



# **Caractérisation fonctionnelle et moléculaire du circuit dopaminergique dans un modèle de la dépression**

**Mémoire**

**Francis Quessy**

**Maîtrise en neurobiologie - avec mémoire**  
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

# Résumé

**Contexte :** Notre capacité à développer les stratégies cognitives nécessaire pour faire face au stress de la vie quotidienne est régulée par différents réseaux neuronaux spécifiques à chacune des régions du cerveau. Des évidences expérimentales suggèrent qu'un stress prolongé chez la souris induit des comportements dépressifs via des modifications morphologiques et moléculaires des voies dopaminergiques mésolimbiques et mésocorticales. Cependant, la traduction derrière ces changements est encore mal comprise et on ignore si elle affecte de la même manière les mâles et les femelles.

**Méthodes :** Nous avons utilisé le stress de la défaite sociale chronique (CSDS) pour induire des comportements similaires à la dépression chez des souris mâles et femelles. La densité des projections mésolimbiques et corticales a été évaluée par immunohistochimie combinée à une analyse de type Scholl. L'activité de la signalisation dopaminergique a été évaluée à l'aide du marqueur pERK dans l'aire ventrale tegmentale (VTA), le nucleus accumbens (NAc) et le cortex préfrontal médian (mPFC). De plus, des souris transgéniques DAT-Ires-CRE-RiboTag ont été utilisées afin d'isoler l'ARNm des neurones dopaminergiques, puis une analyse de l'expression différentielle des gènes a été faite par le biais du séquençage des ARNm.

**Résultats :** Le stress social réduit la densité des projections axonales dopaminergiques dans le mPFC, mais pas dans le NAc chez les deux sexes. Les souris susceptibles au stress présentent une diminution de l'expression de pERK dans la VTA et le mPFC, mais une augmentation de la protéine dans le NAc. Nos analyses d'expression différentielle ont révélé des signatures transcriptionnelles spécifiques aux axones et aux somas dopaminergiques associés à la susceptibilité au stress chez les mâles et les femelles. Finalement, nous avons identifié des gènes régulateurs spécifiques aux somas et aux axones, qui sous-tendent l'expression de la susceptibilité au stress chez les mâles et les femelles.

**Conclusion :** Nos résultats indiquent que le stress de la défaite sociale a un impact différent sur les voies mésolimbiques et mésocorticales en modifiant différemment les programmes transcriptionnels qui régulent la plasticité somatique et axonale chez les deux sexes.

# Abstract

**Background:** Our ability to develop the cognitive strategies required to deal with daily-life stress is regulated by region-specific neuronal networks. Experimental evidences suggest that prolonged stress in mice induces depressive-like behaviors via morpho-functional and molecular changes of the mesolimbic and mesocortical dopaminergic pathways. Yet, the transcriptional programs underlying these changes are still poorly understood and whether they affect males and females similarly is unknown.

**Methods:** We used chronic social defeat stress (CSDS) to induce depressive-like behaviors in male and female mice. Density of the mesolimbic and cortical projections was assessed via IHC combined with Scholl analysis along with the staining of the activity-dependent marker pERK in the ventral tegmental area (VTA), nucleus accumbens (NAc) and medial prefrontal cortex (mPFC). DAT-IRES-CRE-RiboTag transgenic mice were used to isolate from mRNA dopaminergic axons and somas and analyze gene expression through RNAseq. Transcriptional profiles were analyzed through differential expression combined with gene network analyses.

**Results:** Social stress decreased the density of dopaminergic axonal projections to the mPFC but not the NAc of susceptible mice. This was accompanied by decreased pERK expression in the VTA of susceptible but not resilient mice. Our differential expression and gene network analyses revealed soma- and axon-specific transcriptional signatures associated with stress susceptibility and resilience in males and females. We identified soma and axon specific key regulators of sex-specific gene networks underlying the expression of susceptibility and resilience in males and females.

**Conclusion:** Our results indicate that social defeat stress impacts the mesolimbic and mesocortical pathways differently in males and females by altering the transcriptional programs regulating somatic and axonal plasticity differently. These sex-specific changes are likely to underlie the morpho-functional changes induced by CSDS and contribute to the expression of susceptibility or resilience to social stress in both sexes.

# Table des matières

|  |            |
|--|------------|
| <b>Résumé</b> .....  | <b>ii</b>  |
| <b>Abstract</b> .....  | <b>iii</b> |
| <b>Table des matières</b> .....  | <b>iv</b>  |
| <b>Liste des figures, tables et illustrations</b> .....                            | <b>vi</b>  |
| <b>Liste des abréviations</b> .....  | <b>vii</b> |
| <b>Remerciements</b> .....   | <b>x</b>   |
| <b>Introduction</b> .....  | <b>1</b>   |
| <b>1. Le système dopaminergique</b> .....  | <b>1</b>   |
| 1.1 Les voies dopaminergiques et leurs fonctions .....                             | 1          |
| 1.2 La dopamine .....  | 3          |
| 1.3 Les récepteurs de la dopamine .....  | 6          |
| 1.4 Les pathologies associées au système dopaminergique .....                      | 8          |
| <b>2. La dépression</b> .....  | <b>9</b>   |
| 2.1 Histoire et épidémiologie .....  | 9          |
| 2.2 Le dimorphisme sexuel dans la dépression.....                                  | 9          |
| 2.3 Diagnostic et traitements.....   | 10         |
| <b>3. Étiologie de la dépression</b> .....   | <b>11</b>  |
| 3.1 L'hypothèse génétique .....  | 11         |
| 3.2 L'hypothèse glutamatergique et gabaergique .....                               | 12         |
| 3.3 L'hypothèse du déséquilibre de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénergique ..... | 12         |
| 3.4 L'hypothèse des monoamines.....  | 13         |
| <b>4. Les modèles de dépression chez la souris</b> .....                           | <b>17</b>  |
| <b>Problématique, hypothèse et objectifs</b> .....                                 | <b>19</b>  |
| <b>Matériel et Méthodes</b> .....  | <b>20</b>  |
| Animaux .....  | 20         |
| Stress de la défaite sociale chronique.....  | 20         |
| Test d'interaction sociale .....   | 21         |
| Perfusion .....  | 21         |
| Immunohistochimie .....  | 21         |
| Immunoprécipitation des ribosomes .....  | 22         |
| Analyse statistique .....  | 23         |
| <b>Chapitre -1 : Résultats</b> .....   | <b>24</b>  |

|  |           |
|--|-----------|
| Caractérisation du modèle de dépression du CSDS chez la souris.....  | 24        |
| Caractérisation des neurones dopaminergiques dans le modèle de CSDS.....   | 26        |
| Caractérisation de l'expression de pERK dans les régions impliquées dans le circuit dopaminergique .....                           | 32        |
| Les souris Dat-Ires-Cre-Ribotag expriment l'étiquette hémagglutinine A spécifiquement dans les neurones dopaminergiques .....      | 38        |
| Altérations du transcriptome des neurones dopaminergiques chez les souris stressées par la défaite sociale .....                   | 39        |
| La défaite sociale entraîne des altérations du niveau d'expression des gènes dans les neurones dopaminergiques de la VTA .....     | 40        |
| Les altérations de la transcription dans la VTA sont différentes chez les mâles et les femelles ..                                 | 43        |
| Le transcriptome axonal des neurones dopaminergiques est aussi affecté par la défaite sociale .....                                | 45        |
| <b>Chapitre-2 : Discussion.....</b>  | <b>47</b> |
| Le CSDS induit des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques des souris susceptibles .....                        | 47        |
| Le CSDS induit des altérations de la signalisation dopaminergique dans les différentes régions du circuit mésocorticolimbique..... | 50        |
| Le CSDS induit des modifications de la signature transcriptionnelle dans les corps cellulaires et les axones dopaminergiques.....  | 51        |
| <b>Conclusion et perspectives.....</b>   | <b>55</b> |
| <b>Bibliographie .....</b>   | <b>56</b> |

# Liste des figures, tables et illustrations

|   |    |
|---|----|
| Figure 1. Distribution des groupes cellulaires des neurones dopaminergiques chez la souris adulte .....   | 1  |
| Figure 2. Les principales caractéristiques du circuit dopaminergique mésocorticolimbique.   | 3  |
| Figure 3. La synthèse de la dopamine .....  | 4  |
| Figure 4. Schéma de la transmission phasique et tonique .....   | 5  |
| Figure 5. La signalisation dopaminergique .....   | 7  |
| Figure 6. Mécanisme d'action des SSRI .....   | 11 |
| Figure 7. L'axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien.....  | 13 |
| Figure 8. Procédure expérimentale du CSDS.....  | 18 |
| Figure 9. Le stress de défaite sociale induit un évitement social similaire à la dépression..   | 25 |
| Figure 10. Le CSDS n'induit pas de perte de neurones dopaminergiques dans la VTA.....   | 27 |
| Figure 11. Le CSDS induit des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques projetant dans le NAc. ....  | 29 |
| Figure 12. Le CSDS induit une baisse de la densité axonale dans le mPFC des souris susceptibles femelles et mâles.....  | 31 |
| Figure 13. Le CSDS induit un changement d'activation de la voie de signalisation ERK dans les neurones dopaminergiques de la VTA seulement chez les souris mâles .....    | 33 |
| Figure 14. La voie de signalisation ERK est affectée par le CSDS dans le NAc.....   | 36 |
| Figure 15. La voie de signalisation ERK est affectée par le CSDS le mPFC .....  | 37 |
| Figure 16. Souris Dat-Ires-Cre-RiboTag .....  | 38 |
| Figure 17. Exemple de résultat de séquençage.....   | 40 |
| Figure 18. Diagramme de Venn des gènes ayant un niveau d'expression altéré par la défaite sociale pour les souris mâles dans les neurones dopaminergiques de la VTA. .... | 41 |
| Figure 19. Heatmap des fold changes pour les 330 gènes différemment exprimés chez les souris susceptibles et résilientes.....   | 42 |
| Figure 20. Analyse par GO term des gènes dont le niveau d'expression est altéré par la défaite sociale chez les souris mâles susceptibles dans la VTA .....               | 43 |
| Figure 21. Nombre de gènes altérés dans la VTA chez les souris susceptibles mâles et femelles .....   | 44 |
| Figure 22. Heatmap du niveau d'expression des gènes altérés communs aux deux sexes des souris susceptibles.....   | 45 |
| Figure 23. Nombre de gènes altérés dans la VTA et dans les axones du NAc des souris susceptibles mâles. ....  | 46 |

