)	1.94 (0.68)	1.12 (0.05)
	R	1.25 (0.13)	1.37 (0.06)	1.07 (0.1)	1.13 (0.05)	1.23 (0.04)	0.18 (0.05)	1.26 (0.17)	1.08 (0.05)

Table 5A. DAergic and serotonergic measures in the **nucleus accumbens** for all eight subgroups in the study. Neurotransmitter and metabolite levels are expressed as mean (\pm SEM) pg/mg tissue, separately for left (L) and right (R) side (n = 9-12 per group). Statistical details are summarized in the table below.

Measures	Effects and Interactions	F value	P value	Nature of Effect
DA	Sex	$F_{(1,78)} = 5.77$	0.019	F > M
DOPAC	Sex	$F_{(1,78)} = 28.13$	< 0.0005	M >> F
DOPAC/DA	Sex	$F_{(1,78)} = 16.38$	< 0.0005	M >> F

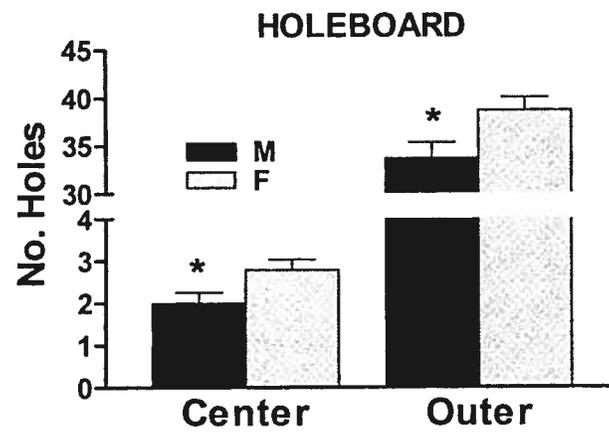
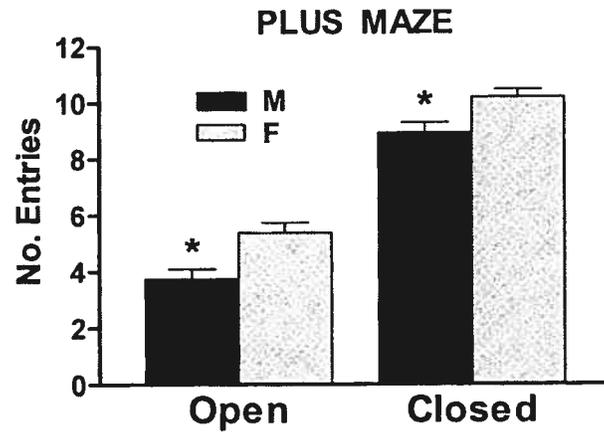
Table 5B. Statistical summary of significant effects and interactions for neurochemical measures in **nucleus accumbens**. Females again had higher DA levels than males, but males had much higher DOPAC levels and DA turnover ratios than females. Serotonergic measures were completely unaffected in this brain region.

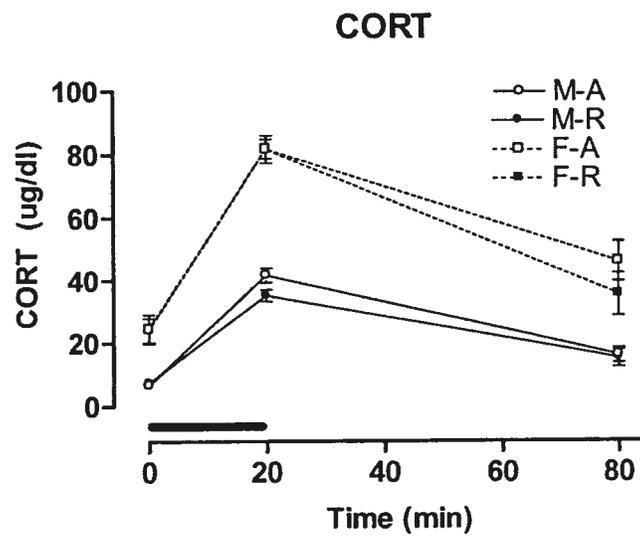
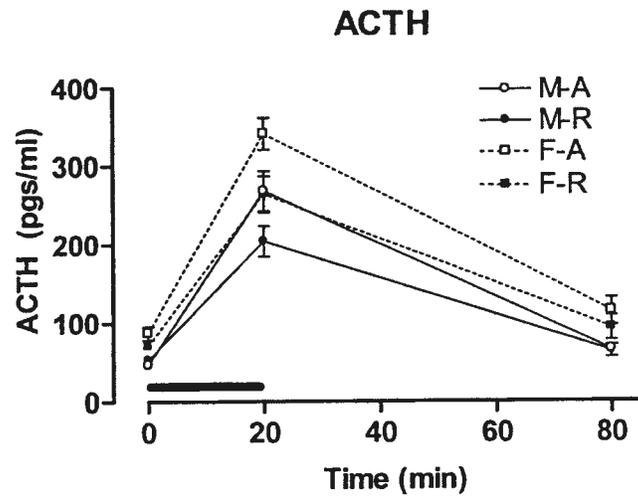
Figure Legends

Figure 1. Gender differences in exploratory behaviour in the elevated plus maze (top) and in holeboard exploration (bottom). In the elevated plus maze females (F, $n = 42$) made significantly more entries into both the open and closed arms of the maze than males (M, $n = 44$). Similarly, in the holeboard apparatus, females explored significantly more holes both in the center region and outer regions of the apparatus ($p < 0.05$ in all cases). H treatment did not significantly interact with these behavioural measures, thus H and NH treatments are collapsed within gender. These data suggest that the gender differences in these behavioural tests were more a reflection of generally higher activity levels in females, than specifically of anxiety-related processes.

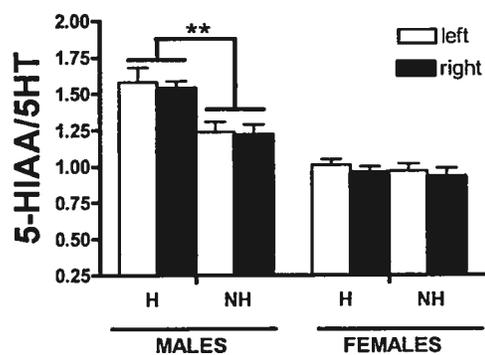
Figure 2. Gender differences in plasma levels of ACTH (top) and CORT (bottom). As described in detail in the results section, levels of both stress hormones were significantly greater across samples in females (F) than males (M). Females also showed larger stress-induced increases in CORT levels than males, relative to pre-stress levels. As well, levels of ACTH (but not CORT) habituated in repeatedly (R) restrained rats of both sexes, relative to acutely (A) stressed animals. H and NH groups are collapsed for presentation, as H treatment did not significantly affect these HPA measures (although see text). The black bar indicates to 20 min restraint period.

Figure 3. Gender-specific effects of postnatal H on 5-HT metabolism. This figure highlights the significant Sex x Treatment interactions for 5-HT turnover ratio in PFC and hippocampus and for the levels of 5-HIAA (pgs/mg tissue) in amygdala and insular cortex. In PFC, H males had a significantly higher ratio than NH males ($p < 0.001$), with females showing no such treatment difference. In hippocampus, H males showed a similar but nonsignificant increase relative to NH males, however H females actually tended toward a decrease in turnover ratio, accounting for the interaction. Metabolite levels were increased in H males in amygdala ($p = 0.001$) and insula ($p = 0.020$) compared to NH males, with females again showing no influence of H. No such gender-specific effects were seen for DAergic measures. Additional statistical effects are summarized in the preceding summary tables.

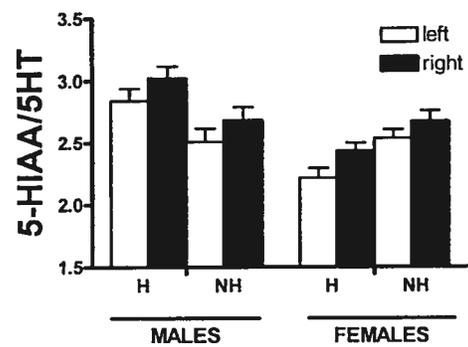




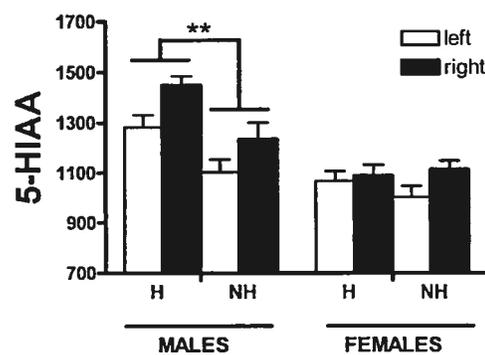
PREFRONTAL CORTEX



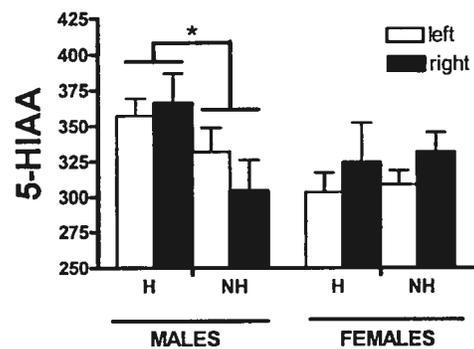
HIPPOCAMPUS



AMYGDALA



INSULA



CONCLUSION

Résultats et hypothèses

L'objectif de cette large étude était de caractériser les différences sexuelles quant à l'effet du H au niveau de l'activité et de la régulation de la réponse de stress. Les données recueillies dans cette étude réaffirment l'existence de différences sexuelles quant au comportement d'exploration et à l'activité de l'axe HHS en réponse de stress. Conformément à nos hypothèses, cette étude a également permis d'observer d'importantes différences sexuelles dans l'activité des systèmes dopaminergique et sérotoninergique. Alors que les femelles présentent des niveaux tissulaires de neurotransmetteurs plus élevés (DA et 5-HT), les concentrations des métabolites (DOPAC et 5-HIAA) sont, à l'inverse, plus importantes chez les mâles se traduisant par des ratio de métabolisation plus élevés. Ces différences se retrouvent dans le plupart des régions échantillonnées, déterminantes dans la régulation du stress et des émotions. Les résultats obtenus révèlent que le H ne semble pas avoir produit les effets escomptés sur le comportement, la réponse neuroendocrinienne et la latéralisation hémisphérique. L'absence de cet effet nous empêche donc de vérifier plusieurs de nos hypothèses. Cependant, cette procédure a néanmoins produit des changements significatifs dans le fonctionnement du système sérotoninergique et ce uniquement chez les mâles.

Dans la section suivante il sera d'abord question d'hypothèses explicatives quant au faible effet du H, par la suite les principaux résultats obtenus seront discutés. Compte tenu du caractère exploratoire de cette étude, une emphase particulière sera également mise sur les études futures.

Manipulations néonatales

D'après la littérature, le H est une procédure simple à mettre en œuvre qui présente un haut taux de succès. Ainsi, l'on rapporte plusieurs effets à long terme de ce

traitement sur la capacité d'adaptation s'exprimant, entre autres, par l'augmentation du comportement d'exploration, la réduction des comportements anxieux et la réduction de la réponse de stress suivant un stress répété (Vallée *et al.*, 1997; Meerlo, *et al.*, 1999; Chapillon *et al.*, 2002; Sullivan and Dufresne, 2006). À l'âge adulte, on retrouve également chez ces animaux plusieurs caractéristiques biologiques associées à une meilleure régulation de la réponse de stress : l'atténuation de la sécrétion d'ACTH et de corticoïdes (post-stress), une augmentation de la rétro-inhibition de la réponse de stress par les corticoïdes et une réduction de l'ARNm du CRF (Meaney *et al.*, 1985; Sarrieau *et al.*, 1988; Plotsky and Meaney, 1993; Nunez *et al.*, 1996;).

Plusieurs considèrent que l'effet du H est principalement produit par l'augmentation des soins maternels (Levine, 1967; Plotsky and Meaney, 1993; Liu *et al.*, 1997). Cependant, tel que mentionné dans l'introduction, il existe des variations naturelles dans la fréquence des soins maternels. Dans cette étude nous n'avons pas mesuré le comportement maternel, qui nécessite beaucoup de temps afin d'être effectué correctement. Ainsi, une portée NH aurait pu être composé d'une mère naturellement *high LG-ABN* ou inversement une mère naturellement *low LG-ABN* aurait pu être dans les portées H. Il est donc possible que cette variation naturelle ait contribué à diminuer l'effet global du H. De fait, les animaux H présentent une forte tendance à s'habituer davantage au stress répété, tel que démontrée par les concentrations plasmatiques d'ACTH ($p < 0.06$), et à explorer davantage dans le test de la boîte à aires ouvertes avec trous (*hole board*) ($p < 0.08$).

Un autre élément important rarement mentionné dans la littérature, mais régulièrement rapporté par les chercheurs lors de communications personnelles est la faible reproductibilité des effets des procédures périnatales tel que le H. Compte tenu

que ces procédures sont relativement simples, des questionnements raisonnables sont soulevés quant à l'importance de paramètres environnementaux (ex. la température du nid et l'interaction entre les petits) qui ne seraient pas systématiquement contrôlés et qui pourrait être déterminants dans la production des effets à long terme (Jans et Woodside, 1990; Pryce *et al.*, 2001). Une étude a également démontré que certains facteurs génétiques semblent également favoriser l'effet du H (Durand *et al.*, 1998). Bien que les soins maternels constituent un facteur important dans l'effet du H, il est important de ce rappeler que les causes de ces effets demeurent largement inconnues rendant difficile la reproduction de cette procédure (Pryce et Feldon, 2003). L'absence d'effet significatif du H limite donc la vérification de plusieurs de nos hypothèses, notamment concernant le comportement, la réponse neuroendocrine et la latéralisation hémisphérique.

Il est néanmoins important de rappeler que quoique certains paramètres aient pu limiter l'effet du H sur la réponse de stress, il n'en demeure pas moins que nous avons observé un effet important de cette procédure sur les fonctions 5-HTergiques dans plusieurs régions terminales chez les mâles et dont il sera question ultérieurement.

Neuroendocrinologie de la réponse de stress

Tel qu'attendu, nous avons observé des différences sexuelles importantes quant au niveaux plasmatiques d'hormones de stress, les femelles présentant des concentrations de corticoïdes et d'ACTH significativement plus élevées, et ce pour chaque temps mesuré (fig.2) (Mendelson et McEwen, 1991; Viau et Meaney 1991; Burgess et Handa, 1992; Lunga et Herbert, 2004). Telle qu'observée dans notre étude, la littérature fait également état d'une augmentation plus prononcée de la libération de corticostéroïdes chez les femelles (Kant *et al.*, 1983; Weinstock *et al.*, 1998). Ce qui conforte l'idée que l'activité de l'axe HHS est globalement plus importante chez les

femelles. Contrairement à la deuxième hypothèse, l'exposition répétée à un stresser doux a entraîné une réduction des taux d'ACTH pour l'ensemble des animaux. L'ampleur de la réduction étant similaire, l'écart observé entre les mâles et les femelles c'est donc maintenu. Plusieurs différences sexuelles ont été observées dans divers paradigmes de stress répété (variant selon la chronicité et la sévérité du stresser) et pour différentes mesures de la réponse de stress (corticostéroïde, comportement défensif, prise de nourriture, comportement d'exploration) (Kennett *et al.*, 1986; Karandrea *et al.*, 2002; Figueiredo *et al.*, 2003; Bowman *et al.*, 2004; Perrot-Sinal, 2004; Chadda et Devaud, 2005). Contrairement à leur procédure, notre paradigme de stress relativement faible ne nous a pas permis d'observer des différences sexuelles dans le processus d'habituation.