# Liste des abréviations

|                    |   |
|--------------------|---|
| 5-HT :             | Sérotonine                              |
| 5-HTT :            | Transporteur de la sérotonine           |
| ARNm :             | Acide ribonucléique messenger           |
| AMPc :             | Adénosine monophosphate cyclique        |
| AC :               | Adénylate cyclase                       |
| ACTH :             | Hormone corticotrope                    |
| BDNF :             | Brain Derived Neurotrophic Factor       |
| Ca <sup>2+</sup> : | Calcium                                 |
| COMT :             | Catéchol-O-méthyltransférase            |
| CNS :              | Système nerveux central                 |
| CREB :             | C-AMP Response Element-binding protein  |
| CRH :              | Hormone corticolibérine                 |
| CSDS :             | Stress de la défaite sociale chronique  |
| CTCF :             | Fluorescence cellulaire totale corrigée |
| DA :               | Dopamine                                |
| DAT :              | Transporteur de la dopamine             |
| DAG :              | Diacylglycérols                         |
| DBH :              | Dopamine bêta-hydroxylase               |
| DDC :              | DOPA décarboxylase                      |
| Drd1/2/3/4/5       | Récepteur de la dopamine D              |
| GABA :             | Acide $\gamma$ -aminobutyrique          |
| GIRK :             | Kinase de GPCR                          |
| GO Term :          | Gene ontology term                      |
| GPCRs :            | Récepteur couplé à une protéine G       |
| GTP :              | Guanosine triphosphate                  |
| ELS :              | Stress à bas âge                        |
| ERK :              | Extracellular signal-regulated kinases  |
| HA :               | Hémagglutinine                          |
| HPA :              | Axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien   |
| HVA :              | Acide homovanillique                    |
| Il- :              | Interleukine                            |
| IP3 :              | Inositol triphosphate                   |
| L-DOPA :           | L-dihydroxyphénylalanine                |
| MAO :              | Monoamine oxydase                       |
| MAPK :             | Mitogen-activated protein kinases       |
| MAT :              | Transporteurs des monoamines            |
| mDA :              | Dopaminergique du mésencéphale          |
| mPFC :             | Cortex préfrontal médian                |
| NAc :              | Nucleus accumbens                       |
| NE :               | Norépinephrine                          |
| NET :              | Transporteur de la norépinephrine       |
| NMDA :             | Récepteur N-méthyl-D-Aspartate          |
| PBS :              | Tampon phosphate salin                  |
| PD :               | Maladie de Parkinson                    |

|           |   |
|-----------|---|
| PET :     | Tomographie par Émission de Positrons           |
| PFA :     | Paraformaldéhyde                                |
| PKA :     | Protéine kinase A                               |
| PKC :     | Protéine kinase C                               |
| PLC :     | Phospholipase C                                 |
| RPL22 :   | Protéine ribosomale L22                         |
| RT-QPCR : | Reverse transcription-polymerase chain reaction |
| SEM :     | Erreur type                                     |
| SI :      | Test d'interaction sociale                      |
| SNC :     | Substance noire compacte                        |
| T3 :      | Hormone triiodothyronine                        |
| TH :      | Tyrosine hydroxylase                            |
| TPM :     | Transcrit par million                           |
| VMAT2 :   | Transporteur vésiculaire des monoamines 2       |
| VTA :     | Aire tegmentale ventrale                        |



*"No one knows what the future holds. That's why its potential is infinite."*

*"Life is not a game of luck. If you wanna win, work hard."*

# Remerciements

L'accomplissement de plus de deux années de recherche tire à sa fin. Ce fut deux années remplies d'expériences et d'émotions. Cette aventure m'aura permis d'acquérir des connaissances, mais aussi de grandir en tant que personne. Plusieurs personnes ont participé à la réalisation de cette maîtrise et je tiens à les remercier pour leurs soutiens.

D'abord, je tiens à remercier Martin et Benoit de m'avoir guidé à travers cette épreuve. Merci de m'avoir appris et soutenu à travers mes bons coups et mes échecs. Votre expertise, votre sagesse et votre disponibilité m'ont permis de rendre l'expérience encore plus enrichissante. Merci de m'avoir donné une chance de vivre cette expérience. Merci aussi pour vos blagues et votre humour très spécial, j'ai eu du plaisir à travailler pour vous.

Merci à Véronique, Annie et Khaled, sans votre expérience et votre soutien, cela n'aurait pas été possible. Vos précieux conseils, votre expérience et votre soutien moral auront été d'une grande aide à la réalisation de ce projet.

De plus, merci aux membres de mes deux équipes. Thibo, mon best buddy de labo, l'expérience aurait été plutôt différente sans toi. Merci pour ton support, ta compréhension et ta généreuse aide. Mena, your wisdom, and your chillness changed the way I see life today. Éric, merci pour ta bonne humeur et pour tes blagues douteuses. Andrée-Anne, merci pour ton rire contagieux et ton aide précieuse. Samaneh, thank you for your knowledge and for all the serious political conversations we had, good luck in your PhD. Merci à mes formidables stagiaires Léa-Jeanne, Juliette et Daphnée.

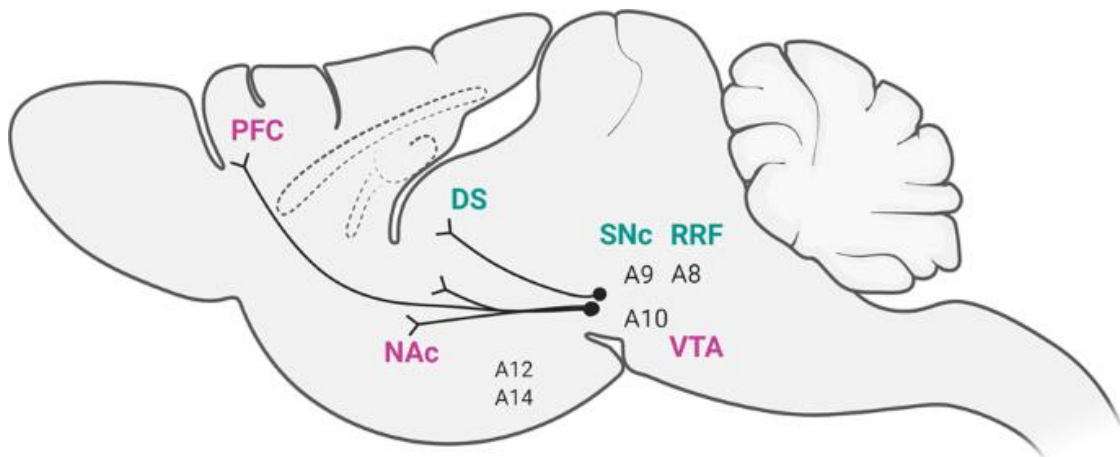
Merci aussi aux membres de l'équipe Lévesque, Marina, pour ton énergie vibrante et ton rire entraînant. Merci François pour toutes nos geek conversations qui m'ont permis de m'évader durant l'heure du dîner. Caroline, merci pour ton expérience et ta façon de voir le monde scientifique. Merci à Anne-Marie pour tes conseils et ton gros bon sens, bonne chance dans ton PhD. Merci Charles pour ton franc parlé et ton humour. Tiago, merci pour ton expérience et ton calme. Marcos, merci tes enseignements. Merci aussi à Victoria et Cyril. Sans vous tous, la vie de labo aurait été vraiment moins plaisante. Finalement, merci à toi Axelle, pour nos débats enflammés, pour nos discussions de procrastination, pour ton expérience, tes conseils et ton positivisme. Mon projet aurait été bien plus compliqué sans ta présence. Merci encore à Véronique, pilier de cette grande équipe LevLab. Merci de m'avoir supporté et enduré au travers des années. Merci de m'avoir fait revenir à la réalité lorsque je me plaignais trop.

Finalement, merci à mes amis et à ma famille de m'avoir permis de passer à travers ce projet. Vous avez toujours été là pour m'encourager et pour me changer les idées. Je vous aime. Merci pour tout.

# Introduction

## 1. Le système dopaminergique

Le système dopaminergique est composé de neurones ayant la particularité de synthétiser la dopamine. Les neurones dopaminergiques (mDA) composant ce système sont répartis principalement entre 10 différents groupes de cellules distribués à travers le système nerveux central (CNS), à l'exception des neurones de la rétine<sup>1</sup>. Ces différentes régions dopaminergiques ont été numérotées de A8 à A17 (Fig. 1). La majorité des neurones dopaminergiques se situe dans trois régions majeures du mésencéphale : les cellules A8 de la région péri- et rétro-rubrale, les cellules du A9 de la substance noire compacte (SNc) et les cellules du A10 de l'aire ventral tegmentale (VTA)<sup>2, 3</sup>. De plus, on retrouve d'autres plus petits groupes de neurones mDA dans l'hypothalamus, le bulbe olfactif, le noyau raphé dorsal, le noyau médian de l'habenula, le noyau supra-mamillaire, la substance grise périaqueducule et la rétine<sup>2, 4</sup>.



**Figure 1. Distribution des groupes cellulaires des neurones dopaminergiques chez la souris adulte.**

Illustration d'un cerveau de rongeur en sagittal montrant les 3 groupes de neurones dopaminergiques d'intérêt numérotés de A8 à A10. Les flèches indiquent les principales projections axonales de ces groupes dopaminergiques. (Adapté de Baik, 2020)

### 1.1 Les voies dopaminergiques et leurs fonctions

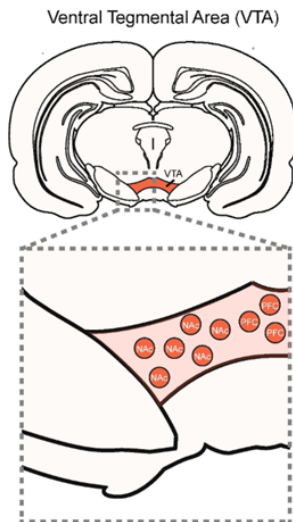
Les projections axonales des neurones dopaminergiques du mésencéphale se séparent principalement en 4 voies différentes : la voie nigrostriatale, la voie mésolimbique, la voie mésocorticale et la voie tubéro-infundibulaire<sup>5</sup>. Les neurones de la SNc projettent principalement vers le striatum dorsal formant la voie nigrostriatale. Les neurones de la VTA projettent vers le noyau accumbens (striatum ventral, systèmes limbiques) formant la voie mésolimbique. En addition, les neurones de la VTA projettent aussi vers le mPFC pour former la voie mésocorticale. La population dopaminergique de la VTA est très hétérogène

(Fig. 2A). En effet, les corps cellulaires de la VTA latérale projettent principalement vers le NAc alors que les corps cellulaires médians projettent vers le mPFC (Fig. 2B). De plus, les neurones de ces deux voies de projection présentent différentes caractéristiques telles que le taux de décharge, la vitesse de recapture de la dopamine et la présence d'autorécepteurs sur les axones (Fig. 2A). Les projections axonales de la VTA vers le NAc sont très denses, alors que celles projetant vers le mPFC sont plutôt clairsemées<sup>6</sup>. La partie terminale des neurones dopaminergiques du circuit mésocortical innerve préférentiellement les couches V et VI du mPFC (Fig. 2C, en rouge)<sup>7</sup>. Finalement, les neurones du noyau infundibulaire projettent vers l'hypophyse pour former la voie tubéro-infundibulaire.

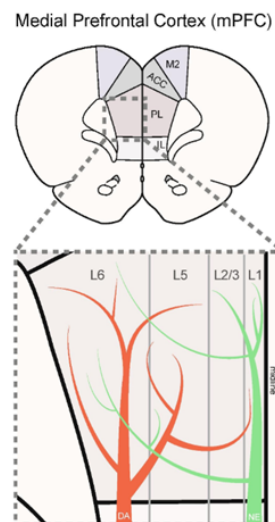
A

|                           | Mesolimbic Dopamine Pathway (VTA-NAc) | Mesocortical Dopamine Pathway (VTA-PFC)    |
|---------------------------|---------------------------------------|--|
| Density of Projection     | robust                                | sparse                                     |
| Soma Location in VTA      | lateral                               | medial                                     |
| Ih Current                | yes                                   | no   |
| Waveform                  | conventional                          | unconventional                             |
| Firing Rate               | low baseline low bursting             | high baseline, high bursting               |
| Reuptake / Degradation    | fast                                  | slow                                       |
| Presence of Autoreceptors | yes                                   | no   |
| Response to Reward        | +++                                   | + or x                                     |
| Response to Punishment    | + or -                                | +++  |
| Major Input(s)            | laterodorsal tegmentum                | lateral habenula<br>rostromedial tegmentum |

B



C



## **Figure 2. Les principales caractéristiques du circuit dopaminergique mésocorticolimbique.**

(a) Tableau des principales caractéristiques des deux voies dopaminergiques. (b) Séparation de la localisation des corps cellulaires des neurones dopaminergiques appartenant aux voies mésolimbiques et mésocorticales. (c) Illustration des terminaisons axonales dopaminergiques (en rouge) et noradrénergiques (en vert) dans les différentes couches du mPFC. (Adapté de Vander Weele et al. 2019)

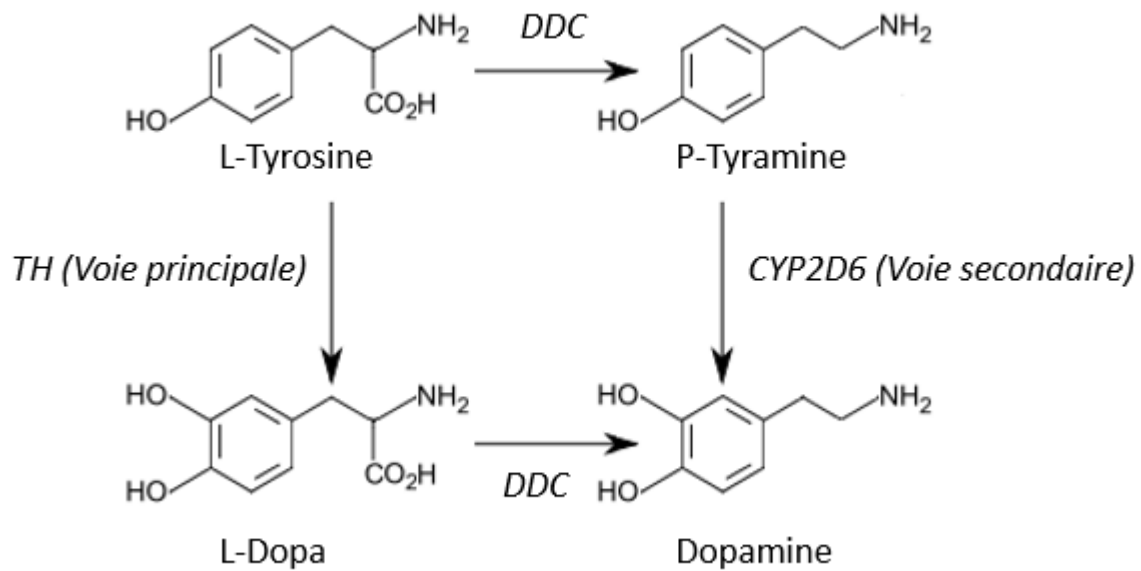
Chacun de ces 4 circuits dopaminergiques est impliqué dans une myriade de processus biologiques essentiels à l'humain. La voie nigrostriatale régule les mouvements volontaires et l'apprentissage<sup>8</sup>. La voie mésolimbique est impliquée dans la motivation, le circuit de la récompense, la saillance motivationnelle et le plaisir<sup>3</sup>. En ce qui concerne la voie mésocorticale, elle joue un rôle dans les fonctions exécutives telles que l'attention et la mémoire<sup>3</sup>. Finalement, la voie tubéro-infundibulaire régule l'activité de l'hypophyse et la sécrétion de la prolactine<sup>9</sup>. La dopamine est aussi impliquée dans plusieurs fonctions essentielles du système nerveux périphérique telles que l'olfaction, la vision, la régulation hormonale, les fonctions cardiovasculaires, le système immunitaire et les fonctions rénales<sup>5</sup>.

### **1.2 La dopamine**

La 3-hydroxytyramine (dopamine ou DA) est un des nombreux neurotransmetteurs du cerveau. Elle est spécifiquement synthétisée dans les neurones mDA présents dans le CNS et de la rétine. Le neurotransmetteur est un composé organique faisant partie de la famille des catécholamines. Chez les mammifères, la dopamine est synthétisée à partir des acides aminés phénylalanine ou tyrosine. Ces acides aminés sont présents dans presque toutes les sources protéiques du régime alimentaire humain. La dopamine est incapable de passer la barrière hématoencéphalique<sup>5</sup>, alors que les précurseurs traversent la barrière à l'aide de transporteurs d'acide aminés<sup>10</sup>.

#### **1.3.1 La synthèse de la dopamine**

La dopamine est synthétisée dans les neurones dopaminergiques via une cascade enzymatique impliquant diverses protéines. La plupart de la dopamine est synthétisée directement à partir de l'acide aminé tyrosine, mais puisque la phénylalanine peut être convertie en tyrosine via la phénylalanine hydroxylase, la dopamine peut aussi être indirectement synthétisée via la phénylalanine<sup>11</sup>. La tyrosine est par la suite convertie en lévodopa (L-DOPA) via l'enzyme tyrosine hydroxylase (TH). Cette réaction enzymatique faite par la TH est l'étape limitante dans la synthèse de la dopamine<sup>12</sup> (Fig. 3, voie principale). Par la suite, le L-DOPA est converti en dopamine via l'enzyme L-amino acide décarboxylase (DDC)<sup>11</sup>. Il existe un autre mécanisme permettant la synthèse de la dopamine impliquant la p-tyramine, mais cette voie est plus rare<sup>13</sup> (Fig.3, voie secondaire).



**Figure 3. La synthèse de la dopamine.**

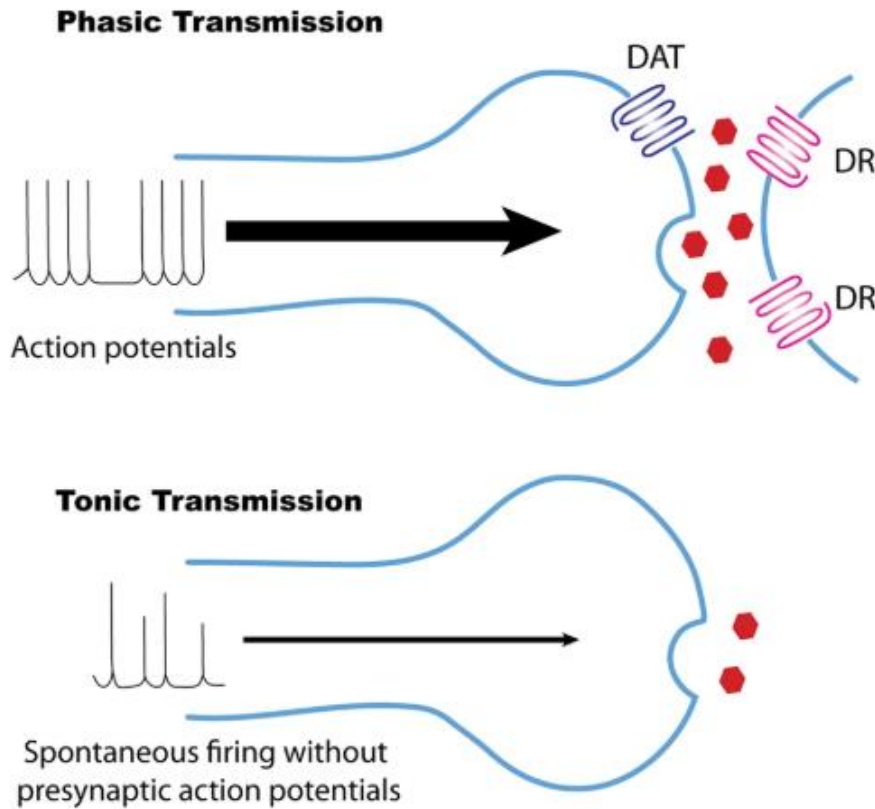
Schéma de la synthèse de la dopamine. La voie principale où la tyrosine est hydroxylée par la TH pour former le L-DOPA. Puis, le L-Dopa est décarboxylé par la DCC pour former la dopamine. La voie secondaire passant par la p-tyramine via la DCC puis la CYP2D6. L'étape impliquant la TH est limitante dans la cascade enzymatique.

### 1.3.2 Le transport de la dopamine

Une fois synthétisée, la dopamine est séquestrée dans des vésicules synaptiques via le transporteur vésiculaire des monoamines 2 (VMAT2). Les vésicules synaptiques ont un milieu acide qui permet de stabiliser la dopamine et d'éviter l'oxydation de celle-ci<sup>11</sup>. La dopamine synthétisée dans les somas des neurones dopaminergiques est transportée via les vésicules synaptiques vers les synapses. Une fois rendues à la synapse, les vésicules synaptiques sont entreposées à la terminaison présynaptique en attendant d'être relâchées. Lors d'un potentiel d'action suffisant, les vésicules synaptiques fusionnent avec la membrane présynaptique via la formation d'un complexe SNARE impliquant les protéines vésiculaires Synaptobrevin-2/VAMP-2 et les protéines syntaxin-1 et SNAP-25<sup>14</sup>.

La libération de la dopamine dans la fente synaptique est régulée par deux différents taux de décharge (*firing rate*) soit une relâche tonique étant spontanée et irrégulière ou une relâche phasique qui est plus sélective (Fig. 4). La relâche phasique est dépendante directement du potentiel d'action des neurones dopaminergiques et elle entraîne une rapide et éphémère augmentation du niveau de dopamine dans la fente synaptique. La relâche tonique quant à elle, est indépendante du potentiel d'action des neurones

dopaminergiques. Elle entraîne une augmentation plus faible des niveaux de dopamine, mais la portée est plus grande<sup>11; 15</sup>.