Comportement

Les tests comportementaux ont démontré que les femelles étaient significativement plus actives que les mâles (fig.1). Conformément à la littérature, nous avons également démontré que les femelles surclassent les mâles dans le temps passé dans les bras ouverts du EPM (Zimmerberg *et al.*, 1993; Marcondes *et al.*, 2001; Dominguez *et al.*, 2003). Il est important de se rappeler que ce test développé spécifiquement pour mesurer l'anxiété à été développé et validé uniquement chez des mâles (Pellow *et al.*, 1985, Palanza, 2001)¹⁷. D'autres tests d'anxiété tel que le conflit de Vogel¹⁸ (Johnston et File, 1991) et l'expression du comportement défensif (Blanchard *et*

¹⁷ Néanmoins, il est important de mentionner l'effet anxiolytique, mesuré par l'EPM, de molécules telles que le diazépam ont été démontré chez les femelles (Wilson *et al.*, 2004). Bien que que l'EPM semble présenter une certaine validité pharmacologique, aucune réelle étude de validation pharmacologique n'a été pratiquée, comprenant entre autre un contrôle pour les faux positifs (Pellow *et al.*, 1985).

¹⁸ Ce test constitue à priver l'animal d'eau pendant 24 heures pour ensuite le placer dans une chambre (à laquelle il est déjà familiarisé) contenant de l'eau, l'animal subira un autre 24 heures de privation et sera réexposé à la chambre, cependant un choc électrique aux pattes est associé à un certains nombre de léchage. Le niveau d'anxiété est mesuré par le nombre de léchage par minute pendant la séance avec et sans punition. Plus l'animal est anxieux plus la diminution de léchage par minute sera grande dans la séance avec punition (Johnston et File, 1991).

al.,1992) suggèrent à l'inverse que les femelles seraient plus anxieuses que les mâles. Face à cette contradiction, il est donc possible que les résultats obtenus dans l'EPM soient davantage le reflet de différences métaboliques entre les deux sexes, les femelles étant généralement plus actives que les mâles (Johnston et File, 1991).

Plus récemment, un groupe de chercheurs a postulé qu'il existait des différences sexuelles fondamentales dans la manifestation biologique et comportementale de la réponse de stress. Lorsque exposé à un stressor les femelles n'exprimeraient pas le comportement traditionnel de fuite ou de combat, mais chercheraient davantage à protéger leur portées soit par l'augmentation des soins maternels ou par l'affiliation avec d'autres femelles. Cette théorie s'appuie sur plusieurs évidences biologiques et comportementales, notamment, l'effet marqué que produit la présence d'autres femelles sur la réduction de la réponse de stress et sur l'amélioration de la capacité d'adaptation (Taylor *et al.*, 2000). Ainsi, le regroupement de plusieurs mâles est considéré comme un stressor entraînant une augmentation de l'activité de l'axe HHS, contrairement aux femelles où le regroupement produit une réduction de l'activité de l'axe HHS (Brown et Grunberg, 1995). Dans cette optique, l'augmentation globale de l'activité et de l'exploration des ratte pourrait représenter une manifestation de l'anxiété propre aux femelles en quête d'affiliation.

Latéralisation hémisphérique

Les résultats neurochimiques révèlent plusieurs différences hémisphériques importantes particulièrement pour le CPFm et l'amygdale (tableaux 1-2). Ces variations hémisphériques sont toutefois similaires chez les mâles et les femelles. Plusieurs études cliniques soutiennent néanmoins l'existence de différences sexuelles dans l'activité

hémisphériques de régions telles que l'amygdale et le cortex frontal (Speck *et al.*, 2000; Killgore et Yurgelun-Todd, 2001; Hofer *et al.*, 2006; Canli *et al.*, 2002; Shirao *et al.*, 2005 ; Schirmer *et al.*, 2004; Cahill *et al.*, 2004). En général, l'expérience de stimuli émotifs négatifs semble être associée à une plus grande activité corticale et sous-corticale de l'hémisphère gauche chez la femme et de l'hémisphère droit chez l'homme. Chez les animaux, des études récentes de voltamétrie suggèrent la présence de concentrations dopaminergiques plus élevées dans le CPF et l'amygdale gauches des femelles et droits des mâles et ce pendant l'exposition à divers stressseurs (pincement de la queue et odeur de prédateur) (résultats non publiés).

Dans nos résultats, les mesures 5-HTergique de l'hippocampe présentent une interaction significative entre l'hémisphère et le sexe où les femelles contiennent davantage de 5-HT et de 5-HIAA dans l'hémisphère gauche (tableau 3B). L'hippocampe est une région du cerveau où l'on rapporte d'importantes différences sexuelles tant fonctionnelles, structurales que neurochimiques (McEwen, 2001 ; Amin *et al.*, 2005). Il semblerait que l'estrogène soit à l'origine de plusieurs de ces différences, favorisant entre autres la neuroprotection de l'hippocampe et y modulant la neurotransmission sérotoninergique (McEwen, 2001; Bethea *et al.*, 2002, Andrade *et al.*, 2005 ; Amin *et al.*, 2005). Compte tenu que cette région semble particulièrement sensible aux différences sexuelles, il n'est donc pas surprenant d'observer en premier lieu un effet de sexe dans cette région. De fait, une étude récente d'imagerie fonctionnelle a démontré une activation plus importante de l'hippocampe gauche chez les femmes et du droit chez les hommes en réponse à une tâche cognitive (Frings *et al.*, 2006).

Chez les animaux, le développement de la latéralisation hémisphérique semble être favorisé par un niveau critique de stimulations néonatales ou par le H (Denenberg

1981; Sullivan et Dufresne, 2006, Tang *et al.*, 2006). La nature et la direction de l'effet de ces manipulations sur le développement d'asymétrie hémisphérique semblent varier en fonction du sexe tel qu'observé dans le comportement postural et rotatif des animaux (Ross *et al.*, 1981; Camp *et al.*, 1984; Fleming *et al.*, 1986; Diamond, 1991; Clark *et al.*, 1998; Kristofikova *et al.*, 2004; Akers *et al.*, 2004). Par exemple, dans l'OF les mâles H vont préférentiellement vers la gauche comparativement au NH alors que chez les femelles se sont les NH qui présentent cette asymétrie (Sherman *et al.*, 1983 ; Camp *et al.*, 1984). Etant donné que le H n'a pas produit les effets attendus dans la réponse de stress, il se peut que la faiblesse de l'effet soit responsable de l'absence de différences hémisphériques en fonction du traitement. De plus, il est fort probable que l'observation de la latéralisation hémisphérique dans l'activité de ces systèmes soit optimale pendant ou immédiatement après la réponse de stress. Ainsi, le fait d'avoir quantifier les concentrations monoaminergiques quelques heures après la réponse de stress peut avoir également contribué à l'absence de certaines différences hémisphériques.

Indépendamment du H ou du sexe, les résultats neurochimiques suggèrent une forte asymétrie, particulièrement dans l'amygdale droite (tableau 2B). D'autres ont également rapportées une latéralisation dopaminergique et 5-HTergique de cette région (Andersen et Teicher, 1999).

Résultats neurochimiques

Les concentrations tissulaires de neurotransmetteurs (DA et 5-HT), de métabolites (DOPAC et 5-HIAA) ont révélé d'importantes différences sexuelles. Fait intéressant, ces différences semblent plus importantes et plus étendues comparativement aux données rapportées dans la littérature (Camp et Robinson, 1988; Tanila *et al.*, 1994; Beck et Luine, 2002; Papaioannou *et al.*, 2002; Bisagno *et al.*, 2003; Bowman *et al.*,

2004). Un élément important qui différencie les précédentes études de celle-ci réside dans l'exposition environnementale des animaux qui dans certains cas est minimale (Camp et Robinson, 1988; Tanila *et al.* 1994; Bisagno *et al.*, 2003) et d'autres cas plutôt drastique (3 hrs de restriction par jours pendant 21 jours) (Beck et Luine, 2002; Bowman *et al.*, 2004). Dans notre étude, les animaux ont été exposés à divers environnements faiblement stressants, incluant l'exposition à la nouveauté lors des tests comportementaux et l'exposition à un bref stress de restriction. L'impact neurochimique de tests comportementaux, tel que l'EPM, a été démontré près de dix jours après suivant le test (Dominguez *et al.*, 2003). Lors du stress répété, la procédure la plus sévère de l'expérimentation, l'ensemble des animaux s'y est adaptée soulignant la faible intensité de ce paradigme de stress. En ce sens, il est fort probable que les résultats neurochimiques observés dans cette étude soient une représentation plus réaliste, c'est-à-dire qui reflète davantage le milieu naturel, des différences sexuelles suivant l'exposition à un faible niveau de stress.

Cyclicité ovarienne

Il est important de mentionner que dans cette étude comportant un nombre relativement important de groupe, nous n'avons pas contrôlé le cycle ovarien. Étant intéressés par l'effet du H sur les différences sexuelles de nature comportementale, neuroendocrinienne et neurochimique reliées à deux paradigmes de stress, il aurait été très difficile de reproduire toutes ces conditions pour chacune des trois principales phases du cycle ovarien. Il est cependant bien connu que les hormones ovariennes agissent sur la neurotransmission des systèmes à l'étude. L'administration d'estrogène et ou d'estradiol module l'activité sérotoninergique dans l'hippocampe, le CPF, le raphé dorsal et l'hypothalamus du rat et du singe (Jackson et Uphouse, 1998; Handa *et al.*, 1997; Pecins-

Thompson et Bethea, 1999; Kritzer et Kohama, 1999; Lu et Bethea, 2002; Lu *et al.*, 2003; Andrade *et al.*, 2005). Toutefois, les études employant des femelles intactes ont donné lieu à des résultats moins concluants (Amin *et al.*, 2005). L'activité dopaminergique varie également en fonction des fluctuations des niveaux d'estrogène dans plusieurs régions dont le striatum, le nucleus accumbens et l'amygdale, particulièrement lorsque la neurotransmission est accrue par des médiateurs pharmacologiques (amphétamine) ou lors d'activation neuronale (Morissette et Di Paolo, 1993; Thompson et Moss, 1997; Becker, 2000; Liu et Xie, 2004; Thompson et Certain, 2005).

Dans notre étude, les mesures *post-mortem* reflètent davantage un état d'activité basal des systèmes monoaminergiques comparativement à l'état «activé» étudié dans la plupart des études précédemment citées. De fait, les résultats neurochimiques obtenus pour les femelles ne présentent pas plus de variations que les mâles. Il est également improbable que cette homogénéité provienne d'une synchronisation cyclique des femelles, puisque la synchronisation est généralement observée à l'intérieur d'une même cage (Schank et McClintock, 1997) et dans le possible cas où les ratte seraient devenues synchrones, les animaux ont été randomisés et les tests se sont déroulés sur plusieurs jours limitant au maximum le recoupement de phase. Ainsi, sans démentir l'influence des hormones ovariennes, il semble peu probable que ces variations hormonales ont contribué significativement aux différences neurochimiques observées entre les mâles et les femelles.

Résultats dopaminergiques

En accord avec l'hypothèse 3, les résultats semblent suggérer que les mâles métabolisent davantage de DA (ou de 5-HT) emmagasiné, que les femelles ce qui

pourrait s'expliquer par une augmentation de la libération, de l'internalisation ou de la dégradation de ces neurotransmetteurs. Cependant, d'autres résultats laissent croire à un scénario plus complexe. Par exemple, dans le système nigro-striée, ce sont les femelles qui relâchent davantage de DA que les mâles en réponse à l'amphétamine ou à la suite d'une stimulation électrique (Walker *et al.*, 2000; Becker, 1999). Nous avons également observé que lors d'une réponse de stress, la libération de DA dans le CPF médian infralimbique (IL) semble également plus importante chez les femelles (résultats non publiés). Ces données justifient les concentrations plus élevées de neurotransmetteurs retrouvées chez les femelles, mais elles n'expliquent pas pourquoi les niveaux de métabolites et les ratios de métabolisation sont, à l'inverse, plus faibles. La conversion de DA en DOPAC est effectuée intracellulairement à partir de DA internalisées ou non libérées, ainsi, des différences dans la cinétique d'internalisation ou l'activité enzymatique de la MAO pourraient expliquer en partie les différentes concentrations de DOPAC. Il est connu que l'administration d'estrogène module grandement l'activité dopaminergique striatal, limitant l'activité de la MAO A et réduisant l'internalisation de la DA ou la sensibilité du DAT (Disshon *et al.*, 1998; Thompson, 1999 ; Dluzen, 2000 ; Thompson and Certain 2005). De plus, il semblerait que les femelles soient plus résistantes aux lésions induites par le 6-hydroxydopamine (6-OHDA) qui est internalisé par le DAT (Dluzen, 1997). D'autres ont néanmoins démontré que les femelles recyclaient davantage de DA et exprimaient davantage de DAT striatal comparativement aux mâles (Walker *et al.*, 2000; Morissette et Di Paolo, 1993). Il est donc possible que, par le biais de l'estrogène, les femelles internalisent et dégradent moins de dopamine que les mâles.

Une autre possibilité soit que les femelles dégrade la DA préférentiellement en HVA, ou en 3-MT par l'action de la COMT. Notre protocole ne nous à pas permis de quantifier correctement le HVA dans l'ensemble des régions à l'exception du NAc (les données ne sont pas présentées). Toutefois, dans cette région les femelles semblaient avoir des niveaux de HVA plus faible que les mâles, tel qu'observé avec le DOPAC ce qui laisse supposer que cette autre voie de dégradation ne soit pas la principale explication de cette différence. De plus, il faut se rappeler que le HVA résulte de l'activité enzymatique de la COMT sur le DOPAC et non directement sur la DA. Le 3-MT, métabolite direct de la DA médié par le COMT, n'a pu être mesuré, toutefois il est fort probable que les effets de l'estrogènes sur l'augmentation de la DA extracellulaire mentionnés plus haut aient pu se traduire par des variations de concentration de 3-MT. Dans la littérature aucun article ne fait mention de différence sexuelle, ou de l'effet de l'estrogène sur les concentrations de 3-MT.

Contrairement à la voie nigro-striée, la régulation de l'activité dopaminergique mésolimbique et mésocorticale est moins strictement régulée par le fonctionnement du DAT et des autorécepteurs (Madras *et al.*, 2005). Dans le CPF et l'amygdale, le transporteur de noradrénaline (NET) est également fortement impliqué dans la régulation du niveau extracellulaire de DA (Moron *et al.*, 2002; Devoto *et al.*, 2004). Une fois recyclé, la DA peut être transformée en NE, mais également co-libérée avec la NE (Madras *et al.*, 2005). Il est donc possible que les femelles recyclent davantage de DA via le NET comparativement aux mâles qui utiliseraient davantage le DAT augmentant ainsi les concentrations de DOPAC. Cette possibilité semble fort probable étant donné qu'il semble que les femelles expriment davantage de NET que les mâles dans le CPF (Vathy *et al.*, 1997; Duchesne *et al.*, 2006).

Résultats sérotoninergiques

Des différences sexuelles ont également été observées pour le système 5-HTergique. En accord avec nos résultats, il a été observé que les femelles présentaient davantage de 5-HT tissulaires dans plusieurs régions dont l'hippocampe, le cortex frontal, l'hypothalamus et le striatum (Carlsson *et al.*, 1985; Carlsson and Carlsson, 1988; Haleem *et al.*, 1990; Papaioannou *et al.*, 2002; Beck et Luine, 2002; Droussopoulou *et al.* 2004). Cependant, plusieurs de ces études soutiennent que les femelles présentent également davantage de métabolite (Carlsson *et al.*, 1985; Carlsson et Carlsson, 1988; Haleem *et al.*, 1990). Dans notre étude, seule les concentrations de 5-HIAA dans l'hippocampe sont plus élevées chez les femelles. Néanmoins, les mâles expriment un ratio hippocampique significativement plus grand, sans compter qu'ils présentent davantage de 5-HIAA et un plus grand ratio 5-HIAA/5-HT dans l'amygdale et les régions corticales.

Plusieurs ont rapporté que les femelles étaient plus sensibles à diverses modifications du système sérotoninergique (Biegon *et al.*, 1979 ; Carlsson *et al.*, 1985; Dickinson et Curzon, 1986; Haleem *et al.*, 1990 ; Blanchard *et al.*, 1991). Chez les humains des études d'imageries suggèrent que le taux de synthèse de 5-HT est plus de 50% supérieur chez les hommes comparativement aux femmes (Nishizawa *et al.*, 1997; Sakai *et al.*, 2006) et que cette même mesure dans le cortex corrèle négativement avec la dépression sévère ou avec des comportements suicidaires (Leyton *et al.*, 2006). Parallèlement, chez le rat on a démontré que le taux de décharges spontanées des neurones du NRD des mâles étaient plus de 40% supérieur aux femelles cyclées (Klink *et al.*, 2002). Ces résultats coïncident avec ce que nous observons où les mâles ont davantage de métabolites et de plus grand ratios dans la plupart des régions terminales

observées, ce qui suggère normalement une plus grande activité sérotoninergique chez les mâles.