**Figure 4. Schéma de la transmission phasique et tonique.**

(Adapté de Klein et al., 2019)

### 1.3.3 La dégradation et le recyclage de la dopamine

Après la relâche de la dopamine dans la fente synaptique, les neurotransmetteurs se lient aux récepteurs situés sur les dendrites ou sur les somas des neurones postsynaptiques. La dopamine peut aussi se lier aux autorécepteurs présynaptiques<sup>11</sup>. Après, la dopamine est recyclée par les neurones dopaminergiques via le transporteur de la dopamine (DAT) ou par d'autres transporteurs des monoamines (MAT)<sup>11; 16</sup>. Dans le mPFC, où l'expression de la DAT est très faible, la dopamine est capturée par les transporteurs de la norépinephrine (NET) située sur les neurones noradrénergiques<sup>16</sup>. La dopamine peut être dégradée via deux enzymes : la monoamine-oxydase (MAO) et la catéchol-O-méthyle-transférase (COMT). Ces deux enzymes peuvent agir dans un ordre aléatoire pour former de l'acide homovanillique (HVA)<sup>16; 17</sup>. Par le système sanguin, l'HVA est filtré par les reins et excrété du corps par la voie urinaire. Des études

cliniques sur la schizophrénie ont montré qu'il était possible d'estimer les niveaux de l'activité de la dopamine dans le cerveau en quantifiant le niveau sanguin de HVA<sup>18; 19</sup>.

### 1.3 Les récepteurs de la dopamine

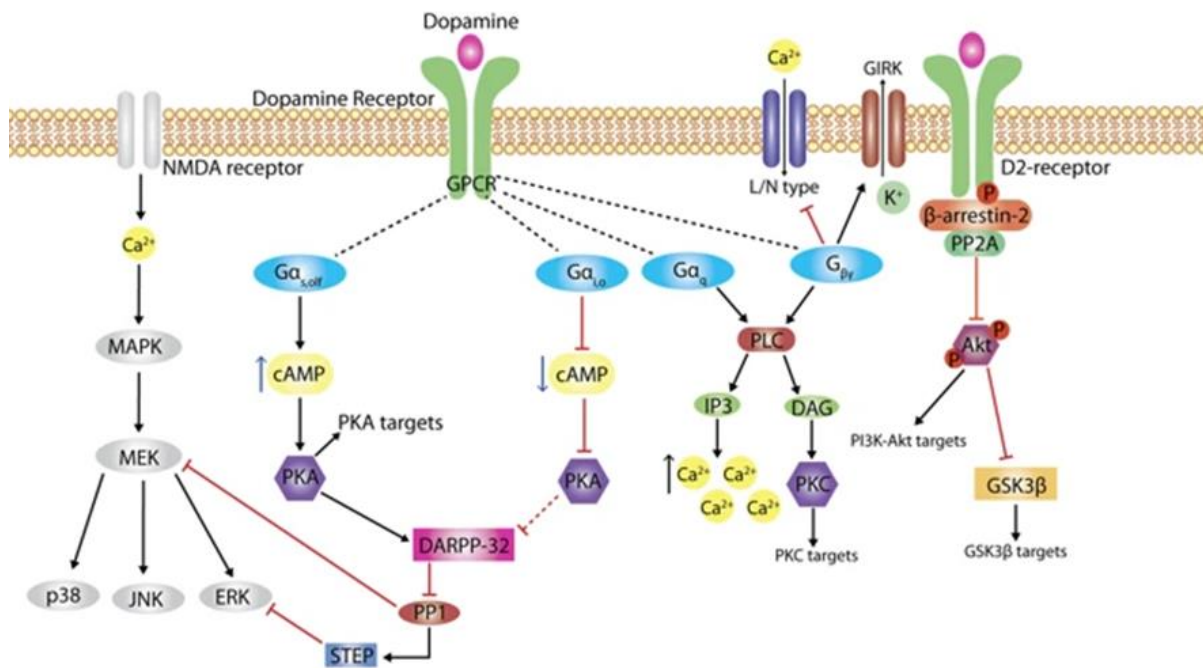
Il existe 5 différents récepteurs de la dopamine (Drd) qui sont numérotés de 1 à 5. Ces 5 récepteurs distincts sont tous des récepteurs couplés aux protéines G<sup>5</sup>. Sur une base de leurs structures, de leurs fonctions pharmacologiques et leurs propriétés biochimiques les récepteurs de la DA sont séparés en deux familles différentes. Les récepteurs de la famille D1 incluant Drd1 et Drd5, et les récepteurs de la famille D2 incluant Drd2, Drd3 et Drd4<sup>5</sup>. Les récepteurs de la famille D1 se retrouvent uniquement sur la région postsynaptique située sur les neurones qui reçoivent la dopamine. En opposition, les récepteurs Drd2 et Drd3 sont exprimés sur la portion postsynaptique et présynaptique<sup>5</sup>. Les récepteurs Drd1 et Drd2 sont les plus abondants dans le CNS<sup>20</sup>. Le récepteur Drd1 se retrouve principalement dans le striatum, le nucleus accumbens, le bulbe olfactif, l'amygdale et le cortex frontal. Tandis que son récepteur cousin, Drd5, est exprimé faiblement dans la région mésocorticale, mésolimbique et dans la substance noire<sup>5</sup>. Le récepteur Drd2 quant à lui se retrouve dans les régions de la substance noire, l'hypothalamus, l'amygdale et l'hippocampe. Les récepteurs Drd1, Drd2 et Drd4 ont aussi été détectés dans la rétine. Dans le système périphérique, tous les récepteurs dopaminergiques sont exprimés dans des proportions variables dans les reins, les glandes surrénales, les noyaux sympathiques, l'appareil digestif, les vaisseaux sanguins et le cœur<sup>5</sup>.

Les récepteurs de la dopamine font partie de la grande famille des récepteurs couplés aux protéines G (GPCR). Ces récepteurs ont une structure commune composée de sept hélices hydrophobes transmembranaires et elles sont couplées à une protéine G. La liaison de la dopamine aux récepteurs peut entraîner un signal pouvant être indépendant ou dépendant de la signalisation des protéines G (Fig. 5). Ensuite, le signal peut être traduit via différents éléments de signalisation tels que des canaux ioniques, des kinases, des phosphatases, des gradients d'ions, des facteurs de transcription et des récepteurs membranaires (Fig. 5). Cette signalisation permet à la dopamine et ses récepteurs de réguler d'innombrables réponses cellulaires afin de maintenir l'équilibre dans les comportements et les fonctions associés à la dopamine<sup>21</sup>.

Les récepteurs de la famille D1 sont principalement couplés avec la  $G_{as/olf}$ , une sous-unité de protéine G. Lorsque la dopamine se lie aux récepteurs de type D1, la  $G_{as/olf}$  se détache du complexe récepteur pour stimuler la production du second messenger adénosine monophosphate cyclique (AMPC) via l'adénylate cyclase (AC). Quant à la famille des récepteurs D2, les récepteurs sont couplés avec une sous-unité de protéine G de type  $G_{ai/o}$ <sup>5; 22</sup>. En contraste avec la famille de récepteur D1, la liaison de la dopamine entraîne l'inhibition de l'AC via le signal du  $G_{ai/o}$  ce qui réduit le niveau intracellulaire d'AMPC<sup>23</sup>. Il a



été montré que la coactivation des récepteurs Drd1-Drd2 en hétérodimère peut activer la protéine  $G_{\alpha q}$  qui a le pouvoir de moduler l'activité de la phospholipase C (PLC)<sup>24</sup>. La PLC est impliquée dans une voie de signalisation où elle catalyse la production d'inositol triphosphate ( $IP_3$ ) et diacylglycérol (DAG). La production de ces deux molécules entraîne respectivement une augmentation de la concentration en calcium ( $Ca^{2+}$ ) et l'activation de la protéine kinase C (PKC) (Fig. 5). À son tour, l'augmentation intracellulaire de  $Ca^{2+}$  entraîne l'activation d'enzyme dépendante du niveau de  $Ca^{2+}$  telles que la PP2B et la CamkII<sup>11;21</sup>. Quant à la PKC, elle peut modifier, via la phosphorylation, l'activité d'autres protéines telles que les récepteurs du glutamate et DARPP-32. La sous-unité  $G_{\beta\gamma}$  de la protéine G participerait quant à elle à la modulation de certains canaux ioniques tels que les canaux potassiques rectifiants l'activités par les protéines G (GIRKs) et les canaux à calcium de type L/N. La modification de l'activité de GIRKs et des canaux  $Ca^{2+}$  de type L/N entraîne une inhibition de l'activité neuronale et une diminution de l'entrée de calcium causant une désensibilisation de la signalisation GPCR<sup>11;21</sup>.



**Figure 5. La signalisation dopaminergique.**

Illustration de la signalisation dopaminergique. Une fois que la dopamine se lie à son récepteur, cela entraîne une réponse dépendante selon le récepteur activé. La plupart des récepteurs entraînent un signal via les protéines G, mais certains récepteurs peuvent avoir une réponse indépendante des protéines G<sup>11; 25</sup>. Les protéines G sont composées principalement de trois sous-unités :  $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ . Lorsque la dopamine se lie aux récepteurs, la sous-unité  $\alpha$  s'attache au guanidine triphosphate (GTP) entraînant la dissociation du complexe  $\beta\gamma$ . Par la suite, le complexe de la sous-unité  $\alpha$ /GTP et  $\beta\gamma$  peuvent à leur tour activer différents effecteurs. La famille D1 des récepteurs dopaminergiques est couplée à une protéine G qui permettra l'activation de l'AC, ce qui augmentera le niveau d'AMPc et stimulera l'activité de la PKA. Les récepteurs de type D2 fonctionnent à l'inverse, en inhibant l'AC ce

qui augmente le niveau d'AMPC et la diminution de l'activité de PKA. La PKA agira par la suite sur plusieurs cibles tels que le cAMP response element-binding protein (CREB), les récepteurs du glutamate et de GABA et les canaux d'ioniques<sup>11</sup>. (Adapté de Klein et al., 2018)

Les kinases régulant le signal extracellulaire (ERK1/2/5) sont des *mitogen-activated protein* kinases (MAPK) qui ont pour fonction de réguler une multitude de procédés physiologiques. Des études expérimentales ont rapporté que la protéine ERK serait essentielle à la survie des neurones de la VTA et du SNc<sup>26</sup>. ERK est activé via différents mécanismes par les récepteurs dopaminergiques (Fig. 5). Une fois activé, ERK entraîne le remodelage de la chromatine et induit l'expression de certains gènes pouvant causer des changements morpho-fonctionnels et comportementaux à long terme<sup>27</sup>. Les familles de récepteurs D1 et D2, via la PKA, agissent de manière opposée sur l'activation de ERK. De plus, les récepteurs de la famille Drd1 activent la Ras-proximate-1 (Rap1) qui à son tour active la voie de signalisation ERK. Pour le récepteur Drd2, la voie de signalisation ERK peut être activée via la B-arrestine ou par les isoformes de la protéine  $G_{\alpha i/o}$ <sup>28</sup>. Chez les patients atteints de problèmes de dépendances et d'abus des drogues, il a été rapporté que la signalisation ERK activée par les récepteurs Drd1 dans le NAc serait responsable de la plasticité neuronale et du comportement de dépendance aux drogues<sup>27</sup>. Plusieurs études ont démontré que la signalisation ERK est affectée dans plusieurs neuropathologies telles que la dépression<sup>29; 30</sup>, la maladie de Parkinson<sup>31</sup> et la maladie de l'Alzheimer<sup>32</sup>.