Stress et neurochimie

Les animaux exposés à un stress répété présente un profil neurochimique particulier, particulièrement dans les régions corticales. Ainsi, dans le CPFm le stress répété semble avoir induit une réduction des concentration de DA et de DOPAC (tableau 1B). L'activité dopaminergique du CPFm est déterminante dans le développement de mécanisme d'adaptation de la réponse de stress, il est donc conséquent d'observer un effet du stress répété dans cette région. On observe également une augmentation significative de l'activité 5-HTergique (5-HIAA et ratio de métabolisation) dans le cortex insulaire des animaux exposés au stress répété (Tableau 4B). Suivant l'exposition à un environnement nouveau, Berridge *et al.*, rapportèrent une augmentation de l'activité 5-HTergique dans cette région qui tendait à être plus importante chez les animaux exprimant un comportement plus adapté (Berridge *et al.*, 1999). Il semblerait donc l'activité 5-HTergique dans l'insula soit importante dans l'émergence d'une réponse adaptée.

Tout comme pour la latéralisation hémisphérique, l'échantillonnage des régions cérébrales quelques heures après l'expérience du stress pourrait expliquer l'absence d'effets marqués du stress répété sur les résultats neurochimiques dans les régions sous corticales. Cette attente délibérée était nécessaire à l'observation du retour à la normale de l'activité neuroendocrinienne, cependant il est possible que plusieurs différences neurochimiques liés à la réponse de stress aient été davantage prononcées si mesurées pendant l'activation de la réponse ou immédiatement après.

Effets neurochimiques des manipulations néonatales

Dans l'ensemble des résultats obtenus lors de cette étude, l'effet du H sur le système sérotoninergique démontre l'importance de cette procédure dans le développement des systèmes régulateurs de la réponse de stress et des émotions et ce malgré l'absence (ou la faiblesse statistique) des effets attendus sur la réponse de stress. De plus, cet effet uniquement présent chez les mâles confirme que la réactivité différente des mâles et des femelles au H.

Ainsi, nous avons démontré que le H résultait en l'augmentation de la métabolisation de 5-HT, caractérisée par l'augmentation significative des niveaux tissulaires de 5-HIAA (dans le CPF et l'amygdale) et du ratio de métabolisation (dans l'insula) (fig.3). Ainsi, l'effet observé du H sur l'activité neurochimique qui touche particulièrement les mâles vient partiellement confirmer l'hypothèse 3. Une étude menée par Smythe *et al.*, a également permis de démontrer que le H augmentait le ratio de métabolisation de la 5-HT dans le cortex frontal et l'hippocampe, mais seulement en tant que rats et non à l'âge adulte (Smythe *et al.*, 1994). Il est possible que notre procédure expérimentale, exposant les animaux à davantage de tests, est contributive à révéler cette différence de fonctionnement du système 5-HTergique à l'âge adulte uniquement chez les mâles. Il a d'ailleurs été démontré que certains effets du H étaient accentués par l'exposition à un environnement enrichi (Escorihuela *et al.*, 1994).

Récemment, Stamatakis *et al.*, démontrèrent que le H entraîne l'augmentation de la densité de récepteurs 5HT 1A hippocampiques de même que l'expression de son ARNm chez les mâles et réduit ces deux mesures chez les femelles (Stamatakis *et al.*, 2006). Ce récepteur hippocampique semble déterminant dans la réduction des comportements anxieux et l'adaptation de la réponse de stress (Van Praag *et al.*, 2004). Chez les rats, l'exposition à un environnement enrichi pendant 30 jours entraîne

l'augmentation de l'expression du récepteur 5-HT_{1a} postsynaptique (Rasmuson *et al.*, 1998) et à l'inverse suivant un stress chronique ou prénatal on observe sa réduction (Daniels *et al.*, 2000; Griffin *et al.*, 2005).

Cette découverte supporte partiellement l'idée émise qu'à l'inverse des mâles, le H fragiliserait les systèmes de régulation de la réponse de stress des femelles alors qu'il favorise l'hyperfonction neuroendocrinienne et augmente les comportements dit dépressifs (Papaioannou *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003; Panagiotaropoulos *et al.*, 2004). Toutefois, dans nos résultats l'effet néfaste du H chez les femelles n'a été démontré dans aucune mesure.

Dans un commentaire critique à propos d'une revue de littérature par Ficht et Denenberg, Jane Stewart exposa le fait que contrairement au mâle, dont le développement cérébral est fortement lié à la présence d'estrogène périnatal, la femelle demeure sensible beaucoup plus longtemps aux effets structuraux de l'estrogène (jusqu'à l'arrêt du système reproducteur) (Ficht et Denenberg, 1998). Cette susceptibilité prolongée à l'estrogène favoriserait une plus grande plasticité du cerveau des femelles (Stewart dans Ficht et Denenberg, 1998). Effectivement, le rôle de l'estrogène sur la plasticité neuronale de régions tel que l'hippocampe a été plusieurs fois démontré et semble au cœur de la régulation de la réponse de stress (McEwen, 2002). En effet, lorsque soumis à un stress chronique, les femelles présentent une adaptation de la réponse de stress alors que la réponse des mâles est sensibilisé (Bowman *et al.*, 2003). Récemment, Radley et Morrison ont également souligné l'importance de l'estrogène dans la plasticité cérébrale à l'origine de l'adaptation de la réponse de stress (Radley et Morrison, 2005). Il est donc possible que notre procédure expérimentale, qui chez les mâles semble avoir révélé l'effet du H sur l'activité 5-HTergique aurait, à l'opposé,

contribué à minimiser un possible effet de H chez les femelles. De fait, les mesures 5-HTergique dans l'hippocampe suggèrent que les femelles H, à l'inverse des mâles, présenteraient des ratios de métabolisation plus faible que les NH (figure 3.). Il est donc important de garder en tête qu'il existe des différences sexuelles dans l'effet induit par le H, mais que la plus grande plasticité des femelles risque davantage de limiter l'observation de ces différences à long terme.

L'effet du H est également observable dans l'activité dopaminergique, cependant ces effets sont les même pour les mâles et les femelles. Il a été démontré que le H, comme le taux de soins maternels entraînent des modifications à long terme du système dopaminergique (Zhang *et al.*, 2005; Sullivan et Dufresne 2006). En accord avec la littérature, nous avons également démontré que le H entraînait une augmentation de la concentration de DOPAC dans le CPFm des mâles et des femelles (tableau 1B). L'augmentation de l'activité dopaminergique dans le CPFm semble être déterminante dans la régulation de la réponse de stress et du développement des mécanismes d'adaptation (Sullivan, 2004). Ainsi, d'après les résultats obtenus, il semblerait que les changements induits par le H sur le développement du système sérotoninergique soient davantage variables en fonction du sexe comparativement au système dopaminergique.

Conclusions générales

Cette étude, qui avait pour principal objectif de caractériser les différences sexuelles dans le développement, la réactivité et la régulation de la réponse de stress, a soulevé d'importantes différences sexuelles, notamment au niveau neurochimique, qui n'avaient pas été rapportés auparavant. Ainsi, dans notre étude nous avons observé que comparativement aux mâles les femelles sont globalement plus actives, explorent davantage, présentent une plus grande activité de l'axe HHS au niveau basal et en

réponse de stress, s'adaptent similairement à un stress répétés et présentent un profil neurochimique complexe. Le faible effet du H ne nous a pas permis de vérifier certaines hypothèses quant à l'activité de la réponse de stress, mais il n'en demeure pas moins que cette procédure a entraîné des modifications neurochimiques à long termes qui ne sont présentes que chez les mâles.

Les possibles mécanismes neurobiologiques sous-jacents aux différences neurochimiques observées entre les mâles et les femelles sont multiples. Nos résultats ne nous permettent pas d'affirmer si les mâles, présentant davantage de métabolites et ayant des ratios plus élevés, utilisent davantage de neurotransmetteurs et/ou ont une plus grande neurotransmission. Indépendamment des mécanismes, les concentrations de métabolites et les ratios retrouvés dans le CPFm, l'insula, l'amygdale et l'hippocampe sont significativement et systématiquement corrélés avec une réduction des taux d'hormones de stress (voir texte de résultat). L'inhibition de l'activité de l'axe HHS par l'activité neurochimique de ces régions semblerait donc moins efficace chez les femelles. Il est possible que d'autres facteurs tel que les hormones sexuelles limitent l'activité neurochimique, d'autres études seront nécessaires afin de mieux comprendre cette différence.

Principale cible pharmacologique des antidépresseurs, la neurotransmission sérotoninergique joue un rôle déterminant dans la régulation du stress et des émotions alors que l'activité dopaminergique particulièrement dans le CPFm et l'amygdale semble déterminante dans la capacité d'adaptation au stress et la protection contre les effets des pathologies reliées au stress (Ray and Henke, 1991; reviewed in Sullivan, 2004; Sullivan and Dufresne, 2006). Sous certaines conditions expérimentales, nous avons démontré qu'il existe des différences sexuelles importantes dans le fonctionnement des ces

systèmes, qui pourraient contribuer à une plus grande vulnérabilité des femmes à développer certains troubles liés à la régulation du stress et des émotions.

Pour une meilleure compréhension des différences sexuelles reliées à la réponse de stress

Cette section, consacrée aux études futures est généralement assez succincte, cependant compte tenu que cette étude a abordé plusieurs thèmes et que l'étude des différences sexuelles en rapport avec la réponse de stress est un champ relativement récent, cette section sera par conséquent plus longue. Il sera donc d'abord question de certaines précisions méthodologiques, de différentes approches qui permettent plus raisonnablement de mesurer le comportement anxieux des mâles et des femelles, de l'importance des hormones ovariennes dans la manifestation des différences sexuelles, et finalement de l'emploi d'approches expérimentales plus mécanistes.

Précisions méthodologiques

Plusieurs des résultats observés dans notre étude, n'ont pas été rapportés dans la littérature. Un des arguments plusieurs fois énoncé dans la discussion était la variation de la méthode expérimentale. Il est vrai que l'exposition à divers tests entraîne des modifications neurobiologiques qui risquent de réduire ou de modifier l'effet d'un traitement. Afin d'évaluer l'ampleur de ces possibles modifications, il est important d'avoir des groupes contrôles (naïfs) d'autant plus lorsque qu'il est question de différence sexuelles compte tenu que les femelles semblent être plus sensibles aux variations d'environnement que les mâles.

Lors de cette étude, nous avons mesuré les capacités régulatrices de l'axe HHS en évaluant les concentrations plasmatiques d'ACTH et corticoïdes une heure suivant la fin du stressor (20 minutes de restriction). Ce n'est qu'après un minimum de deux

heures que les animaux ont été sacrifiés, c'est-à-dire au moins 3 heures après la fin de l'exposition au stress. C'est pourquoi, nous considérons que les mesures neurochimiques résultantes sont le reflet d'une activité cérébrale basale. Toutefois, ce décalage temporel entre les mesures endocriniennes et neurochimiques nous empêche d'établir une relation claire entre la régulation de la réponse de au stress et les concentrations dopaminergique et sérotoninergique cérébrales. De plus, il est probable que certaines différences neurochimiques soient davantage observables lorsque ces systèmes sont activement sollicités.

Ainsi, il serait intéressant d'évaluer simultanément les mesures neuroendocriniens et neurochimiques sur différents temps suivant l'exposition au stress afin de vérifier la relation entre les concentrations cérébrales de DA et de 5-HT (et de leurs métabolites respectif) et la régulation de l'activité de l'axe HHS. Ceci pourrait être effectuée par l'introduction de cathéter, qui minimiserait le stress associé aux prélèvements sanguins, en combinaison avec des systèmes de mesures neurochimiques *in vivo* telles que la microdialyse. Dans le cas où ces dispositifs ne sont pas disponibles, il est possible d'établir des mesures endocrâniennes et neurochimiques simultanées en employant plusieurs groupes d'animaux dont le temps du sacrifice varierait suivant l'exposition au stress.

Interpréter les différences sexuelles dans le comportement

Tel que mentionné dans la discussion, la grande majorité des tests qui mesurent le comportement anxieux et/ou d'exploration ont été élaborés et validés majoritairement chez des mâles (Palanza, 2001;). De plus, jusqu'à tout récemment, personne n'avait clairement établi l'existence possible d'une réponse de stress différente en fonction du genre (Taylor *et al*, 2000). Face à ce nouveau cadre théorique qui multiplie les

interprétations des différences sexuelles, il est important de bien préciser le comportement à observer et de choisir un test qui permet de mesurer avec le moins d'ambiguïté possible le même comportement chez les mâles et les femelles. Par exemple, la plupart des gens qui ont testé des mâles et des femelles dans l'EPM témoigneront que leur comportement global est différent. Cette différence est très intéressante et devrait être davantage investiguée, mais pose problème lorsqu'on emploie des mesures d'anxiété qui ne semblent pas s'appliquer aux deux sexes. En ce sens, l'évaluation du comportement anxieux des mâles et des femelles devrait être effectuée à partir de tests tel que l'exposition à un prédateur. Cette menace naturelle produit des réactions comportementales similaires chez le mâle et la femelle, mais à des degrés divers, confirmant davantage que le comportement enregistré peut davantage être interprété de la même façon pour un mâle et une femelle (Blanchard *et al.*, 1992).

L'importance de mesurer la cyclicité ovarienne

Associé à des changements importants de concentrations hormonales, les variations de cycle ovarien influencent plusieurs systèmes physiologiques dont la réponse de stress. L'effet des variations de cycle a été démontré sur l'activité de l'axe HHS et certaines mesures comportementales associées à la réponse de stress (Burgess and Handa, 1992; Marcondes *et al.*, 2001; Frye *et al.*, 2000; Rhodes and Frye, 2001; Figueiredo *et al.*, 2002; Lunga and Herbert, 2004). De plus, l'effet de plusieurs procédures dont H semble se manifester que pendant certaines phase du cycle (Severino *et al.*, 2004). L'estrogène, via l'activation du récepteur œstrogénique β semble avoir de forte propriété anxiolytique (Lund *et al.*, 2005). Il est également important de mesurer l'impact des variations de cycles la plasticité neuronale et par conséquent la capacité d'adaptation, qui semble fortement relié à l'action de l'estrogène.

Dans la présente étude nous voulions d'abord caractériser certaines différences sexuelles de base, mais il est certain qu'une meilleure compréhension de ces différences passe par l'évaluation du rôle des hormones sexuelles. Le système reproducteur féminin rythme une foule de systèmes et on ne peut en faire abstraction si nous voulons comprendre le fonctionnement de réponse tel que le stress. De plus, une quantité de troubles émotifs de même que la sévérité de certains symptômes dépressifs semblent varier en fonction du cycle renforçant la pertinence de mieux comprendre l'implication des hormones ovariennes dans les systèmes de régulation de la réponse de stress et des émotions.

Modèle néonatal

Dans notre étude, nous avons employé le paradigme du H qui se veut une très faible modification de l'environnement néonatal. Tel que mentionné, les éléments dans cette procédure qui entraînent ces changements à long terme demeurent largement inconnus. Ainsi, afin de limiter les sources d'ambiguïtés quant aux raisons associées à la production ou non d'effet, d'autre procédure plus sévère telle que la séparation maternelle seront davantage favorisées dans le futur puisqu'elle semble reproduire des effets plus importants et stables et que l'ensemble de ces effets semblent provenir de l'activation prématurée de la réponse de stress (Pryce et Feldon, 2003). Les procédures néonatales sont très intéressantes parce qu'elles permettent d'observer l'importance de cette période sur le développement de propriétés particulières, mais dans l'optique de l'étude des différences sexuelles un paradigme davantage caractérisé semble plus approprié.

Futures approches expérimentales

Dans notre étude nous avons investigué l'activité des systèmes dopaminergique et sérotoninergique par la quantification tissulaire des neurotransmetteurs et de leurs métabolites. Dans le future, il serait très intéressant de quantifier les trois principaux métabolites de la DA, particulièrement le 3-MT dont les concentrations risquent de varier en fonction du sexe compte tenu des effets recensés de l'estrogène du la libération de DA.

La quantification tissulaire *post-mortem* par HPLC-EC est une méthode qui nous a permis de caractériser grossièrement l'activité de ces systèmes chez un grand nombre d'animaux et de recueillir des données par hémisphères. Toutefois, il est impossible de cerner les mécanismes à l'origine de ces différences. Il serait donc intéressant de vérifier certaines des hypothèses avec des approches plus ciblées qui permettent de mieux saisir les différences tant dans l'expression de certain récepteurs et site ce re-capture que dans la libération des neurotransmetteurs. Par exemple, la microdialyse et la voltamétrie *in vivo*, chez des animaux en mouvement, permettent d'observer les modifications neurochimiques en temps réel. Ces techniques constituent des outils intéressants afin de mesurer les différences neurochimiques associées au processus d'habituation ou à la latéralisation hémisphérique qui semblent davantage survenir pendant la réponse de stress. Finalement, l'investigation du système NE, qui constitue un élément important de la régulation de stress et qui semble être fortement relié à la régulation dopaminergique dans l'ensemble des régions du systèmes limbiques, constitue une piste intéressante afin de préciser certaines différences sexuelles obtenues dans cette étude.

SOURCES DOCUMENTAIRES

Abercrombie HC, Schaefer SM, Larson CL, Oakes TR, Lindgren KA, Holden JE, Perlman SB, Turski PA, Krahn DD, Benca RM, Davidson RJ (1998) Metabolic rate in the right amygdala predicts negative affect in depressed patients. *Neuroreport* 9:3301-3307.

Adamec RE (1999) Evidence that limbic neural plasticity in the right hemisphere mediates partial kindling induced lasting increases in anxiety-like behavior: effects of low frequency stimulation (quenching?) on long term potentiation of amygdala efferents and behavior following kindling. *Brain Res* 839:133-152.

Adamec RE (2000) Evidence that long-lasting potentiation in limbic circuits mediating defensive behaviour in the right hemisphere underlies pharmacological stressor (FG-7142) induced lasting increases in anxiety-like behaviour: role of benzodiazepine receptors. *J Psychopharmacol* 14:307-322.

Adell A, Casanovas JM, Artigas F (1997) Comparative study in the rat of the actions of different types of stress on the release of 5-HT in raphe nuclei and forebrain areas. *Neuropharmacology* 36:735-741.

Agid O, Shapira B, Zislin J, Ritsner M, Hanin B, Murad H, Troudart T, Bloch M, Heresco-Levy U, 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.

Akana SF, Chu A, Soriano L, Dallman MF (2001) Corticosterone exerts site-specific and state-dependent effects in prefrontal cortex and amygdala on regulation of adrenocorticotrophic hormone, insulin and fat depots. *J Neuroendocrinol* 13:625-637.

Akers KG, Reeb BC, Tang AC (2004) Developmentally stable sex-dependent modulation of turning asymmetry by neonatal novelty exposure. *Behav Brain Res* 155:257-263.

Alfarez DN, Joels M, Krugers HJ (2003) Chronic unpredictable stress impairs long-term potentiation in rat hippocampal CA1 area and dentate gyrus in vitro. *Eur J Neurosci* 17:1928-1934.

Alfarez DN, Wiegert O, Krugers HJ (2006) Stress, corticosteroid hormones and hippocampal synaptic function. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 5:521-529.

Almeida OF, Conde GL, Crochemore C, Demeneix BA, Fischer D, Hassan AH, Meyer M, Holsboer F, Michaelidis TM (2000) Subtle shifts in the ratio between pro- and antiapoptotic molecules after activation of corticosteroid receptors decide neuronal fate. *FASEB J* 14:779-790.

Alonso SJ, Castellano MA, Afonso D, Rodriguez M (1991) Sex differences in behavioral despair: relationships between behavioral despair and open field activity. *Physiol Behav* 49:69-72.

Amat J, Baratta MV, Paul E, Bland ST, Watkins LR, Maier SF (2005) Medial prefrontal cortex determines how stressor controllability affects behavior and dorsal raphe nucleus. *Nat Neurosci* 8:365-371.

Amin Z, Canli T, Epperson CN (2005) Effect of estrogen-serotonin interactions on mood and cognition. *Behav Cogn Neurosci Rev* 4:43-58.

Andersen SL, Dumont NL, Teicher MH (2002) Differences in behavior and monoamine laterality following neonatal clomipramine treatment. *Dev Psychobiol* 41:50-57.

Andersen SL, Teicher MH (2004) Delayed effects of early stress on hippocampal development. *Neuropsychopharmacology* 29:1988-1993.

Andrade TG, Nakamuta JS, Avanzi V, Graeff FG (2005) Anxiolytic effect of estradiol in the median raphe nucleus mediated by 5-HT_{1A} receptors. *Behav Brain Res* 163:18-25.

Armitage R, Hoffmann RF (2001) Sleep EEG, depression and gender. *Sleep Med Rev* 5:237-246.

Bale TL, Vale WW (2004) CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44:525-557.

Bamberger CM, Schulte HM, Chrousos GP (1996) Molecular determinants of glucocorticoid receptor function and tissue sensitivity to glucocorticoids. *Endocr Rev* 17:245-261.

Barden N (1999) Regulation of corticosteroid receptor gene expression in depression and antidepressant action. *J Psychiatry Neurosci* 24:25-39.

Barden N (2004) Implication of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the physiopathology of depression. *J Psychiatry Neurosci* 29:185-193.

Barros HM, Ferigolo M (1998) Ethopharmacology of imipramine in the forced-swimming test: gender differences. *Neurosci Biobehav Rev* 23:279-286.

Beaulieu S, Di PT, Barden N (1986) Control of ACTH secretion by the central nucleus of the amygdala: implication of the serotonergic system and its relevance to the glucocorticoid delayed negative feedback mechanism. *Neuroendocrinology* 44:247-254.

Bear M.F., Connors B.F., Paradiso M.A.; *Neurosciences à la découverte du cerveau*, Pradel, Paris, 1999.

Beck CH, Fibiger HC (1995) Chronic desipramine alters stress-induced behaviors and regional expression of the immediate early gene, c-fos. *Pharmacol Biochem Behav* 51:331-338.

Beck KD, Luine VN (2002) Sex differences in behavioral and neurochemical profiles after chronic stress: role of housing conditions. *Physiol Behav* 75:661-673.

Becker JB (1999) Gender differences in dopaminergic function in striatum and nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 64:803-812.

Becker JB (2000) Oestrogen effects on dopaminergic function in striatum. *Novartis Found Symp* 230:134-145.

Becker JB, Rudick CN, Jenkins WJ (2001) The role of dopamine in the nucleus accumbens and striatum during sexual behavior in the female rat. *J Neurosci* 21:3236-3241.

Beekman M, Flachskamm C, Linthorst AC (2005) Effects of exposure to a predator on behaviour and serotonergic neurotransmission in different brain regions of C57bl/6N mice. *Eur J Neurosci* 21:2825-2836.

Bellido I, Gomez-Luque A, Garcia-Carrera P, Rius F, de la Cuesta FS (2003) Female rats show an increased sensibility to the forced swim test depressive-like stimulus in the hippocampus and frontal cortex 5-HT_{1A} receptors. *Neurosci Lett* 350:145-148.

Bellido I, Hansson AC, Gomez-Luque AJ, Andbjør B, Agnati LF, Fuxe K (2004) Corticosterone strongly increases the affinity of dorsal raphe 5-HT_{1A} receptors. *Neuroreport* 15:1457-1459.

Bennur S, Shankaranarayana Rao BS, Pawlak R, Strickland S, McEwen BS, Chattarji S (2007) Stress-induced spine loss in the medial amygdala is mediated by tissue-plasminogen activator. *Neuroscience* 144:8-16.

Berridge CW, Mitton E, Clark W, Roth RH (1999) Engagement in a non-escape (displacement) behavior elicits a selective and lateralized suppression of frontal cortical dopaminergic utilization in stress. *Synapse* 32:187-197.

Bethea CL, Lu NZ, Gundlach C, Streicher JM (2002) Diverse actions of ovarian steroids in the serotonin neural system. *Front Neuroendocrinol* 23:41-100.

Biegon A, Segal M, Samuel D (1979) Sex differences in behavioral and thermal responses to pargyline and tryptophan. *Psychopharmacology (Berl)* 61:77-80.

Bisagno V, Ferguson D, Luine VN (2003) Chronic D-amphetamine induces sexually dimorphic effects on locomotion, recognition memory, and brain monoamines. *Pharmacol Biochem Behav* 74:859-867.

Bischoff S, Scatton B, Korf J (1979) Dopamine metabolism, spiperone binding and adenylate cyclase activity in the adult rat hippocampus after ingrowth of dopaminergic neurones from embryonic implants. *Brain Res* 179:77-84.

Blanchard DC, Shepherd JK, De Padua CA, Blanchard RJ (1991) Sex effects in defensive behavior: baseline differences and drug interactions. *Neurosci Biobehav Rev* 15:461-468.

Blanchard DC, Shepherd JK, Rodgers RJ, Blanchard RJ (1992) Evidence for differential effects of 8-OH-DPAT on male and female rats in the Anxiety/Defense Test Battery. *Psychopharmacology (Berl)* 106:531-539.

Bland ST, Hargrave D, Pepin JL, Amat J, Watkins LR, Maier SF (2003) Stressor controllability modulates stress-induced dopamine and serotonin efflux and morphine-induced serotonin efflux in the medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 28:1589-1596.

Blier P, de MC (1994) Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol Sci* 15:220-226.

Borsini F, Brambilla A, Grippa N, Pitsikas N (1999) Behavioral effects of flibanserin (BIMT 17). *Pharmacol Biochem Behav* 64:137-146.

Bowman RE, Beck KD, Luine VN (2003) Chronic stress effects on memory: sex differences in performance and monoaminergic activity. *Horm Behav* 43:48-59.

Bowman RE, MacLusky NJ, Sarmiento Y, Frankfurt M, Gordon M, Luine VN (2004) Sexually dimorphic effects of prenatal stress on cognition, hormonal responses, and central neurotransmitters. *Endocrinology* 145:3778-3787.

Bradley MM, Codispoti M, Sabatinelli D, Lang PJ (2001) Emotion and motivation II: sex differences in picture processing. *Emotion* 1:300-319.

Brake WG, Zhang TY, Diorio J, Meaney MJ, Gratton A (2004) Influence of early postnatal rearing conditions on mesocorticolimbic dopamine and behavioural responses to psychostimulants and stressors in adult rats. *Eur J Neurosci* 19:1863-1874.

Broersen LM, Heinsbroek RP, de Bruin JP, Laan JB, Joosten RN, Olivier B (1995) Local pharmacological manipulations of prefrontal dopamine affect conflict behaviour in rats. *Behav Pharmacol* 6:395-404.

Broersen LM, Abbate F, Feenstra MG, de Bruin JP, Heinsbroek RP, Olivier B (2000) Prefrontal dopamine is directly involved in the anxiogenic interoceptive cue of pentylene-tetrazol but not in the interoceptive cue of chlordiazepoxide in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 149:366-376.

Brotto LA, Barr AM, Gorzalka BB (2000) Sex differences in forced-swim and open-field test behaviours after chronic administration of melatonin. *Eur J Pharmacol* 402:87-93.

Brouette-Lahlou I, Godinot F, Vernet-Maury E (1999) The mother rat's vomeronasal organ is involved in detection of dodecyl propionate, the pup's preputial gland pheromone. *Physiol Behav* 66:427-436.

Brown AS, Gershon S (1993) Dopamine and depression. *J Neural Transm Gen Sect* 91:75-109.

Brown LL, Siegel H, Etgen AM (1996) Global sex differences in stress-induced activation of cerebral metabolism revealed by 2-deoxyglucose autoradiography. *Horm Behav* 30:611-617.

Brown SM, Henning S, Wellman CL (2005) Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 15:1714-1722.

Bruder GE, Stewart JW, Tenke CE, McGrath PJ, Leite P, Bhattacharya N, Quitkin FM (2001) Electroencephalographic and perceptual asymmetry differences between responders and nonresponders to an SSRI antidepressant. *Biol Psychiatry* 49:416-425.

Bruder GE, Schneier FR, Stewart JW, McGrath PJ, Quitkin F (2004) Left hemisphere dysfunction during verbal dichotic listening tests in patients who have social phobia with or without comorbid depressive disorder. *Am J Psychiatry* 161:72-78.

Burgess LH, Handa RJ (1992) Chronic estrogen-induced alterations in adrenocorticotropin and corticosterone secretion, and glucocorticoid receptor-mediated functions in female rats. *Endocrinology* 131:1261-1269.

Bymaster FP, Zhang W, Carter PA, Shaw J, Chernet E, Phebus L, Wong DT, Perry KW (2002) Fluoxetine, but not other selective serotonin uptake inhibitors, increases norepinephrine and dopamine extracellular levels in prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 160:353-361.

Cabib S, Puglisi-Allegra S (1996) Stress, depression and the mesolimbic dopamine system. *Psychopharmacology (Berl)* 128:331-342.

Cahill L, Uncapher M, Kilpatrick L, Alkire MT, Turner J (2004) Sex-related hemispheric lateralization of amygdala function in emotionally influenced memory: an fMRI investigation. *Learn Mem* 11:261-266.

Cahill L (2005) His brain, her brain. *Sci Am* 292:40-47.

Calogero AE, Gallucci WT, Chrousos GP, Gold PW (1988) Catecholamine effects upon rat hypothalamic corticotropin-releasing hormone secretion in vitro. *J Clin Invest* 82:839-846.

Calogero AE, Bagdy G, Moncada ML, D'Agata R (1993) Effect of selective serotonin agonists on basal, corticotrophin-releasing hormone- and vasopressin-induced ACTH release in vitro from rat pituitary cells. *J Endocrinol* 136:381-387.

Camp DM, Robinson TE, Becker JB (1984) Sex differences in the effects of early experience on the development of behavioral and brain asymmetries in rats. *Physiol Behav* 33:433-439.

Camp DM, Robinson TE (1988) Susceptibility to sensitization. II. The influence of gonadal hormones on enduring changes in brain monoamines and behavior produced by the repeated administration of D-amphetamine or restraint stress. *Behav Brain Res* 30:69-88.

Canli T, Desmond JE, Zhao Z, Gabrieli JD (2002) Sex differences in the neural basis of emotional memories. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:10789-10794.

Carlson JN, Fitzgerald LW, Keller RW, Jr., Glick SD (1993) Lateralized changes in prefrontal cortical dopamine activity induced by controllable and uncontrollable stress in the rat. *Brain Res* 630:178-187.

Carlsson M, Svensson K, Eriksson E, Carlsson A (1985) Rat brain serotonin: biochemical and functional evidence for a sex difference. *J Neural Transm* 63:297-313.

Carlsson M, Carlsson A (1988) In vivo evidence for a greater brain tryptophan hydroxylase capacity in female than in male rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 338:345-349.

Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, Craig IW, Harrington H, McClay J, Mill J, Martin J, Braithwaite A, Poulton R (2003) Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science* 301:386-389.

Cervo L, Grignaschi G, Samanin R (1990) The role of the mesolimbic dopaminergic system in the desipramine effect in the forced swimming test. *Eur J Pharmacol* 178:129-133.

Chadda R, Devaud LL (2004) Sex differences in effects of mild chronic stress on seizure risk and GABAA receptors in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 78:495-504.

Champagne FA, Francis DD, Mar A, Meaney MJ (2003) Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiol Behav* 79:359-371.

Chaouloff F (1995) Regulation of 5-HT receptors by corticosteroids: where do we stand? *Fundam Clin Pharmacol* 9:219-233.

Chaouloff F (2000) Serotonin, stress and corticoids. *J Psychopharmacol* 14:139-151.