#### **1.4 Les pathologies associées au système dopaminergique**

Puisque le système dopaminergique est impliqué dans une multitude de fonctions essentielles au bon fonctionnement de notre cerveau, il existe plusieurs pathologies en liens avec la dérégulation des neurones dopaminergiques. La pathologie la plus souvent associée au système dopaminergique est la maladie de Parkinson, qui est causé par la perte des neurones mDA de la voie nigrostriatale. Dans la maladie de Parkinson, les neurones dopaminergiques de la SNc meurent entrainant une altération globale du système moteur<sup>3</sup>. D'une autre part, plusieurs études ont montré que la Schizophrénie serait aussi associée à des perturbations dans la régulation du système dopaminergique<sup>33</sup>. En effet, la plupart des antipsychotiques pour traiter la maladie ciblent le récepteur de la dopamine D2<sup>5</sup>. Le circuit dopaminergique, principalement la voie mésolimbique, est aussi impliqué dans les problèmes de dépendance et de consommation de drogues<sup>34</sup>. Finalement, il a été montré que les patients atteints de dépression et de trouble bipolaire présentaient plusieurs irrégularités dans la transmission synaptique dopaminergique<sup>5</sup>.

## **2. La dépression**

### **2.1 Histoire et épidémiologie**

On retrouve des traces de la dépression dans la littérature aussitôt qu'au 5<sup>e</sup> siècle avant J.-C. Déjà, on pouvait lire dans les écrits de l'école hippocratique : «la peur et la tristesse qui dure longtemps s'appellent la mélancolie ». On associait la mélancolie avec les symptômes d'aversion pour la nourriture, d'amotivation, de fatigue, des troubles du sommeil et de l'irritabilité<sup>35</sup>. Puis, plusieurs personnes se sont penchées sur la dépression jusqu'à voir une définition claire apparaître dans le DSM-I, un ouvrage américain de classification des troubles mentaux écrit en 1952. L'ouvrage fut fortement inspiré par les travaux de Freud et d'Adolf Meyer, un psychiatre américain. Dans ce texte, on peut lire : «la principale caractéristique de ce désordre est l'anxiété qui mène directement à ressentir et à exprimer, de façon inconsciente et automatique, l'utilisation d'une variété de mécanismes de défense psychologique tels que la dépression, la conversion et le déplacement »<sup>35;36</sup>. Il aura fallu attendre au DSM-III pour obtenir la définition moderne de la dépression<sup>35;37</sup>. Dans ce texte, on caractérise la dépression par une humeur dysphorique et une perte d'intérêt pour les activités quotidiennes. De plus, c'est dans ce texte qu'on met en place les barèmes modernes pour diagnostiquer les patients atteints de la maladie<sup>37</sup>.

De nos jours, la dépression est un trouble psychologique répandu qui touche chaque année plus de 300 millions de personnes<sup>30</sup>. Au Canada, 16% des femmes et 11% des hommes seront atteints de la dépression au moins une fois au cours de leur vie<sup>38</sup>. Dans les cas les plus graves, la dépression peut conduire au suicide, avec plus de 800 000 suicides répertoriés chaque année dans le monde<sup>39</sup>. La dépression affecte les personnes de tous les âges, mais le premier épisode se développe le plus souvent entre 30 et 40 ans<sup>40</sup>. 33% des patients atteints de la dépression sont aussi atteints d'une maladie chronique<sup>40</sup>. En addition, 72% des patients diagnostiqués dépressifs présentent un second trouble mental, telles que l'anxiété généralisée ou la phobie sociale<sup>40</sup>. La plupart des patients atteints de la dépression vivront de multiples épisodes au cours de leur vie<sup>40</sup>.

### **2.2 Le dimorphisme sexuel dans la dépression**

La maladie est sujette à un important dimorphisme sexuel, les femmes sont 2 à 3 fois plus sujettes à la dépression que les hommes. De plus, les femmes montrent un score clinique de symptômes plus élevé, un âge d'apparition plus jeune, un plus grand nombre d'épisodes dépressifs et présentent un taux de rechute plus important<sup>41</sup>. De plus, les femmes montrent un taux plus élevé d'anxiété et utilisent des moyens moins létaux pour le suicide. Elles sont aussi sujettes à plus de tristesse, une perte de confiance en soi et un sentiment de culpabilité. En opposition, les hommes montrent plus souvent vers des problèmes de l'abus d'alcool et des drogues. En addition, ils présentent plus souvent des symptômes de la fatigue, de l'irritabilité et des problèmes du sommeil. Ils ont aussi tendance à utiliser des moyens plus

létaux de suicide<sup>42</sup>. Le dimorphisme sexuel est aussi au niveau moléculaire. Par exemple, le niveau des interleukines IL-8, IL-6 et d'interféron- $\gamma$  est augmenté chez les femmes déprimées alors qu'aucun changement n'a été observé chez les hommes<sup>43; 44</sup>. L'hormone triiodothyronine (T3) est augmentée chez les hommes dépressifs comparativement aux femmes présentant les mêmes symptômes<sup>45</sup>. Il a aussi été montré que les hommes et les femmes ont une signature traductionnelle différente dans la dépression<sup>30</sup>. Des études récentes ont aussi montré un dimorphisme sexuel dans la régulation épigénétique de l'expression des gènes dans la dépression<sup>42</sup>. En ce qui concerne le système dopaminergique, des études chez le rat ont montré que les femelles exposent une diminution plus significative de l'activité des neurones dopaminergiques de la VTA après un stress lorsque comparé aux rats mâles<sup>46</sup>.

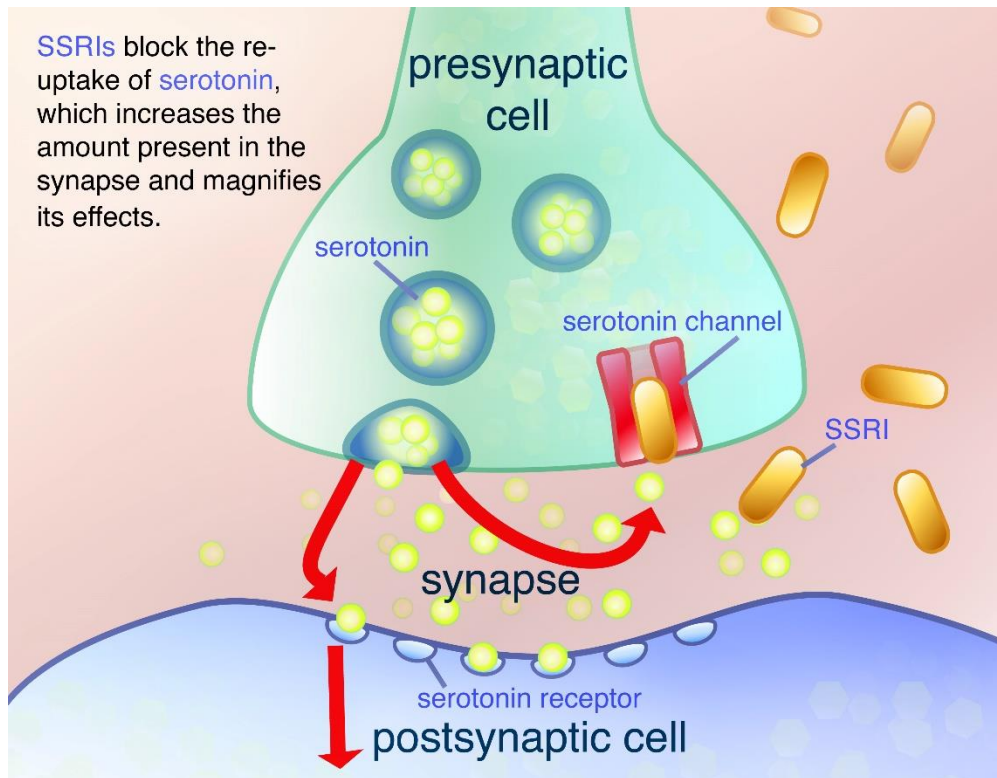
### **2.3 Diagnostic et traitements**

Aujourd'hui, aux États-Unis et dans plusieurs pays, on se sert des critères du DSM-V pour diagnostiquer la dépression<sup>47</sup>. Ce texte comporte une liste de 9 symptômes rapportés chez les patients dépressifs. Le patient doit présenter 5 ou plus de ces symptômes durant une période de 2 semaines comparativement à une période où le patient était sain. Ces symptômes incluent : une humeur dépressive (tristesse ou sentiment de vide), une perte d'intérêt ou de plaisir, une perte de poids, de l'insomnie, des troubles psychomoteurs, une perte d'énergie, un sentiment de culpabilité ou une perte d'estime en soi, une diminution de la concentration et la présence de pensées suicidaires<sup>48</sup>.

De nos jours, il existe plusieurs traitements et stratégies possibles pour réduire les symptômes de la dépression, mais l'usage d'antidépresseurs est le plus souvent utilisé. La plupart des patients sont traités avec une combinaison d'une approche médicamenteuse via les antidépresseurs et de la psychothérapie, en apportant de la flexibilité au traitement au cours de la progression de la thérapie<sup>49</sup>. Le traitement de la dépression peut être séparé en trois phases : la phase aigüe (rémission des symptômes, éviter les possibilités de suicide), la continuité (stabiliser la rémission et empêcher une rechute) et la maintenance (récupération et empêcher un second épisode). Tout au long de ce parcours thérapeutique, le patient est suivi par son médecin et un psychothérapeute qui peuvent l'aider et ajuster la médication au besoin<sup>49</sup>.

Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (SSRI) et les inhibiteurs de la recapture de la sérotonine-norépinephrine (SNRI) sont les antidépresseurs les plus couramment prescrits<sup>50</sup>. Ces médicaments bloquent les transporteurs de la sérotonine et de la norépinephrine entraînant une augmentation de la concentration de neurotransmetteurs dans la fente synaptique (Fig. 6)<sup>51</sup>. Les inhibiteurs de la monoamine oxydase (MAO) sont aussi utilisés pour traiter les patients dépressifs. Les MAO altèrent la recapture, le métabolisme et la pharmacodynamique des récepteurs ce qui résulte d'une augmentation de la concentration des monoamines dans le cerveau. Les MAO ont plusieurs effets néfastes, mais ils s'avèrent très utiles pour traiter les patients résistants à la médication ainsi que les

dépressions atypiques<sup>52</sup>. Finalement, la dernière génération de médicament comprend les antagonistes inhibiteurs de la recapture de la sérotonine (SARI antidépresseur noradrénergique et sérotoninergiques spécifiques (NaSSA) ainsi que les inhibiteurs triples de la recapture (TRI)<sup>51</sup>.



**Figure 6. Le mécanisme d'action des SSRI.**

Illustration du mécanisme d'action des SSRI montrant le neurone présynaptique (vert) et le neurone postsynaptique (bleu) séparés par la fente synaptique. La sérotonine est relâchée par le neurone présynaptique. Les SSRI bloquent les transporteurs de la sérotonine, résultant une augmentation du niveau de sérotonine dans la fente synaptique<sup>53</sup>.

### 3. Étiologie de la dépression

#### 3.1 L'hypothèse génétique

La dépression est un trouble complexe ayant diverses causes. Plusieurs études ont montré que le facteur génétique est important dans la maladie. En effet, pour expliquer la dépression, les facteurs génétiques familiaux seraient plus importants que le comportement social des parents et autres facteurs environnementaux de la famille<sup>54</sup>. Une étude chez des jumeaux identiques affirme que les facteurs génétiques aient entre 30 et 40% d'influence sur le développement de la dépression<sup>20; 40</sup>. Contrairement à d'autres neuropathologies, il n'y a aucune évidence montrant une preuve solide qu'un gène spécifique pourrait être impliqué dans le développement de la dépression. Néanmoins, les études d'association pangénomique ont montré que certains gènes pourraient avoir un léger effet sur certains aspects de la

maladie<sup>20</sup>. Par exemple, Slc6a4, un gène codant pour un transporteur de la sérotonine pourrait être associé à la prédisposition élevée à la dépression, mais les résultats n'ont pas pu être répliqués avec d'autres cohortes<sup>40</sup>. Une autre étude a relevé 44 variants de gènes associés à la prédisposition à la dépression<sup>55</sup>. Bref, malgré l'impact important du facteur génétique sur la prédisposition à la dépression, la recherche de gène spécifique à la maladie est très peu développée.

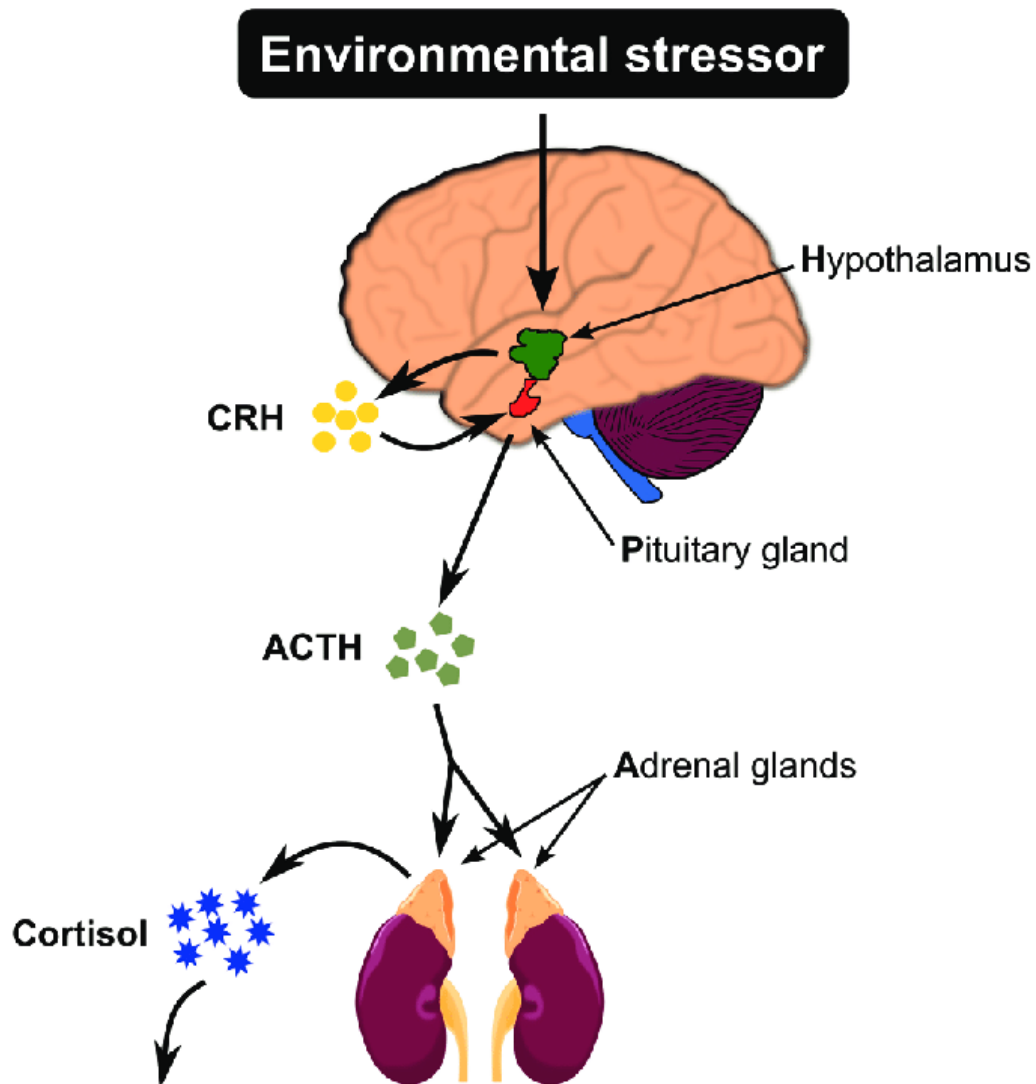
### **3.2 L'hypothèse des systèmes glutamatergiques et gabaergiques**

Les systèmes glutamatergiques et gabaergiques sont impliqués dans une multitude de fonctions neurologiques et plusieurs évidences portent à montrer qu'ils pourraient aussi être impliqués dans la prédisposition à la dépression. En effet, il y aurait une réduction du neurotransmetteur GABA dans le cortex préfrontal et occipital des patients atteints de dépression sévère<sup>20; 56</sup>. En outre, le stress chronique pourrait entraîner une diminution de la fonction du récepteur GABA-A, possiblement causée par des changements du niveau de stéroïdes neuro-actifs présents dans le CNS<sup>56</sup>. Des évidences amènent aussi la possibilité que le neurotransmetteur glutamate soit impliqué dans la pathologie de la dépression. Dans cet ordre d'idée, l'antagoniste des récepteurs du glutamate NMDA, la kétamine, produit un effet antidépresseur<sup>57</sup>. De plus, les inhibiteurs de la relâche du glutamate (Lamotrigine, Riluzole) ont montré des propriétés d'antidépresseur<sup>57; 58</sup>. Les patients dépressifs montrent aussi un niveau anormalement élevé de glutamate dans le CNS<sup>59</sup>. Néanmoins, la faiblesse de l'hypothèse de désordre glutamatergique et gabaergique est qu'il n'existe aucun médicament approuvé ayant des propriétés antidépresseurs efficaces visant le système gabaergique. De plus, les neurones glutamatergiques se retrouvent dans presque toutes les régions du cerveau, ce qui complexifie l'étude de l'impact du neurotransmetteur vu sa non-spécificité.

### **3.3 L'hypothèse du déséquilibre de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien**

L'axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien (HPA) implique les régions de l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes surrénales. L'hormone corticolibérine (CRH) est relâchée par l'hypothalamus en présence d'un stress psychologique. Cette hormone induit la sécrétion de l'hormone corticotrope (ACTH) par l'hypophyse, ce qui stimule les glandes surrénales à sécréter du cortisol dans le sang (Fig. 7). Plusieurs évidences montrent l'implication de ce système dans la réponse au stress et à la dépression. Il a été montré que le taux de CRH était anormalement élevé chez certains patients atteints de dépression<sup>40</sup>. De plus, la CRH est connue pour entraîner des changements psychologiques et comportementaux similaires aux symptômes de la dépression tels que la diminution de l'appétit, des problèmes de sommeil, la diminution de la libido et des problèmes psychomoteurs<sup>40</sup>. Certains antagonistes au CRH ont montré un pouvoir de diminuer les symptômes de la dépression et de réduire l'anxiété chez les hommes et les femmes ayant des épisodes de dépression sévère<sup>60; 61</sup>. Malgré l'importance de l'axe HPA dans le

développement de la dépression, les études cliniques ne sont pas arrivées à développer une thérapie efficace d'antidépresseurs visant ce circuit.



**Figure 7. L'axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien.**

Représentation schématique de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien. L'hypothalamus (vert) relâche la CRH entraînant la libération de l'ACTH par l'hypophyse (rouge) dans le système sanguin. L'ACTH entraîne la sécrétion de cortisol par les glandes surrénales. Par la suite, le cortisol est relâché dans le sang (Plusquellec, P et Lanoix, D. 2013).

### 3.4 L'hypothèse des monoamines

L'implication des monoamines dans la dépression est la théorie qui a été la plus étudiée. Les monoamines telles que 5-hydroxytryptamine (5-HT ou sérotonine), la DA et la norépinephrine (NE) sont considérées comme les principaux contributeurs au développement de la maladie de la dépression. Plusieurs

évidences ont montré que ces neurotransmetteurs sont impliqués dans divers mécanismes liés à la prévalence de la dépression.

### **3.4.1 La sérotonine**

Le noyau raphé est la principale source de sérotonine du système nerveux central. Les neurones projettent vers le noyau caudé, le putamen, le pallidum, l'amygdale, le système limbique et le néocortex. La sérotonine est impliquée dans diverses fonctions telles que la motivation, la gestion des émotions et la régulation de diverses fonctions limbiques. L'évidence de l'implication de la sérotonine dans la dépression vient principalement des études de déplétion du tryptophane, un acide aminé essentiel à la synthèse du neurotransmetteur. Le manque de tryptophane entraîne une diminution de sérotonine menant à l'apparition de symptômes dépressifs<sup>20</sup>. Chez les patients atteints de dépression, il y aurait une diminution des transporteurs de la sérotonine dans plusieurs régions du CNS<sup>62</sup>. Aussi, l'acide 5-hydroxyindoleacetic (5-HIAA), un métabolite de la sérotonine, est retrouvé à un niveau plus faible chez les patients dépressifs. De plus, le 5-HIAA s'est montré significatif dans la prédiction de comportement suicidaire<sup>62; 63</sup>. En outre, il a été rapporté que les patients ayant le petit allèle du promoteur du récepteur de la sérotonine 5-HTT étaient plus susceptibles à la dépression<sup>64</sup>. Aujourd'hui, la plupart des traitements contre la dépression agissent sur le système sérotoninergique ce qui souligne l'importance de ce système dans la prédisposition au stress.

### **3.4.2 La norépinephrine**

La norépinephrine est sécrétée par les neurones du locus coeruleus et elle joue un rôle important dans l'apprentissage, la mémoire, l'humeur, le sommeil et l'appétit<sup>64</sup>. Il a été montré que la densité en  $\alpha_2$ -adrénocepteurs est plus élevée dans le cortex frontal, l'hippocampe et le cortex préfrontal des patients dépressifs que chez des patients sains. Certains allèles du transporteur de la norépinephrine (NET) sont associés à une meilleure résilience à la dépression et à une meilleure réponse aux antidépresseurs<sup>64</sup>. Un stress excessif entraîne une déplétion de NE, ce qui peut entraîner l'apparition de symptômes de la dépression<sup>65</sup>. Bref, le système adrénergique semble aussi être impliqué dans la prédisposition à la dépression.