Chapillon P, Patin V, Roy V, Vincent A, Caston J (2002) Effects of pre- and postnatal stimulation on developmental, emotional, and cognitive aspects in rodents: a review. *Dev Psychobiol* 41:373-387.

Charmandari E, Kino T, Chrousos GP (2004) Glucocorticoids and their actions: an introduction. *Ann N Y Acad Sci* 1024:1-8.

Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G (2005) Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol* 67:259-284.

Charney DS, Woods SW, Goodman WK, Heninger GR (1987) Neurobiological mechanisms of panic anxiety: biochemical and behavioral correlates of yohimbine-induced panic attacks. *Am J Psychiatry* 144:1030-1036.

Clark MM, Santamaria BT, Robertson RK, Galef BG, Jr. (1998) Effects of gonadectomy in infancy and adulthood on handedness in male and female Mongolian gerbils. *Behav Neurosci* 112:1026-1029.

Clement HW, Kirsch M, Hasse C, Opper C, Gemsa D, Wesemann W (1998) Effect of repeated immobilization on serotonin metabolism in different rat brain areas and on serum corticosterone. *J Neural Transm* 105:1155-1170.

Coleman-Mesches K, McGaugh JL (1995) Differential effects of pretraining inactivation of the right or left amygdala on retention of inhibitory avoidance training. *Behav Neurosci* 109:642-647.

Coleman-Mesches K, McGaugh JL (1995) Muscimol injected into the right or left amygdaloid complex differentially affects retention performance following aversively motivated training. *Brain Res* 676:183-188.

Coleman-Mesches K, McGaugh JL (1995) Differential involvement of the right and left amygdalae in expression of memory for aversively motivated training. *Brain Res* 670:75-81.

Colla M, Kronenberg G, Deuschle M, Meichel K, Hagen T, Bohrer M, Heuser I (2006) Hippocampal volume reduction and HPA-system activity in major depression. *J Psychiatr Res*.

Cook SC, Wellman CL (2004) Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *J Neurobiol* 60:236-248.

Coplan JD, Goetz R, Klein DF, Papp LA, Fyer AJ, Liebowitz MR, Davies SO, Gorman JM (1998) Plasma cortisol concentrations preceding lactate-induced panic. Psychological, biochemical, and physiological correlates. *Arch Gen Psychiatry* 55:130-136.

Corcoran C, Walker E, Huot R, Mittal V, Tessner K, Kestler L, Malaspina D (2003) The stress cascade and schizophrenia: etiology and onset. *Schizophr Bull* 29:671-692.

Costela C, Tejedor-Real P, Mico JA, Gibert-Rahola J (1995) Effect of neonatal handling on learned helplessness model of depression. *Physiol Behav* 57:407-410.

Cullinan WE, Herman JP, Battaglia DF, Akil H, Watson SJ (1995) Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience* 64:477-505.

Curtis AL, Bethea T, Valentino RJ (2006) Sexually dimorphic responses of the brain norepinephrine system to stress and corticotropin-releasing factor. *Neuropsychopharmacology* 31:544-554.

Dalla C, Antoniou K, Drossopoulou G, Xagoraris M, Kokras N, Sfikakis A, Papadopoulou-Daifoti Z (2005) Chronic mild stress impact: are females more vulnerable? *Neuroscience* 135:703-714.

Daniels WM, Pietersen CY, Carstens ME, Daya S, Stein D (2000) Overcrowding induces anxiety and causes loss of serotonin 5HT-1a receptors in rats. *Metab Brain Dis* 15:287-295.

D'Aquila PS, Collu M, Gessa GL, Serra G (2000) The role of dopamine in the mechanism of action of antidepressant drugs. *Eur J Pharmacol* 405:365-373.

Datson NA, van der PJ, de Kloet ER, Vreugdenhil E (2001) Identification of corticosteroid-responsive genes in rat hippocampus using serial analysis of gene expression. *Eur J Neurosci* 14:675-689.

Davidson RJ (1998) Anterior electrophysiological asymmetries, emotion, and depression: conceptual and methodological conundrums. *Psychophysiology* 35:607-614.

Davidson RJ, Jackson DC, Kalin NH (2000) Emotion, plasticity, context, and regulation: perspectives from affective neuroscience. *Psychol Bull* 126:890-909.

Dayas CV, Buller KM, Day TA (1999) Neuroendocrine responses to an emotional stressor: evidence for involvement of the medial but not the central amygdala. *Eur J Neurosci* 11:2312-2322.

Dayas CV, Day TA (2002) Opposing roles for medial and central amygdala in the initiation of noradrenergic cell responses to a psychological stressor. *Eur J Neurosci* 15:1712-1718.

Dazzi L, Serra M, Spiga F, Pisu MG, Jentsch JD, Biggio G (2001) Prevention of the stress-induced increase in frontal cortical dopamine efflux of freely moving rats by long-term treatment with antidepressant drugs. *Eur Neuropsychopharmacol* 11:343-349.

De Kloet ER, Vreugdenhil E, Oitzl MS, Joels M (1998) Brain corticosteroid receptor balance in health and disease. *Endocr Rev* 19:269-301.

De Kloet ER, Joels M, Holsboer F (2005) Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* 6:463-475.

De B, Keshavan MS, Clark DB, Casey BJ, Giedd JN, Boring AM, Frustaci K, Ryan ND (1999) A.E. Bennett Research Award. Developmental traumatology. Part II: Brain development. *Biol Psychiatry* 45:1271-1284.

De BK, Vanden BW, Haegeman G (2003) The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappaB or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. *Endocr Rev* 24:488-522.

Deakin JF, Pennell I, Upadhyaya AJ, 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.

Deakin JF, Graeff FG, Guimaraes FS (1993) Clinical implication of microdialysis findings. *Trends Pharmacol Sci* 14:263.

Denenberg V.H. (1981) Hemispheric laterality in animals and the effects of early experience. *Behav. Brain Sci.*, 4: 1-49.

Deuschle M, Schweiger U, Weber B, Gotthardt U, Korner A, Schmider J, Standhardt H, Lammers CH, Heuser I (1997) Diurnal activity and pulsatility of the hypothalamus-pituitary-adrenal system in male depressed patients and healthy controls. *J Clin Endocrinol Metab* 82:234-238.

Devoto P, Flore G, Pira L, Longu G, Gessa GL (2004) Mirtazapine-induced corelease of dopamine and noradrenaline from noradrenergic neurons in the medial prefrontal and occipital cortex. *Eur J Pharmacol* 487:105-111.

Di S, Malcher-Lopes R, Halmos KC, Tasker JG (2003) Nongenomic glucocorticoid inhibition via endocannabinoid release in the hypothalamus: a fast feedback mechanism. *J Neurosci* 23:4850-4857.

Diamond DM, Bennett MC, Fleshner M, Rose GM (1992) Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation. *Hippocampus* 2:421-430.

Diamond MC (1991) Hormonal effects on the development or cerebral lateralization. *Psychoneuroendocrinology* 16:121-129.

Dickinson SL, Curzon G (1986) 5-Hydroxytryptamine-mediated behaviour in male and female rats. *Neuropharmacology* 25:771-776.

Dinan TG (1994) Glucocorticoids and the genesis of depressive illness. A psychobiological model. *Br J Psychiatry* 164:365-371.

Diorio D, Viau V, Meaney MJ (1993) The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *J Neurosci* 13:3839-3847.

Disshon KA, Boja JW, Dluzen DE (1998) Inhibition of striatal dopamine transporter activity by 17beta-estradiol. *Eur J Pharmacol* 345:207-211.

Dluzen DE (2000) Neuroprotective effects of estrogen upon the nigrostriatal dopaminergic system. *J Neurocytol* 29:387-399.

Dluzen DE, Mickley KR (2005) Gender differences in modulatory effects of tamoxifen upon the nigrostriatal dopaminergic system. *Pharmacol Biochem Behav* 80:27-33.

Doherty MD, Gratton A (1996) Medial prefrontal cortical D1 receptor modulation of the meso-accumbens dopamine response to stress: an electrochemical study in freely-behaving rats. *Brain Res* 715:86-97.

Dominguez R, Cruz-Morales SE, Carvalho MC, Xavier M, Brandao ML (2003) Sex differences in serotonergic activity in dorsal and median raphe nucleus. *Physiol Behav* 80:203-210.

Drevets WC, Videen TQ, MacLeod AK, Haller JW, Raichle ME (1992) PET images of blood flow changes during anxiety: correction. *Science* 256:1696.

Drevets WC, Burton H, Videen TO, Snyder AZ, Simpson JR, Jr., Raichle ME (1995) Blood flow changes in human somatosensory cortex during anticipated stimulation. *Nature* 373:249-252.

Drevets WC, Price JL, Simpson JR, Jr., Todd RD, Reich T, Vannier M, Raichle ME (1997) Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 386:824-827.

Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Holt D, Greer PJ, Huang Y, Gautier C, Mathis C (1999) PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry* 46:1375-1387.

Drevets WC (2001) Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* 11:240-249.

Drevets WC, Bogers W, Raichle ME (2002) Functional anatomical correlates of antidepressant drug treatment assessed using PET measures of regional glucose metabolism. *Eur Neuropsychopharmacol* 12:527-544.

Drevets WC (2003) Neuroimaging abnormalities in the amygdala in mood disorders. *Ann N Y Acad Sci* 985:420-444.

Duncko R, Kiss A, Skultetyova I, Rusnak M, Jezova D (2001) Corticotropin-releasing hormone mRNA levels in response to chronic mild stress rise in male but not in female rats while tyrosine hydroxylase mRNA levels decrease in both sexes. *Psychoneuroendocrinology* 26:77-89.

Dunn JD, Orr SE (1984) Differential plasma corticosterone responses to hippocampal stimulation. *Exp Brain Res* 54:1-6.

Dunn JD, Whitener J (1986) Plasma corticosterone responses to electrical stimulation of the amygdaloid complex: cytoarchitectural specificity. *Neuroendocrinology* 42:211-217.

Durand M, Sarrieau A, Aguerre S, Mormede P, Chaouloff F (1998) Differential effects of neonatal handling on anxiety, corticosterone response to stress, and hippocampal glucocorticoid and serotonin (5-HT)_{2A} receptors in Lewis rats. *Psychoneuroendocrinology* 23:323-335.

Erb S, Shaham Y, Stewart J (1996) Stress reinstates cocaine-seeking behavior after prolonged extinction and a drug-free period. *Psychopharmacology (Berl)* 128:408-412.

Escorihuela RM, Tobena A, Fernandez-Teruel A (1994) Environmental enrichment reverses the detrimental action of early inconsistent stimulation and increases the beneficial effects of postnatal handling on shuttlebox learning in adult rats. *Behav Brain Res* 61:169-173.

Espejo EF, Minano FJ (1999) Prefrontocortical dopamine depletion induces antidepressant-like effects in rats and alters the profile of desipramine during Porsolt's test. *Neuroscience* 88:609-615.

Falconer EM, Galea LA (2003) Sex differences in cell proliferation, cell death and defensive behavior following acute predator odor stress in adult rats. *Brain Res* 975:22-36.

Feldman S, Weidenfeld J (1993) The dorsal hippocampus modifies the negative feedback effect of glucocorticoids on the adrenocortical and median eminence CRF-41 responses to photic stimulation. *Brain Res* 614:227-232.

Feldman S, Conforti N, Itzik A, Weidenfeld J (1994) Differential effect of amygdaloid lesions on CRF-41, ACTH and corticosterone responses following neural stimuli. *Brain Res* 658:21-26.

Feldman S, 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.

Fenoglio KA, Chen Y, Baram TZ (2006) Neuroplasticity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis early in life requires recurrent recruitment of stress-regulating brain regions. *J Neurosci* 26:2434-2442.

Fernandes C, McKittrick CR, File SE, McEwen BS (1997) Decreased 5-HT_{1A} and increased 5-HT_{2A} receptor binding after chronic corticosterone associated with a behavioural indication of depression but not anxiety. *Psychoneuroendocrinology* 22:477-491.

Fernandez EE (2003) Prefrontocortical dopamine loss in rats delays long-term extinction of contextual conditioned fear, and reduces social interaction without affecting short-term social interaction memory. *Neuropsychopharmacology* 28:490-498.

Ferry B, McGaugh JL (2000) Role of amygdala norepinephrine in mediating stress hormone regulation of memory storage. *Acta Pharmacol Sin* 21:481-493.

Figueiredo HF, Dolgas CM, Herman JP (2002) Stress activation of cortex and hippocampus is modulated by sex and stage of estrus. *Endocrinology* 143:2534-2540.

Figueiredo HF, Bodie BL, Tauchi M, Dolgas CM, Herman JP (2003) Stress integration after acute and chronic predator stress: differential activation of central stress circuitry and sensitization of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology* 144:5249-5258.

Fitch RH, Denenberg VH (1998) A role for ovarian hormones in sexual differentiation of the brain. *Behav Brain Sci* 21:311-327.

Fleming AS, Rosenblatt JS (1974) Maternal behavior in the virgin and lactating rat. *J Comp Physiol Psychol* 86:957-972.

Fleming DE, Anderson RH, Rhees RW, Kinghorn E, Bakaitis J (1986) Effects of prenatal stress on sexually dimorphic asymmetries in the cerebral cortex of the male rat. *Brain Res Bull* 16:395-398.

Fleshner M, Deak T, Spencer RL, Laudenslager ML, Watkins LR, Maier SF (1995) A long-term increase in basal levels of corticosterone and a decrease in corticosteroid-binding globulin after acute stressor exposure. *Endocrinology* 136:5336-5342.

Francis DD, Champagne FA, Liu D, Meaney MJ (1999) Maternal care, gene expression, and the development of individual differences in stress reactivity. *Ann N Y Acad Sci* 896:66-84.

Fride E, Dan Y, Feldon J, Halevy G, Weinstock M (1986) Effects of prenatal stress on vulnerability to stress in prepubertal and adult rats. *Physiol Behav* 37:681-687.

Frings L, Wagner K, Unterrainer J, Spreer J, Halsband U, Schulze-Bonhage A (2006) Gender-related differences in lateralization of hippocampal activation and cognitive strategy. *Neuroreport* 17:417-421.

Fuchs E, Flugge G (2006) Experimental animal models for the simulation of depression and anxiety. *Dialogues Clin Neurosci* 8:323-333.

Galea LA, McEwen BS, Tanapat P, Deak T, Spencer RL, Dhabhar FS (1997) Sex differences in dendritic atrophy of CA3 pyramidal neurons in response to chronic restraint stress. *Neuroscience* 81:689-697.

Garoflos E, Panagiotaropoulos T, Pondiki S, Stamatakis A, Philippidis E, Stylianopoulou F (2005) Cellular mechanisms underlying the effects of an early experience on cognitive abilities and affective states. *Ann Gen Psychiatry* 4:8.

Gomez F, Lahmame A, de Kloet ER, Armario A (1996) Hypothalamic-pituitary-adrenal response to chronic stress in five inbred rat strains: differential responses are mainly located at the adrenocortical level. *Neuroendocrinology* 63:327-337.

Gorman JM (2006) Gender differences in depression and response to psychotropic medication. *Gend Med* 3:93-109.

Graeff FG (1993) Role of 5-HT in defensive behavior and anxiety. *Rev Neurosci* 4:181-211.

Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF (1996) Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav* 54:129-141.

Graham YP, Heim C, Goodman SH, Miller AH, Nemeroff CB (1999) The effects of neonatal stress on brain development: implications for psychopathology. *Dev Psychopathol* 11:545-565.

Greden JF, Gardner R, King D, Grunhaus L, Carroll BJ, Kronfol Z (1983) Dexamethasone suppression tests in antidepressant treatment of melancholia. *The*

process of normalization and test-retest reproducibility. *Arch Gen Psychiatry* 40:493-500.

Griffin WC, III, Skinner HD, Birkle DL (2005) Prenatal stress influences 8-OH-DPAT modulated startle responding and [3H]-8-OH-DPAT binding in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 81:601-607.

Hajos-Korcsok E, Robinson DD, Yu JH, Fitch CS, Walker E, Merchant KM (2003) Rapid habituation of hippocampal serotonin and norepinephrine release and anxiety-related behaviors, but not plasma corticosterone levels, to repeated footshock stress in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 74:609-616.