### **3.4.3 La dopamine**

L'activité dopaminergique est complexe et régulée par de multiples structures du cerveau. L'un des rôles principaux du système dopaminergique est de réguler l'humeur, qui est l'une des fonctions principalement altérées par la dépression. Aujourd'hui, les études cliniques et expérimentales ne s'entendent toujours pas à savoir si le déficit du système dopaminergique dans la dépression est intrinsèque ou l'effet de désordre des circuits afférent<sup>52</sup>. Une lésion des neurones dopaminergiques de la VTA à l'aide du 6-OHDA induit un comportement dépressif chez les rats<sup>66</sup>. Bref, la responsabilité du



système dopaminergique dans la dépression est toujours incomprise et son implication dans la prédisposition à la dépression reste à être élucidé.

### **La signalisation et synthèse de la dopamine dans la dépression**

Plusieurs études cliniques et expérimentales ont montré que le métabolisme et la signalisation de la dopamine sont perturbés dans la pathologie de la dépression. Des études utilisant l'imagerie par émission de positrons (PET) ont montré une baisse significative de la concentration de la DAT dans le putamen et la VTA<sup>67</sup>. L'auteur de cette étude suggère que cela pourrait être dû à une baisse chronique du niveau de dopamine, puisqu'il a été montré qu'une baisse chronique des taux en dopamine entraîne une diminution de la DAT<sup>52</sup>. Chez des patients atteints de dépression, il a été rapporté une augmentation de récepteurs Drd2 dans le striatum ainsi qu'une augmentation de la liaison de la dopamine aux récepteurs Drd2/3 dans l'amygdale de patients ayant fait un suicide<sup>52</sup>. Plusieurs études ont analysé l'association de certains allèles et polymorphismes en tentant d'associer ceux-ci avec la dépression. Les études n'ont pas permis d'associer les gènes TH, DDC et Drd1 à la prévalence de la dépression<sup>68</sup>. En revanche, certains allèles du gène Drd2 joueraient un rôle majeur dans la prévalence à la dépression<sup>69</sup>. De plus, certains polymorphismes de la DAT pourraient augmenter la prédisposition à la dépression via l'augmentation du potentiel de liaison de la DAT entraînant une chute de dopamine dans la synapse<sup>68; 70</sup>. La MAO, la COMT et la DBH ont aussi présenté des dimorphismes augmentant la prédisposition à la dépression<sup>68</sup>. Des études d'association pangénomique ont montré que la VTA est un facteur clé dans la résistance à la défaite sociale<sup>71</sup>. En effet, il a été montré qu'une augmentation de la fréquence de décharge des neurones dopaminergiques de la VTA via la régulation positive des gènes codant pour des canaux potassiques voltage-dépendant (kcnf1, kcnh3 et kcnq3) encourageait la susceptibilité au CSDS (voir section Matériel et Méthodes pour plus d'informations sur le CSDS)<sup>71</sup>. La densité des épines dendritiques serait aussi affectée dans plusieurs régions du cerveau des souris susceptibles au CSDS. En effet, une diminution de la densité des épines dendritiques dans la région prélimbique du mPFC a été observée alors qu'une augmentation de densité a été observée dans le NAc (partie cœur et latéral) et la VTA<sup>72</sup>. En résumé, la signalisation et le métabolisme dopaminergique semblent avoir un rôle important dans la prédisposition au stress et à la dépression.

### **Le circuit mésolimbique dans la dépression**

Les neurones dopaminergiques de la VTA projetant vers le NAc formant le circuit mésolimbique jouent un rôle critique d'intégration de l'information pour les comportements de la récompense et des émotions. Les neurones de la VTA projettent vers le nucleus accumbens, où il module la sensibilité des neurones moyens spinifères aux projections glutamatergiques qu'ils reçoivent du mPFC et des régions

limbiques<sup>73</sup>. Il a été montré que les projections du circuit mésolimbique seraient impliquées directement dans les symptômes d'anhédonie, d'amotivation et de la perte d'énergie. L'activité des neurones du NAc est directement corrélée avec les niveaux de dopamine dans cette région<sup>74</sup>. Une étude utilisant le CSDS a montré que dans les projections VTA vers NAc, la signalisation BDNF-TrkB, et non la signalisation dopaminergique serait essentielle au développement du comportement dépressif chez la souris<sup>75</sup>. De plus, la confrontation sociale dans la défaite sociale chez les rats augmenterait la cadence de décharge phasique de la dopamine dans la voie mésolimbique. Il a été démontré que la stimulation optogénétique phasique des neurones dopaminergiques du circuit mésolimbique favorise la susceptibilité au CSDS. En opposition l'inhibition des projections VTA-NAc induisait la résilience au stress<sup>76</sup>.

### **Le circuit mésocortical dans la dépression**

La dépression affecte aussi le circuit dopaminergique mésocortical via différents mécanismes. Il a été montré que la dépression était reliée à la perte de volume et à des anomalies de la substance grise dans le mPFC, ainsi qu'à une perte de neurones et de cellules gliales<sup>77</sup>. Des défaites sociales répétées chez la souris entraîneraient une diminution de la cadence de décharge des neurones dopaminergiques de la VTA projetant vers le mPFC<sup>15; 78</sup>. Une seule défaite sociale serait suffisante pour réguler, via Drd1, des changements morphologiques des neurones excitateurs du mPFC<sup>79</sup>. À leur tour, les neurones du mPFC projettent vers la VTA et ces neurones situés principalement dans la partie infralimbique du mPFC réguleraient l'activité des populations dopaminergiques faisant partie du circuit mésolimbique<sup>80</sup>. Il a été rapporté que l'inhibition phasique des neurones de la VTA projetant vers le mPFC augmentait la susceptibilité des souris au CSDS, alors que la stimulation du circuit mésocortical n'avait aucun effet<sup>15</sup>. Bref, Il existe plusieurs évidences montrant l'implication des circuits dopaminergiques mésocortical et mésolimbique dans la prédisposition à la dépression.

### **C-fos et ERK dans la dépression**

Plusieurs études expérimentales ont montré que c-fos, un facteur de transcription utilisé pour marquer l'activité neuronale, avait des changements du niveau d'expression dans plusieurs régions du cerveau à la suite d'un stress<sup>78</sup>. Dans le système dopaminergique, une augmentation de c-fos a été observée dans le mPFC, le NAc et la VTA après un CSDS<sup>78</sup>. Les changements d'expression de c-fos sont observables à long terme, pouvant aller jusqu'à 60 jours<sup>81</sup>.

La voie de signalisation ERK est aussi affectée dans la dépression via des changements dans le circuit dopaminergique. La protéine ERK est retrouvée sous deux isoformes ERK1 et ERK2 et elle serait impliquée dans une multitude de procédés cellulaires tels que la plasticité neuronale à long terme, le maintien et la survie des neurones<sup>82</sup>. Il a été rapporté qu'un stress aigu ainsi qu'un stress imprévisible

augmentent le niveau de ERK dans la VTA<sup>83</sup>. De plus, une surexpression de ERK dans la VTA induit une augmentation de la susceptibilité au stress chez la souris<sup>83</sup>. La phosphorylation de ERK est augmentée dans la VTA après le CSDS et l'inhibition de la voie de signalisation ERK avant chaque défaite sociale atténuerait le développement de stress<sup>84</sup>. De plus, il a été montré que la concentration de pERK était augmentée dans le NAc chez les patients déprimés via l'augmentation de la signalisation BDNF<sup>71</sup>. En résumé, la voie de signalisation ERK dans le circuit mésocorticolimbique serait nécessaire à l'induction du stress chez la souris.

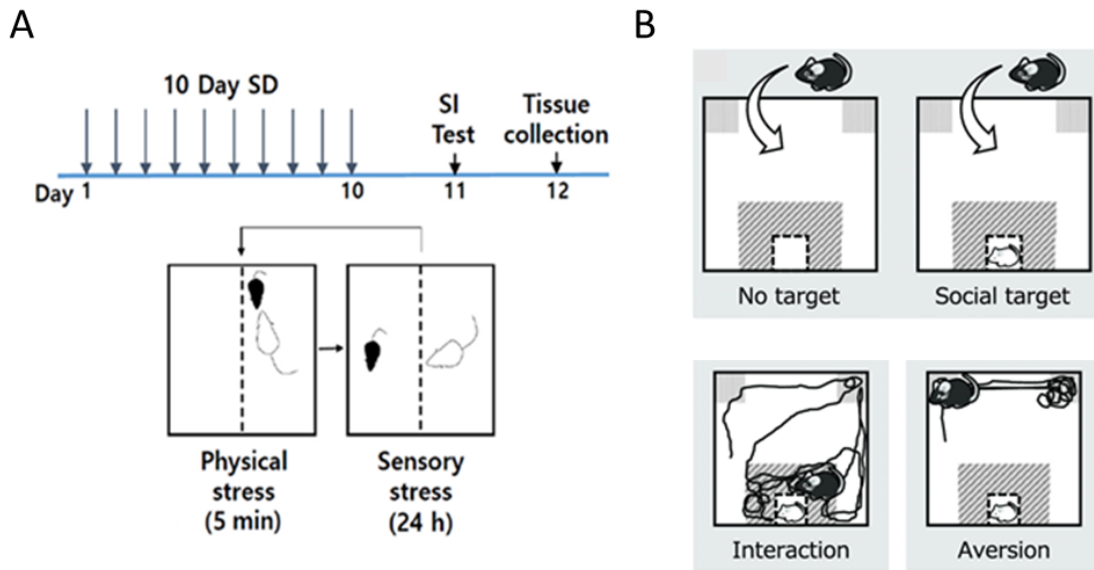
#### **4. Les modèles de dépression chez la souris**

La dépression est une maladie à nature subjective ayant de nombreux symptômes psychologiques et physiologiques. De ce fait, il est très difficile de générer un modèle animal répliquant la dépression humaine. Aujourd'hui, plusieurs modèles de dépression sont utilisés, mais chaque modèle comporte ses forces et faiblesses dans la tentative de reproduire les symptômes de dépression<sup>85</sup>. Les modèles animaux sont toutefois essentiels pour permettre des progrès au niveau du développement d'antidépresseurs qui pourraient possiblement être plus spécifiques à certains symptômes reproduits par les modèles animaux.

Le stress de défaite sociale chronique (CSDS) est un modèle impliquant la subordination sociale répétée afin d'induire des symptômes apparentés à la dépression (Fig. 8), tels que l'anhédonie et l'isolement social<sup>85</sup>. L'anhédonie se caractérise l'incapacité d'une personne à ressentir des émotions positives lors de situations pourtant considérées antérieurement comme plaisantes. Chez la souris, l'anhédonie est quantifié par l'interaction social et le test du sucrose (situations plaisantes). Un des éléments le plus intéressant de ce modèle est la résilience de certaines souris qui sont exposées au même stress que ses pairs<sup>85</sup>. En effet, la défaite sociale se résulte par deux phénotypes : les souris susceptibles et les souris résilientes au stress. Les souris susceptibles au CSDS présentent de l'évitement social, de l'anhédonie, une hyperthermie sociale, une diminution de l'amplitude du cycle circadien et une baisse du poids. En opposition, tous ces effets n'ont pas été observés chez les souris résilientes ayant été exposées au même protocole de stress<sup>71</sup>. La défaite sociale a aussi montré une activation de l'axe HPA, du système nerveux sympathique et immunitaire<sup>86</sup>.