Hajos M, Richards CD, Szekely AD, Sharp T (1998) An electrophysiological and neuroanatomical study of the medial prefrontal cortical projection to the midbrain raphe nuclei in the rat. *Neuroscience* 87:95-108.

Haleem DJ, Kennett G, Curzon G (1988) Adaptation of female rats to stress: shift to male pattern by inhibition of corticosterone synthesis. *Brain Res* 458:339-347.

Haleem DJ, Kennett GA, Curzon G (1990) Hippocampal 5-hydroxytryptamine synthesis is greater in female rats than in males and more decreased by the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT. *J Neural Transm Gen Sect* 79:93-101.

Hamann S (2005) Sex differences in the responses of the human amygdala. *Neuroscientist* 11:288-293.

Hammack SE, Richey KJ, Schmid MJ, LoPresti ML, Watkins LR, Maier SF (2002) The role of corticotropin-releasing hormone in the dorsal raphe nucleus in mediating the behavioral consequences of uncontrollable stress. *J Neurosci* 22:1020-1026.

Hammond GL, Smith CL, Paterson NA, Sibbald WJ (1990) A role for corticosteroid-binding globulin in delivery of cortisol to activated neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab* 71:34-39.

Handa RJ, Nunley KM, Bollnow MR (1993) Induction of c-fos mRNA in the brain and anterior pituitary gland by a novel environment. *Neuroreport* 4:1079-1082.

Handa RJ, Hejna GM, Lorens SA (1997) Androgen inhibits neurotransmitter turnover in the medial prefrontal cortex of the rat following exposure to a novel environment. *Brain Res* 751:131-138.

Hansson AC, Cintra A, Belluardo N, Sommer W, Bhatnagar M, Bader M, Ganten D, Fuxe K (2000) Gluco- and mineralocorticoid receptor-mediated regulation of neurotrophic factor gene expression in the dorsal hippocampus and the neocortex of the rat. *Eur J Neurosci* 12:2918-2934.

Hasler G, Drevets WC, Manji HK, Charney DS (2004) Discovering endophenotypes for major depression. *Neuropsychopharmacology* 29:1765-1781.

Hauger RL, Risbrough V, Brauns O, Dautzenberg FM (2006) Corticotropin releasing factor (CRF) receptor signaling in the central nervous system: new molecular targets. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 5:453-479.

Henke PG, Ray A, Sullivan RM (1991) The amygdala. Emotions and gut functions. *Dig Dis Sci* 36:1633-1643.

Herman JP, Schafer MK, Young EA, Thompson R, Douglass J, Akil H, Watson SJ (1989) Evidence for hippocampal regulation of neuroendocrine neurons of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J Neurosci* 9:3072-3082.

Herman JP, Cullinan WE, Young EA, Akil H, Watson SJ (1992) Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropin-releasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression. *Brain Res* 592:228-238.

Herman JP (1993) Regulation of adrenocorticosteroid receptor mRNA expression in the central nervous system. *Cell Mol Neurobiol* 13:349-372.

Herman JP, Adams D, Prewitt C (1995) Regulatory changes in neuroendocrine stress-integrative circuitry produced by a variable stress paradigm. *Neuroendocrinology* 61:180-190.

Herman JP, Cullinan WE (1997) Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci* 20:78-84.

Herman JP, Dolgas CM, Carlson SL (1998) Ventral subiculum regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical and behavioural responses to cognitive stressors. *Neuroscience* 86:449-459.

Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H (2005) Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29:1201-1213.

Hirayasu Y, Shenton ME, Salisbury DF, Kwon JS, Wible CG, Fischer IA, Yurgelun-Todd D, Zarate C, Kikinis R, Jolesz FA, McCarley RW (1999) Subgenual cingulate cortex volume in first-episode psychosis. *Am J Psychiatry* 156:1091-1093.

Hofer A, Siedentopf CM, Ischebeck A, Rettenbacher MA, Verius M, Felber S, Fleischhacker WW (2006) Gender differences in regional cerebral activity during the perception of emotion: a functional MRI study. *Neuroimage* 32:854-862.

Hofer MA (1994) Early relationships as regulators of infant physiology and behavior. *Acta Paediatr Suppl* 397:9-18.

Holsboer-Trachsler E, Stohler R, Hatzinger M (1991) Repeated administration of the combined dexamethasone-human corticotropin releasing hormone stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Res* 38:163-171.

Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W (1986) Specific binding of human corticosteroid-binding globulin to cell membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83:3253-3256.

Hurley KM, Herbert H, Moga MM, Saper CB (1991) Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *J Comp Neurol* 308:249-276.

Jackson A, Uphouse L (1998) Dose-dependent effects of estradiol benzoate on 5-HT_{1A} receptor agonist action. *Brain Res* 796:299-302.

Jackson ME, Moghaddam B (2001) Amygdala regulation of nucleus accumbens dopamine output is governed by the prefrontal cortex. *J Neurosci* 21:676-681.

Jacobs BL, Azmitia EC (1992) Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol Rev* 72:165-229.

Jacobson L, Sapolsky R (1991) The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev* 12:118-134.

Jacobson L, Sapolsky R (1993) Augmented ACTH responses to stress in adrenalectomized rats replaced with constant, physiological levels of corticosterone are partially normalized by acute increases in corticosterone. *Neuroendocrinology* 58:420-429.

Jans JE, Woodside BC (1990) Nest temperature: effects on maternal behavior, pup development, and interactions with handling. *Dev Psychobiol* 23:519-534.

Jansen LM, Gispen-de Wied CC, Gademan PJ, De Jonge RC, van der Linden JA, Kahn RS (1998) Blunted cortisol response to a psychosocial stressor in schizophrenia. *Schizophr Res* 33:87-94.

Jansen LM, Gispen-de Wied CC, Kahn RS (2000) Selective impairments in the stress response in schizophrenic patients. *Psychopharmacology (Berl)* 149:319-325.

Johnston AL, File SE (1991) Sex differences in animal tests of anxiety. *Physiol Behav* 49:245-250.

Jones P (1997) The early origins of schizophrenia. *Br Med Bull* 53:135-155.

Kandel ER, Schwartz JH, Jessell TM, Principles of neural sciences, McGraw-Hill, New York, 2000.

Kant GJ, Lenox RH, Bunnell BN, Mougey EH, Pennington LL, Meyerhoff JL (1983) Comparison of stress response in male and female rats: pituitary cyclic AMP and plasma prolactin, growth hormone and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology* 8:421-428.

Kant GJ, Meyerhoff JL, Jarrard LE (1984) Biochemical indices of reactivity and habituation in rats with hippocampal lesions. *Pharmacol Biochem Behav* 20:793-797.

Karandrea D, Kittas C, Kitraki E (2002) Forced swimming differentially affects male and female brain corticosteroid receptors. *Neuroendocrinology* 75:217-226.

Keller PA, McCluskey A, Morgan J, O'connor SM (2006) The role of the HPA axis in psychiatric disorders and CRF antagonists as potential treatments. *Arch Pharm (Weinheim)* 339:346-355.

Kennett GA, Chaouloff F, Marcou M, Curzon G (1986) Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression: the possible role of serotonin. *Brain Res* 382:416-421.

Kessler RC (2003) Epidemiology of women and depression. *J Affect Disord* 74:5-13.

Killgore WD, Yurgelun-Todd DA (2001) Sex differences in amygdala activation during the perception of facial affect. *Neuroreport* 12:2543-2547.

Kim JJ, Lee HJ, Han JS, Packard MG (2001) Amygdala is critical for stress-induced modulation of hippocampal long-term potentiation and learning. *J Neurosci* 21:5222-5228.

King JA, Barkley RA, Barrett S (1998) Attention-deficit hyperactivity disorder and the stress response. *Biol Psychiatry* 44:72-74.

Kirschbaum C, Klauer T, Filipp SH, Hellhammer DH (1995) Sex-specific effects of social support on cortisol and subjective responses to acute psychological stress. *Psychosom Med* 57:23-31.

Kirschbaum C, Kudielka BM, Gaab J, Schommer NC, Hellhammer DH (1999) Impact of gender, menstrual cycle phase, and oral contraceptives on the activity of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis. *Psychosom Med* 61:154-162.

Kiss A, Aguilera G (1992) Participation of alpha 1-adrenergic receptors in the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing hormone during stress. *Neuroendocrinology* 56:153-160.

Kitraki E, Kremmyda O, Youlatos D, Alexis MN, Kittas C (2004) Gender-dependent alterations in corticosteroid receptor status and spatial performance following 21 days of restraint stress. *Neuroscience* 125:47-55.

Klink R, Robichaud M, Debonnel G (2002) Gender and gonadal status modulation of dorsal raphe nucleus serotonergic neurons. Part II. Regulatory mechanisms. *Neuropharmacology* 43:1129-1138.

Knigge KM, Hays M (1963) Evidence of inhibitive role of hippocampus in neural regulation of ACTH release. *Proc Soc Exp Biol Med* 114:67-69.

Kole MH, Swan L, Fuchs E (2002) The antidepressant tianeptine persistently modulates glutamate receptor currents of the hippocampal CA3 commissural associational synapse in chronically stressed rats. *Eur J Neurosci* 16:807-816.

Kole MH, Costoli T, Koolhaas JM, Fuchs E (2004) Bidirectional shift in the cornu ammonis 3 pyramidal dendritic organization following brief stress. *Neuroscience* 125:337-347.

Korte SM, Koolhaas JM, Wingfield JC, McEwen BS (2005) The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the trade-offs in health and disease. *Neurosci Biobehav Rev* 29:3-38.

Kristofikova Z, Stastny F, Bubenikova V, Druga R, Klaschka J, Spaniel F (2004) Age- and sex-dependent laterality of rat hippocampal cholinergic system in relation to animal models of neurodevelopmental and neurodegenerative disorders. *Neurochem Res* 29:671-680.

Kritzer MF, Kohama SG (1999) Ovarian hormones differentially influence immunoreactivity for dopamine beta- hydroxylase, choline acetyltransferase, and serotonin in the dorsolateral prefrontal cortex of adult rhesus monkeys. *J Comp Neurol* 409:438-451.

Kuhn C, Francis R (1997) Gender difference in cocaine-induced HPA axis activation. *Neuropsychopharmacology* 16:399-407.

Laaris N, Haj-Dahmane S, Hamon M, Lanfumey L (1995) Glucocorticoid receptor-mediated inhibition by corticosterone of 5-HT_{1A} autoreceptor functioning in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology* 34:1201-1210.

Laaris N, Le PE, Hamon M, Lanfumey L (1997) Stress-induced alterations of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptor sensitivity in the rat dorsal raphe nucleus--in vitro electrophysiological evidence. *Fundam Clin Pharmacol* 11:206-214.

Ladd CO, Owens MJ, Nemeroff CB (1996) Persistent changes in corticotropin-releasing factor neuronal systems induced by maternal deprivation. *Endocrinology* 137:1212-1218.

Lee Y, Schulkin J, Davis M (1994) Effect of corticosterone on the enhancement of the acoustic startle reflex by corticotropin releasing factor (CRF). *Brain Res* 666:93-98.

Lemon N, Manahan-Vaughan D (2006) Dopamine D₁/D₅ receptors gate the acquisition of novel information through hippocampal long-term potentiation and long-term depression. *J Neurosci* 26:7723-7729.

Lesniewska B, Nowak M, Malendowicz LK (1990) Sex differences in adrenocortical structure and function. XXVIII. ACTH and corticosterone in intact, gonadectomised and gonadal hormone replaced rats. *Horm Metab Res* 22:378-381.

Leuner B, Mendolia-Loffredo S, Shors TJ (2004) Males and females respond differently to controllability and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 56:964-970.

Levine S (1967) Maternal and environmental influences on the adrenocortical response to stress in weanling rats. *Science* 156:258-260.

Levine S, Stanton ME, Gutierrez YR (1988) Maternal modulation of pituitary-adrenal activity during ontogeny. *Adv Exp Med Biol* 245:295-310.

Levine S (2002) Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the neonatal rat: the role of maternal behavior. *Neurotox Res* 4:557-564.

Leyton M, Paquette V, Gravel P, Rosa-Neto P, Weston F, Diksic M, Benkelfat C (2006) alpha-[11C]Methyl-L-tryptophan trapping in the orbital and ventral medial prefrontal cortex of suicide attempters. *Eur Neuropsychopharmacol* 16:220-223.

Liston C, Miller MM, Goldwater DS, Radley JJ, Rocher AB, Hof PR, Morrison JH, McEwen BS (2006) Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting. *J Neurosci* 26:7870-7874.

Liu B, Xie J (2004) Increased dopamine release in vivo by estradiol benzoate from the central amygdaloid nucleus of Parkinson's disease model rats. *J Neurochem* 90:654-658.

Liu D, Diorio J, Tannenbaum B, Caldji C, Francis D, Freedman A, Sharma S, Pearson D, Plotsky PM, Meaney MJ (1997) Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *Science* 277:1659-1662.

Lu NZ, Bethea CL (2002) Ovarian steroid regulation of 5-HT1A receptor binding and G protein activation in female monkeys. *Neuropsychopharmacology* 27:12-24.

Lund TD, Rovis T, Chung WC, Handa RJ (2005) Novel actions of estrogen receptor-beta on anxiety-related behaviors. *Endocrinology* 146:797-807.

Lunga P, Herbert J (2004) 17Beta-oestradiol modulates glucocorticoid, neural and behavioural adaptations to repeated restraint stress in female rats. *J Neuroendocrinol* 16:776-785.

Ma S, Morilak DA (2005) Chronic intermittent cold stress sensitises the hypothalamic-pituitary-adrenal response to a novel acute stress by enhancing noradrenergic influence in the rat paraventricular nucleus. *J Neuroendocrinol* 17:761-769.

MacLusky NJ, Yuan H, Elliott J, Brown TJ (1996) Sex differences in corticosteroid binding in the rat brain: an in vitro autoradiographic study. *Brain Res* 708:71-81.

Madras BK, Miller GM, Fischman AJ (2005) The dopamine transporter and attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry* 57:1397-1409.

Magarinos AM, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E (1996) Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci* 16:3534-3540.

Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS (1997) Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:14002-14008.

Maines LW, Keck BJ, Smith JE, Lakoski JM (1999) Corticosterone regulation of serotonin transporter and 5-HT_{1A} receptor expression in the aging brain. *Synapse* 32:58-66.

Maj J, Wedzony K, Klimek V (1987) Desipramine given repeatedly enhances behavioural effects of dopamine and d-amphetamine injected into the nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol* 140:179-185.

Makino S, Schulkin J, Smith MA, Pacak K, Palkovits M, Gold PW (1995) Regulation of corticotropin-releasing hormone receptor messenger ribonucleic acid in the rat brain and pituitary by glucocorticoids and stress. *Endocrinology* 136:4517-4525.

Mangiavacchi S, Masi F, Scheggi S, Leggio B, De Montis MG, Gambarana C (2001) Long-term behavioral and neurochemical effects of chronic stress exposure in rats. *J Neurochem* 79:1113-1121.

Marcondes FK, Miguel KJ, Melo LL, Spadari-Bratfisch RC (2001) Estrous cycle influences the response of female rats in the elevated plus-maze test. *Physiol Behav* 74:435-440.

Marieb E.N., *Anatomie et physiologie humaine*, ERPI, Paris, 1999.

Marinelli M, Piazza PV (2002) Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. *Eur J Neurosci* 16:387-394.

Marowsky A, Yanagawa Y, Obata K, Vogt KE (2005) A specialized subclass of interneurons mediates dopaminergic facilitation of amygdala function. *Neuron* 48:1025-1037.

Mayorga AJ, Dalvi A, Page ME, Zimov-Levinson S, Hen R, Lucki I (2001) Antidepressant-like behavioral effects in 5-hydroxytryptamine(1A) and 5-hydroxytryptamine(1B) receptor mutant mice. *J Pharmacol Exp Ther* 298:1101-1107.

McCormick CM, Smythe JW, Sharma S, Meaney MJ (1995) Sex-specific effects of prenatal stress on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress and brain glucocorticoid receptor density in adult rats. *Brain Res Dev Brain Res* 84:55-61.

McEwen BS (2001) Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 933:265-277.

McEwen BS (2001) Invited review: Estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J Appl Physiol* 91:2785-2801.

McEwen BS (2004) Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. *Ann N Y Acad Sci* 1032:1-7.

McKittrick CR, Blanchard DC, Blanchard RJ, McEwen BS, Sakai RR (1995) Serotonin receptor binding in a colony model of chronic social stress. *Biol Psychiatry* 37:383-393.

Meaney MJ, Aitken DH, Bodnoff SR, Iny LJ, Sapolsky RM (1985) The effects of postnatal handling on the development of the glucocorticoid receptor systems and stress recovery in the rat. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 9:731-734.

Meaney MJ, Diorio J, Francis D, Widdowson J, LaPlante P, Caldji C, Sharma S, Seckl JR, Plotsky PM (1996) Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: implications for adrenocortical responses to stress. *Dev Neurosci* 18:49-72.

Meerlo P, Horvath KM, Nagy GM, Bohus B, Koolhaas JM (1999) The influence of postnatal handling on adult neuroendocrine and behavioural stress reactivity. *J Neuroendocrinol* 11:925-933.

Meltzer CC, Price JC, Mathis CA, Butters MA, Ziolkowski SK, Moses-Kolko E, Mazumdar S, Mulsant BH, Houck PR, Lopresti BJ, Weissfeld LA, Reynolds CF (2004) Serotonin 1A receptor binding and treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 29:2258-2265.

Mendelson SD, McEwen BS (1991) Autoradiographic analyses of the effects of restraint-induced stress on 5-HT_{1A}, 5-HT_{1C} and 5-HT₂ receptors in the dorsal hippocampus of male and female rats. *Neuroendocrinology* 54:454-461.

Meyer JH, McMains S, Kennedy SH, Korman L, Brown GM, DaSilva JN, Wilson AA, Blak T, Eynan-Harvey R, Goulding VS, Houle S, Links P (2003) Dysfunctional attitudes and 5-HT₂ receptors during depression and self-harm. *Am J Psychiatry* 160:90-99.

Mitra R, Vyas A, Chatterjee G, Chattarji S (2005) Chronic-stress induced modulation of different states of anxiety-like behavior in female rats. *Neurosci Lett* 383:278-283.

Modell S, Yassouridis A, Huber J, Holsboer F (1997) Corticosteroid receptor function is decreased in depressed patients. *Neuroendocrinology* 65:216-222.

Moghaddam B (1993) Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. *J Neurochem* 60:1650-1657.

Moghaddam B (2002) Stress activation of glutamate neurotransmission in the prefrontal cortex: implications for dopamine-associated psychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 51:775-787.

Moja EA, Cipolla P, Castoldi D, Tofanetti O (1989) Dose-response decrease in plasma tryptophan and in brain tryptophan and serotonin after tryptophan-free amino acid mixtures in rats. *Life Sci* 44:971-976.

Montkowski A, Barden N, Wotjak C, Stec I, Ganster J, Meaney M, Engelmann M, Reul JM, Landgraf R, Holsboer F (1995) Long-term antidepressant treatment reduces behavioural deficits in transgenic mice with impaired glucocorticoid receptor function. *J Neuroendocrinol* 7:841-845.

Moore CL, Wong L, Daum MC, Leclair OU (1997) Mother-infant interactions in two strains of rats: implications for dissociating mechanism and function of a maternal pattern. *Dev Psychobiol* 30:301-312.

Morilak DA, Barrera G, Echevarria DJ, Garcia AS, Hernandez A, Ma S, Petre CO (2005) Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 29:1214-1224.

Morimoto M, Morita N, Ozawa H, Yokoyama K, Kawata M (1996) Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neurosci Res* 26:235-269.

Morissette M, Di PT (1993) Sex and estrous cycle variations of rat striatal dopamine uptake sites. *Neuroendocrinology* 58:16-22.

Moron JA, Brockington A, Wise RA, Rocha BA, Hope BT (2002) Dopamine uptake through the norepinephrine transporter in brain regions with low levels of the dopamine transporter: evidence from knock-out mouse lines. *J Neurosci* 22:389-395.

Morrow BA, Elsworth JD, Rasmusson AM, Roth RH (1999) The role of mesoprefrontal dopamine neurons in the acquisition and expression of conditioned fear in the rat. *Neuroscience* 92:553-564.

Morrow BA, Elsworth JD, Lee EJ, Roth RH (2000) Divergent effects of putative anxiolytics on stress-induced fos expression in the mesoprefrontal system of the rat. *Synapse* 36:143-154.

Motzer SA, Hertig V (2004) Stress, stress response, and health. *Nurs Clin North Am* 39:1-17.

Mueller NK, Dolgas CM, Herman JP (2004) Stressor-selective role of the ventral subiculum in regulation of neuroendocrine stress responses. *Endocrinology* 145:3763-3768.

Myers DA, Gibson M, Schulkin J, Greenwood Van-Meerveld B (2005) Corticosterone implants to the amygdala and type 1 CRH receptor regulation: effects on behavior and colonic sensitivity. *Behav Brain Res* 161:39-44.

Nair SM, Karst H, Dumas T, Phillips R, Sapolsky RM, Rumpff-van EL, Maslam S, Lucassen PJ, Joels M (2004) Gene expression profiles associated with survival of individual rat dentate cells after endogenous corticosteroid deprivation. *Eur J Neurosci* 20:3233-3243.

Nakahara D, Nakamura M (1999) Differential effect of immobilization stress on in vivo synthesis rate of monoamines in medial prefrontal cortex and nucleus accumbens of conscious rats. *Synapse* 32:238-242.

Neafsey EJ (1990) Prefrontal cortical control of the autonomic nervous system: anatomical and physiological observations. *Prog Brain Res* 85:147-165.

Nemeroff CB, Kalivas PW, Golden RN, Prange AJ, Jr. (1984) Behavioral effects of hypothalamic hypophysiotropic hormones, neurotensin, substance P and other neuropeptides. *Pharmacol Ther* 24:1-56.

Netto SM, Guimaraes FS (1996) Role of hippocampal 5-HT_{1A} receptors on elevated plus maze exploration after a single restraint experience. *Behav Brain Res* 77:215-218.

Nishizawa S, Benkelfat C, Young SN, Leyton M, Mzengeza S, de MC, Blier P, Diksic M (1997) Differences between males and females in rates of serotonin synthesis in human brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:5308-5313.

Noble RE (2005) Depression in women. *Metabolism* 54:49-52.

Noguchi T, Yoshida Y, Chiba S (2001) Effects of psychological stress on monoamine systems in subregions of the frontal cortex and nucleus accumbens of the rat. *Brain Res* 916:91-100.

Nuller JL, Ostroumova MN (1980) Resistance to inhibiting effect of dexamethasone in patients with endogenous depression. *Acta Psychiatr Scand* 61:169-177.

Nunez JF, Ferre P, Escorihuela RM, Tobena A, Fernandez-Teruel A (1996) Effects of postnatal handling of rats on emotional, HPA-axis, and prolactin reactivity to novelty and conflict. *Physiol Behav* 60:1355-1359.

Oitzl MS, de Kloet ER (1992) Selective corticosteroid antagonists modulate specific aspects of spatial orientation learning. *Behav Neurosci* 106:62-71.

Palanza P (2001) Animal models of anxiety and depression: how are females different? *Neurosci Biobehav Rev* 25:219-233.

Panagiotaropoulos T, Pondiki S, Papaioannou A, Alikaridis F, Stamatakis A, Gerozissis K, Stylianopoulou F (2004) Neonatal handling and gender modulate brain monoamines and plasma corticosterone levels following repeated stressors in adulthood. *Neuroendocrinology* 80:181-191.

Pani L, Gessa GL (2002) The substituted benzamides and their clinical potential on dysthymia and on the negative symptoms of schizophrenia. *Mol Psychiatry* 7:247-253.

Papaioannou A, Gerozissis K, Prokopiou A, Bolaris S, Stylianopoulou F (2002) Sex differences in the effects of neonatal handling on the animal's response to stress and the vulnerability for depressive behaviour. *Behav Brain Res* 129:131-139.

Pape HC (2005) GABAergic neurons: gate masters of the amygdala, mastered by dopamine. *Neuron* 48:877-879.

Papp M, Klimek V, Willner P (1994) Parallel changes in dopamine D₂ receptor binding in limbic forebrain associated with chronic mild stress-induced anhedonia and its reversal by imipramine. *Psychopharmacology (Berl)* 115:441-446.

Park MK, Hoang TA, Belluzzi JD, Leslie FM (2003) Gender specific effect of neonatal handling on stress reactivity of adolescent rats. *J Neuroendocrinol* 15:289-295.

Parsey RV, Olvet DM, Oquendo MA, Huang YY, Ogden RT, Mann JJ (2006) Higher 5-HT_{1A} receptor binding potential during a major depressive episode predicts poor treatment response: preliminary data from a naturalistic study. *Neuropsychopharmacology* 31:1745-1749.

Patten SB (2000) Exogenous corticosteroids and major depression in the general population. *J Psychosom Res* 49:447-449.

Pecina S, Schulkin J, Berridge KC (2006) Nucleus accumbens corticotropin-releasing factor increases cue-triggered motivation for sucrose reward: paradoxical positive incentive effects in stress? *BMC Biol* 4:8.

Pecins-Thompson M, Bethea CL (1999) Ovarian steroid regulation of serotonin-1A autoreceptor messenger RNA expression in the dorsal raphe of rhesus macaques. *Neuroscience* 89:267-277.

Pecknold JC, Luthe L, Scott-Fleury MH, Jenkins S (1993) Gepirone and the treatment of panic disorder: an open study. *J Clin Psychopharmacol* 13:145-149.

Pehk EA, Nocjar C, Roth BL, Byrd TA, Mabrouk OS (2006) Evidence for the preferential involvement of 5-HT_{2A} serotonin receptors in stress- and drug-induced dopamine release in the rat medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology* 31:265-277.

Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M (1985) Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 14:149-167.

Pepin MC, Beaulieu S, Barden N (1989) Antidepressants regulate glucocorticoid receptor messenger RNA concentrations in primary neuronal cultures. *Brain Res Mol Brain Res* 6:77-83.

Perrot-Sinal TS, Gregus A, Boudreau D, Kalynchuk LE (2004) Sex and repeated restraint stress interact to affect cat odor-induced defensive behavior in adult rats. *Brain Res* 1027:161-172.

Pezze MA, Feldon J (2004) Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol* 74:301-320.

Plaznik A, Kostowski W (1987) The effects of antidepressants and electroconvulsive shocks on the functioning of the mesolimbic dopaminergic system: a behavioral study. *Eur J Pharmacol* 135:389-396.

Ploj K, Pham TM, Bergstrom L, Mohammed AH, Henriksson BG, Nylander I (1999) Neonatal handling in rats induces long-term effects on dynorphin peptides. *Neuropeptides* 33:468-474.

Plotsky PM, Meaney MJ (1993) Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res Mol Brain Res* 18:195-200.

Plotsky PM, Thirivikraman KV, Nemeroff CB, Caldji C, Sharma S, Meaney MJ (2005) Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. *Neuropsychopharmacology* 30:2192-2204.

Pozzi L, Invernizzi R, Garavaglia C, Samanin R (1999) Fluoxetine increases extracellular dopamine in the prefrontal cortex by a mechanism not dependent on serotonin: a comparison with citalopram. *J Neurochem* 73:1051-1057.

Price JL (1999) Prefrontal cortical networks related to visceral function and mood. *Ann N Y Acad Sci* 877:383-396.

Pryce CR, Bettschen D, Feldon J (2001) Comparison of the effects of early handling and early deprivation on maternal care in the rat. *Dev Psychobiol* 38:239-251.

Pryce CR, Ruedi-Bettschen D, Dettling AC, Weston A, Russig H, Ferger B, Feldon J (2005) Long-term effects of early-life environmental manipulations in rodents and primates: Potential animal models in depression research. *Neurosci Biobehav Rev* 29:649-674.

Puig MV, Artigas F, Celada P (2005) Modulation of the activity of pyramidal neurons in rat prefrontal cortex by raphe stimulation in vivo: involvement of serotonin and GABA. *Cereb Cortex* 15:1-14.

Rabiner EA, Bhagwagar Z, Gunn RN, Cowen PJ, Grasby PM (2004) Preferential 5-HT_{1A} autoreceptor occupancy by pindolol is attenuated in depressed patients: effect of treatment or an endophenotype of depression? *Neuropsychopharmacology* 29:1688-1698.

Radley JJ, Morrison JH (2005) Repeated stress and structural plasticity in the brain. *Ageing Res Rev* 4:271-287.

Radley JJ, Arias CM, Sawchenko PE (2006) Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress. *J Neurosci* 26:12967-12976.

Radley JJ, Rocher AB, Miller M, Janssen WG, Liston C, Hof PR, McEwen BS, Morrison JH (2006) Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 16:313-320.

Raghupathi RK, McGonigle P (1997) Differential effects of three acute stressors on the serotonin 5-HT_{1A} receptor system in rat brain. *Neuroendocrinology* 65:246-258.

Rasmuson S, Olsson T, Henriksson BG, Kelly PA, Holmes MC, Seckl JR, Mohammed AH (1998) Environmental enrichment selectively increases 5-HT_{1A} receptor mRNA expression and binding in the rat hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 53:285-290.

Reul JM, de Kloet ER (1985) Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology* 117:2505-2511.

Reul JM, de Kloet ER (1986) Anatomical resolution of two types of corticosterone receptor sites in rat brain with in vitro autoradiography and computerized image analysis. *J Steroid Biochem* 24:269-272.

Rivier C (1999) Gender, sex steroids, corticotropin-releasing factor, nitric oxide, and the HPA response to stress. *Pharmacol Biochem Behav* 64:739-751.

Robinson RG, Kubos KL, Starr LB, Rao K, Price TR (1984) Mood disorders in stroke patients. Importance of location of lesion. *Brain* 107 (Pt 1):81-93.

Rosenkranz JA, Grace AA (2002) Cellular mechanisms of infralimbic and prelimbic prefrontal cortical inhibition and dopaminergic modulation of basolateral amygdala neurons in vivo. *J Neurosci* 22:324-337.

Rosenkranz JA, Buffalari DM, Grace AA (2006) Opposing influence of basolateral amygdala and footshock stimulation on neurons of the central amygdala. *Biol Psychiatry* 59:801-811.

Ross DA, Glick SD, Meibach RC (1981) Sexually dimorphic brain and behavioral asymmetries in the neonatal rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 78:1958-1961.

Rousseau GG, Baxter JD, Tomkins GM (1972) Glucocorticoid receptors: relations between steroid binding and biological effects. *J Mol Biol* 67:99-115.

Rubin RT, Mandell AJ, Crandall PH (1966) Corticosteroid responses to limbic stimulation in man: localization of stimulus sites. *Science* 153:767-768.

Rueter LE, Jacobs BL (1996) A microdialysis examination of serotonin release in the rat forebrain induced by behavioral/environmental manipulations. *Brain Res* 739:57-69.

Sabban EL, Kvetnansky R (2001) Stress-triggered activation of gene expression in catecholaminergic systems: dynamics of transcriptional events. *Trends Neurosci* 24:91-98.

Sakai Y, Nishikawa M, Leyton M, Benkelfat C, Young SN, Diksic M (2006) Cortical trapping of alpha-[(11)C]methyl-l-tryptophan, an index of serotonin synthesis, is lower in females than males. *Neuroimage* 33:815-824.

Sandi C, Davies HA, Cordero MI, Rodriguez JJ, Popov VI, Stewart MG (2003) Rapid reversal of stress induced loss of synapses in CA3 of rat hippocampus following water maze training. *Eur J Neurosci* 17:2447-2456.

Sandi C (2004) Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecules. *Nat Rev Neurosci* 5:917-930.

Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS (1984) Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81:6174-6177.

Sapolsky RM (1986) Glucocorticoid toxicity in the hippocampus: reversal by supplementation with brain fuels. *J Neurosci* 6:2240-2244.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU (2000) How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev* 21:55-89.

Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J, Gunn RN, Grasby PM, Cowen PJ (2000) Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* 57:174-180.

Sarrieau A, Sharma S, Meaney MJ (1988) Postnatal development and environmental regulation of hippocampal glucocorticoid and mineralocorticoid receptors. *Brain Res* 471:158-162.

Schaaf MJ, Hoetelmans RW, de Kloet ER, Vreugdenhil E (1997) Corticosterone regulates expression of BDNF and trkB but not NT-3 and trkC mRNA in the rat hippocampus. *J Neurosci Res* 48:334-341.

Schank JC, McClintock MK (1997) Ovulatory pheromone shortens ovarian cycles of female rats living in olfactory isolation. *Physiol Behav* 62:899-904.

Schirmer A, Zysset S, Kotz SA, Yves von CD (2004) Gender differences in the activation of inferior frontal cortex during emotional speech perception. *Neuroimage* 21:1114-1123.

Seckl JR, Fink G (1991) Use of in situ hybridization to investigate the regulation of hippocampal corticosteroid receptors by monoamines. *J Steroid Biochem Mol Biol* 40:685-688.

Seckl JR, Meaney MJ (2004) Glucocorticoid programming. *Ann N Y Acad Sci* 1032:63-84.

Seckl JR, Meaney MJ (2006) Glucocorticoid "programming" and PTSD risk. *Ann N Y Acad Sci* 1071:351-378.

Selye H (1970) The evolution of the stress concept. *Stress and cardiovascular disease. Am J Cardiol* 26:289-299.

Severino GS, Fossati IA, Padoin MJ, Gomes CM, Trevizan L, Sanvitto GL, Franci CR, nselmo-Franci JA, Lucion AB (2004) Effects of neonatal handling on the behavior and prolactin stress response in male and female rats at various ages and estrous cycle phases of females. *Physiol Behav* 81:489-498.

Shansky RM, Rubinow K, Brennan A, Arnsten AF (2006) The effects of sex and hormonal status on restraint-stress-induced working memory impairment. *Behav Brain Funct* 2:8.

Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, Vannier MW (1996) Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:3908-3913.

Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH (1999) Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci* 19:5034-5043.

Shepard JD, Barron KW, Myers DA (2000) Corticosterone delivery to the amygdala increases corticotropin-releasing factor mRNA in the central amygdaloid nucleus and anxiety-like behavior. *Brain Res* 861:288-295.

Sherman GF, Garbanati JA, Rosen GD, Hofmann M, Yutzey DA, Denenberg VH (1983) Lateralization of spatial preference in the female rat. *Life Sci* 33:189-193.

Shirao N, Okamoto Y, Okada G, Ueda K, Yamawaki S (2005) Gender differences in brain activity toward unpleasant linguistic stimuli concerning interpersonal relationships: an fMRI study. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 255:327-333.

Siegle GJ, Konecky RO, Thase ME, Carter CS (2003) Relationships between amygdala volume and activity during emotional information processing tasks in depressed and never-depressed individuals: an fMRI investigation. *Ann N Y Acad Sci* 985:481-484.

Simpson JR, Jr., Drevets WC, Snyder AZ, Gusnard DA, Raichle ME (2001) Emotion-induced changes in human medial prefrontal cortex: II. During anticipatory anxiety. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:688-693.

Singer CJ, Khan MS, Rosner W (1988) Characteristics of the binding of corticosteroid-binding globulin to rat cell membranes. *Endocrinology* 122:89-96.

Singh VB, Onaivi ES, Phan TH, Boadle-Biber MC (1990) The increases in rat cortical and midbrain tryptophan hydroxylase activity in response to acute or repeated sound stress are blocked by bilateral lesions to the central nucleus of the amygdala. *Brain Res* 530:49-53.

Singh VB, Hao-Phan T, Corley KC, Boadle-Biber MC (1992) Increase in cortical and midbrain tryptophan hydroxylase activity by intracerebroventricular administration of corticotropin releasing factor: block by adrenalectomy, by RU 38486 and by bilateral lesions to the central nucleus of the amygdala. *Neurochem Int* 20:81-92.

Smythe JW, Rowe WB, Meaney MJ (1994) Neonatal handling alters serotonin (5-HT) turnover and 5-HT₂ receptor binding in selected brain regions: relationship to the handling effect on glucocorticoid receptor expression. *Brain Res Dev Brain Res* 80:183-189.

Speck O, Ernst T, Braun J, Koch C, Miller E, Chang L (2000) Gender differences in the functional organization of the brain for working memory. *Neuroreport* 11:2581-2585.

Spencer RL, Kim PJ, Kalman BA, Cole MA (1998) Evidence for mineralocorticoid receptor facilitation of glucocorticoid receptor-dependent regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity. *Endocrinology* 139:2718-2726.

Spiga F, Lightman SL, Shekhar A, Lowry CA (2006) Injections of urocortin 1 into the basolateral amygdala induce anxiety-like behavior and c-Fos expression in brainstem serotonergic neurons. *Neuroscience* 138:1265-1276.

Stamatakis A, Mantelas A, Papaioannou A, Pondiki S, Fameli M, Stylianopoulou F (2006) Effect of neonatal handling on serotonin 1A sub-type receptors in the rat hippocampus. *Neuroscience* 140:1-11.

Steenbergen HL, Heinsbroek RP, Van HF, Van de Poll NE (1989) Sex-dependent effects of inescapable shock administration on behavior and subsequent escape performance in rats. *Physiol Behav* 45:781-787.

Stevenson CW, Sullivan RM, Gratton A (2003) Effects of basolateral amygdala dopamine depletion on the nucleus accumbens and medial prefrontal cortical dopamine responses to stress. *Neuroscience* 116:285-293.

Stewart J, Kolb B (1988) The effects of neonatal gonadectomy and prenatal stress on cortical thickness and asymmetry in rats. *Behav Neural Biol* 49:344-360.

Storey JD, Robertson DA, Beattie JE, Reid IC, Mitchell SN, Balfour DJ (2006) Behavioural and neurochemical responses evoked by repeated exposure to an elevated open platform. *Behav Brain Res* 166:220-229.

Sullivan RM, Szechtman H (1995) Asymmetrical influence of mesocortical dopamine depletion on stress ulcer development and subcortical dopamine systems in rats: implications for psychopathology. *Neuroscience* 65:757-766.

Sullivan RM, Gratton A (1999) Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *J Neurosci* 19:2834-2840.

Sullivan RM, Gratton A (2002) Prefrontal cortical regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal function in the rat and implications for psychopathology: side matters. *Psychoneuroendocrinology* 27:99-114.

Sullivan RM (2004) Hemispheric asymmetry in stress processing in rat prefrontal cortex and the role of mesocortical dopamine. *Stress* 7:131-143.

Sullivan RM, Dufresne MM (2006) Mesocortical dopamine and HPA axis regulation: role of laterality and early environment. *Brain Res* 1076:49-59.

Takahashi LK (1998) Prenatal stress: consequences of glucocorticoids on hippocampal development and function. *Int J Dev Neurosci* 16:199-207.

Tang AC, Reeb BC, Romeo RD, McEwen BS (2003) Modification of social memory, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and brain asymmetry by neonatal novelty exposure. *J Neurosci* 23:8254-8260.

Tang AC, Reeb BC (2004) Neonatal novelty exposure, dynamics of brain asymmetry, and social recognition memory. *Dev Psychobiol* 44:84-93.

Tang AC, Akers KG, Reeb BC, Romeo RD, McEwen BS (2006) Programming social, cognitive, and neuroendocrine development by early exposure to novelty. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:15716-15721.

Tanila H, Taira T, Piepponen TP, Honkanen A (1994) Effect of sex and age on brain monoamines and spatial learning in rats. *Neurobiol Aging* 15:733-741.

Taylor SE, Klein LC, Lewis BP, Gruenewald TL, Gurung RA, Updegraff JA (2000) Biobehavioral responses to stress in females: tend-and-befriend, not fight-or-flight. *Psychol Rev* 107:411-429.

Teicher MH, Andersen SL, Polcari A, Anderson CM, Navalta CP, Kim DM (2003) The neurobiological consequences of early stress and childhood maltreatment. *Neurosci Biobehav Rev* 27:33-44.

Tejedor-Real P, Costela C, Gibert-Rahola J (1998) Neonatal handling reduces emotional reactivity and susceptibility to learned helplessness. Involvement of catecholaminergic systems. *Life Sci* 62:37-50.

Temel Y, Helmy A, Pinnock S, Herbert J (2003) Effect of serotonin depletion on the neuronal, endocrine and behavioural responses to corticotropin-releasing factor in the rat. *Neurosci Lett* 338:139-142.

Thiels E, Verbalis JG, Stricker EM (1990) Sodium appetite in lactating rats. *Behav Neurosci* 104:742-750.

Thompson TL, Moss RL (1997) Modulation of mesolimbic dopaminergic activity over the rat estrous cycle. *Neurosci Lett* 229:145-148.

Thompson TL, Moss RL (1997) Modulation of mesolimbic dopaminergic activity over the rat estrous cycle. *Neurosci Lett* 229:145-148.

Thompson TL (1999) Attenuation of dopamine uptake in vivo following priming with estradiol benzoate. *Brain Res* 834:164-167.

Thompson TL, Certain ME (2005) Estrogen mediated inhibition of dopamine transport in the striatum: regulation by G alpha i/o. *Eur J Pharmacol* 511:121-126.

Tranel D, Bechara A, Denburg NL (2002) Asymmetric functional roles of right and left ventromedial prefrontal cortices in social conduct, decision-making, and emotional processing. *Cortex* 38:589-612.

Traustadottir T, Bosch PR, Matt KS (2003) Gender differences in cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis responses to psychological stress in healthy older adult men and women. *Stress* 6:133-140.

Traustadottir T, Bosch PR, Matt KS (2005) The HPA axis response to stress in women: effects of aging and fitness. *Psychoneuroendocrinology* 30:392-402.

Turner BB, Weaver DA (1985) Sexual dimorphism of glucocorticoid binding in rat brain. *Brain Res* 343:16-23.

Uhart M, Chong RY, Oswald L, Lin PI, Wand GS (2006) Gender differences in hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis reactivity. *Psychoneuroendocrinology* 31:642-652.

Uno H, Tarara R, Else JG, Suleman MA, Sapolsky RM (1989) Hippocampal damage associated with prolonged and fatal stress in primates. *J Neurosci* 9:1705-1711.

Vallee M, Mayo W, Dellu F, Le MM, Simon H, Maccari S (1997) Prenatal stress induces high anxiety and postnatal handling induces low anxiety in adult offspring: correlation with stress-induced corticosterone secretion. *J Neurosci* 17:2626-2636.

Van EM, Berkhof H, Nicolson N, Sulon J (1996) The effects of perceived stress, traits, mood states, and stressful daily events on salivary cortisol. *Psychosom Med* 58:447-458.

Van Praag H.M., De Kloet R., Van Os J., *Stress, the brain and depression*, Cambridge university press, Cambridge, 2004, 283 pages.

Varga V, Szekely AD, Csillag A, Sharp T, Hajos M (2001) Evidence for a role of GABA interneurons in the cortical modulation of midbrain 5-hydroxytryptamine neurons. *Neuroscience* 106:783-792.

Vathy I, Sokol J, Etgen AM (1997) Gender-related differences exist in cortical [3H]nisoxetine binding and are not affected by prenatal morphine exposure. *Neuroscience* 76:331-334.

Viaua V, Meaney MJ (1991) Variations in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 129:2503-2511.

Vyas A, Mitra R, Shankaranarayana Rao BS, Chattarji S (2002) Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci* 22:6810-6818.

Vyas A, Chattarji S (2004) Modulation of different states of anxiety-like behavior by chronic stress. *Behav Neurosci* 118:1450-1454.

Vythilingam M, Vermetten E, Anderson GM, Luckenbaugh D, Anderson ER, Snow J, Staib LH, Charney DS, Bremner JD (2004) Hippocampal volume, memory, and cortisol status in major depressive disorder: effects of treatment. *Biol Psychiatry* 56:101-112.

Walker QD, Rooney MB, Wightman RM, Kuhn CM (2000) Dopamine release and uptake are greater in female than male rat striatum as measured by fast cyclic voltammetry. *Neuroscience* 95:1061-1070.

Weinstock M, Razin M, Schorer-Apelbaum D, Men D, McCarty R (1998) Gender differences in sympathoadrenal activity in rats at rest and in response to footshock stress. *Int J Dev Neurosci* 16:289-295.

Weiss, EL, Goodman PA, Losito BG, Corrigan S, Charry JM, Bailey WH, 1981, Behavioural depression produced by an uncontrollable stressor: relationship to norepinephrine, dopamine, and serotonin levels in various regions of rat brain. *Brain Res. Rev.*, 3 167-205

Wellman CL (2001) Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. *J Neurobiol* 49:245-253.

Weniger G, Lange C, Irle E (2006) Abnormal size of the amygdala predicts impaired emotional memory in major depressive disorder. *J Affect Disord* 94:219-229.

Whishaw, I.Q.; Kolb, B. *The behavior of the laboratory rat*. New York, Oxford University Press, 2005.

Wilson MA, Burghardt PR, Ford KA, Wilkinson MB, Primeaux SD(2004) Anxiolytic effects of diazepam and ethanol in two behavioral models: comparison of males and females. *Pharmacol Biochem Behav.*,78 :445-58.

Wisniewski AB (1998) Sexually-dimorphic patterns of cortical asymmetry, and the role for sex steroid hormones in determining cortical patterns of lateralization. *Psychoneuroendocrinology* 23:519-547.

Wittling W, Roschmann R (1993) Emotion-related hemisphere asymmetry: subjective emotional responses to laterally presented films. *Cortex* 29:431-448.

Wolkowitz OM, Sutton ME, Doran AR, Labarca R, Roy A, Thomas JW, Pickar D, Paul SM (1985) Dexamethasone increases plasma HVA but not MHPG in normal humans. *Psychiatry Res* 16:101-109.

Wong EY, Herbert J (2004) The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci* 20:2491-2498.

Woolley CS, Gould E, Frankfurt M, McEwen BS (1990) Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 10:4035-4039.

Wrase J, Klein S, Gruesser SM, Hermann D, Flor H, Mann K, Braus DF, Heinz A (2003) Gender differences in the processing of standardized emotional visual stimuli in humans: a functional magnetic resonance imaging study. *Neurosci Lett* 348:41-45.

Xu L, Holscher C, Anwyl R, Rowan MJ (1998) Glucocorticoid receptor and protein/RNA synthesis-dependent mechanisms underlie the control of synaptic plasticity by stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:3204-3208.

Yadid G, Overstreet DH, Zangen A (2001) Limbic dopaminergic adaptation to a stressful stimulus in a rat model of depression. *Brain Res* 896:43-47.

Young EA (1995) The role of gonadal steroids in hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation. *Crit Rev Neurobiol* 9:371-381.

Young EA, Vazquez D (1996) Hypercortisolemia, hippocampal glucocorticoid receptors, and fast feedback. *Mol Psychiatry* 1:149-159.

Young EA, Veldhuis JD (2006) Disordered adrenocorticotropin secretion in women with major depression. *J Clin Endocrinol Metab* 91:1924-1928.

Young SN, Smith SE, Pihl RO, Ervin FR (1985) Tryptophan depletion causes a rapid lowering of mood in normal males. *Psychopharmacology (Berl)* 87:173-177.

Zhang L, Ma W, Barker JL, Rubinow DR (1999) Sex differences in expression of serotonin receptors (subtypes 1A and 2A) in rat brain: a possible role of testosterone. *Neuroscience* 94:251-259.

Zhang TY, Parent C, Weaver I, Meaney MJ (2004) Maternal programming of individual differences in defensive responses in the rat. *Ann N Y Acad Sci* 1032:85-103.

Zhang X, Kindel GH, Wulfert E, Hanin I (1995) Effects of immobilization stress on hippocampal monoamine release: modification by mivazerol, a new alpha 2-adrenoceptor agonist. *Neuropharmacology* 34:1661-1672.

Zimmerberg B, Farley MJ (1993) Sex differences in anxiety behavior in rats: role of gonadal hormones. *Physiol Behav* 54:1119-1124.