Le stress en bas âge (ELS) consiste à générer un stress chez la souris lorsqu'elle est très jeune<sup>87</sup>. Ce modèle de dépression est basé sur les évidences connues qu'une enfance stressante et difficile entraîne une augmentation des risques de dépression et d'anxiété à l'âge adulte chez les humains<sup>87; 88</sup>. Chez la souris, la séparation maternelle est le plus souvent utilisée pour générer ce stress<sup>87</sup>. Il a été montré que l'ELS affecte la réponse de l'axe HPA une fois adulte<sup>85; 89</sup>. Les rats ayant été séparés de leur mère montrent un comportement de soumission et de passivité lors du CSDS.<sup>90</sup> La séparation maternelle chez la souris mâle entraîne une augmentation de l'anxiété à l'âge adulte<sup>91</sup>. Chez la femelle, certaines études

montrent que l'anxiété n'est pas affectée à l'âge adulte alors que d'autres montrent une augmentation de l'anxiété<sup>92; 93</sup>.



**Figure 8. Procédure expérimentale du CSDS.**

Illustration de la procédure expérimentale de la défaite sociale (a) et du test d'interaction sociale (b). La souris C57BL/6 est mise en présence d'un agresseur CD1 pour la soumettre à un stress physique pendant 5 min. Par la suite, les souris sont séparées à l'aide d'un séparateur transparent et elles resteront dans la même cage pendant 24 heures afin d'établir un stress sensoriel. Cette expérience sera répétée pendant 10 jours consécutifs en utilisant un agresseur différent chaque jour. À la 11<sup>e</sup> journée, le test d'interaction sociale permet de diviser les souris susceptibles et résilientes. La souris est mise dans un *openfield* sans la présence d'une souris CD1 agresseur puis avec un agresseur, selon le ratio d'interaction, le phénotype de la souris est déterminé. (Adapté de Kim HD et al. 2017, Toyoda A. 2017)

# Problématique, hypothèse et objectifs

La dépression touche des centaines de millions de personnes à travers le globe entraînant des coûts exorbitants pour nos sociétés. Notre capacité à développer les stratégies cognitives nécessaires pour s'adapter et gérer le stress de la vie quotidienne dépend de différents réseaux neuronaux complexes constituant notre cerveau. Plusieurs évidences expérimentales ont montré que le système dopaminergique serait impliqué dans la pathologie de la dépression. Il a été montré qu'un stress prolongé chez la souris peut entraîner des changements morphologiques et fonctionnels dans le circuit dopaminergique. Alors que l'implication des neurones dopaminergiques sur la réponse au stress commence à être élucidée chez le mâle, son rôle chez la femelle demeure inexploré.

Notre hypothèse était que le stress de la défaite sociale causerait des changements morphologiques, fonctionnels et moléculaires dans les neurones dopaminergiques. Ces changements pourraient sous-tendre d'une altération de la transcription du réseau dopaminergique. De plus, nous avons suggéré que ces changements pourraient être différents chez les mâles et les femelles. En effet, la dépression n'a pas la même prévalence pour les deux sexes et les symptômes de la maladie sont différents ce qui suggère que les dysfonctions fonctionnelles et moléculaires pourraient être différents entre les genres.

L'objectif de mon projet était de caractériser le système dopaminergique dans un modèle de stress. Tout d'abord, nous avons **étudié les changements morphologiques des neurones dopaminergiques induits par le stress**. Puis, nous nous sommes intéressés **aux changements fonctionnels impliquant la signalisation dopaminergique**. Finalement, nous avons exploré **les changements de la signature transcriptionnelle des souris ayant subi le CSDS**. La réalisation de ce projet permettra une meilleure compréhension de la contribution du système dopaminergique dans la réponse au stress et possiblement identifier des différences sexuelles liées aux symptômes et à la prévalence de la dépression.

# Matériel et Méthodes

## Animaux

Des souris C57BL/6 ainsi que des souris CD1 mâles étant des reproducteurs retraités ont été utilisées dans cette étude (Charles River, St. Constant, QC, Canada). Des souris Dat-Ires-Cre-Ribotag ont été générées en croisant des souris Dat-Ires-Cre<sup>-/+</sup> et Ribotag<sup>+/+</sup> (Fig. 16A). Les souris ont été hébergées selon un cycle lumière/obscurité de 12 heures à une température contrôlée (22±2°C), sans restriction d'eau et de nourriture. Les souris CD1 ont été logées individuellement, sauf lors des défaites sociales. Toutes les autres souris ont été logées en groupes avant les défaites sociales et individuellement un jour avant et après la défaite sociale. Toutes les expériences ont été menées conformément au Conseil canadien de protection des animaux de laboratoire et approuvées par le Comité de protection des animaux de l'Université Laval.

## Stress de la défaite sociale chronique

Des souris CD1 mâles (âgées entre 3 et 6 mois) ont été dépistées pour leur niveau d'agressivité avec des souris mâles C57BL/6 (âgées entre 2 et 4 mois). Les souris ne présentant pas de comportement agressif ont été écartées selon les critères de Golden et al<sup>94</sup>. Également, les souris CD1 ayant un comportement trop violent ont été retirées de l'étude. Les souris CD1 sélectionnées pour l'étude ont été hébergées une semaine avant le début du protocole dans des cages à hamster rectangulaires transparentes (26,7 cm (l) × 48,3 cm (p) × 15,2 cm (h)) avec un séparateur en plexiglas perforé transparent séparant la cage en deux parties égales. Les souris C57BL/6 (âgés de 7-8 semaines) ont été assignées au hasard au groupe de contrôle et au groupe de stress. Chaque jour, les souris du groupe de stress ont été placées dans la même cage qu'une souris CD1 pour une défaite physique de 5 minutes. Ensuite, les souris ont été séparées par le séparateur transparent, mais en restant dans la même cage que de leur agresseur pendant vingt-quatre heures. Ce protocole a été répété pendant 10 jours consécutifs avec un agresseur différent chaque jour. À la fin de la dernière défaite physique, les souris C57BL/6 ont été hébergées individuellement pendant 24 heures avant le test d'interaction sociale (Fig. 8).

La procédure décrite par Harris et ses collègues<sup>95</sup> a été utilisée pour la défaite sociale chez les souris femelles. En bref, juste avant les défaites quotidiennes du CSDS, 30 µl d'urine de CD1 mâle ont été appliqués sur la queue et la zone vaginale des souris C57BL/6 femelles. Cette méthode permet de tromper l'odorat de l'agresseur CD1 et d'établir une domination physique chez la souris femelle. Des cages métaboliques ont été utilisées pour recueillir l'urine de mâle CD1. L'urine a été filtrée et conservée

à 4°C pendant 3 semaines au maximum. Pour le reste du protocole de CSDS avec les souris femelles, la procédure a été la même que celle utilisée chez les souris mâles.

## **Test d'interaction sociale**

Une heure avant le test d'interaction sociale, les souris C57BL/6 ont été accoutumées à la salle de test. La salle de test était éclairée par une ampoule rouge (Feit électrique A19/R/10k, LED, 3 W). Un *openfield* a été utilisé, contenant deux zones en coin (9 cm x 9 cm) opposées à une zone d'interaction (14 cm x 24 cm). Dans la zone d'interaction, nous avons construit une enceinte (9 cm x 8 cm) pour contenir la souris CD1 mâle. L'enceinte est constituée d'un large grillage permettant aux souris CD1 et C57BL/6 de se voir (Fig. 8). Dans la phase 1, les souris C57/BL6 ont été placées dans l'*openfield*, libres d'explorer pendant 150 secondes. Dans la phase 2, une souris CD1 a été placée dans l'enceinte avant l'introduction de la souris C57/BL6 dans l'*openfield*. Après le test d'interaction sociale, les C57/BL6 ont été logées individuellement pendant 24 heures avant le prélèvement des tissus. Sur la base des ratios d'interaction sociale (le temps passé dans la zone d'interaction avec la présence d'une souris CD1 dans l'enceinte / le temps passé dans la zone d'interaction sans la présence d'une souris CD1 dans l'enceinte), les souris ont été désignées comme susceptibles ou résilientes.

## **Perfusion**

Un jour après le test d'interaction sociale, les souris destinées à l'analyse morpho-fonctionnelle ont été anesthésiées avec une dose létale de 20% d'uréthane (Sigma, 51-79-6). Par la suite, elles ont été perfusées à l'aide d'une solution saline tamponnée au phosphate (PBS 1X, pH 7.4) suivi de paraformaldéhyde (PFA) 4 % (Sigma, 30525-89-4). Une fois les cerveaux extraits, ils ont été post-fixés dans la PFA 4% pendant 24 heures et cryoprotégés dans du sucrose 30 % pendant 24 heures. Les cerveaux ont été congelés dans un composé d'OCT (Tissue-Tek®, 4583) avant d'être entreposés à -80°C. Les cerveaux ont été coupés en tranche coronale d'épaisseur de 40µm à l'aide d'un cryostat Leica CM1900.

## **Immunohistochimie**

Les tranches de cerveaux des régions d'intérêt ont été lavées avec du PBS 1X puis bloquées à l'aide d'une solution de blocage constituée de 1% de sérum d'âne et de 0,2% de Triton X-100 pendant 1 heure. Puis, les sections de cerveau ont été incubées pendant la nuit à 4°C dans des anticorps primaires à une concentration optimale (voir la liste des anticorps primaires). Le jour suivant, les tranches ont été rincées avec du PBS 1X avant d'être mises dans une solution contenant les anticorps secondaires appropriés pendant 2 heures à température ambiante (voir la liste des anticorps secondaires). Les sections ont été

montées avec une solution marquant les noyaux, le 4',6-diamidino-2-phénylindole (DAPI, Abcam, Ab104139).

Les anticorps primaires suivants ont été utilisés : Anti-TH (1 :500, Pel-Freez Biologicals, P60101), anti-Phospho-p44/42 MAPK (Erk1/2) (Thr202/Tyr204) (1:250, Cell signaling, 9101), anti-c-fos (1:500, Abcam, Ab190289), anti-Dat (1:250, Millipore, MAB369), anti-HA (1:500, Sigma, H6908).

Les anticorps secondaires correspondants ont été utilisés : Alexa Fluor 647 anti-lapin (1:400, Life Technologies, A-31573), Alexa Fluor 555 anti-mouton (1 :400, Life Technologies, A-31572), FITC anti-rat (1 :200, Jackson ImmunoResearch, 712-095-150), Alexa Fluor 488 anti-lapin (1 :400, Life Technologies, A-21206). Tous les anticorps secondaires utilisés ont été produits chez l'âne.

Un microscope confocal LSM700 (Zeiss) et un TISSUEScope 4000 (Huron technologies) ont été utilisés pour acquérir des images des différentes sections du cerveau. À l'aide du confocal LSM700, il a été possible de réaliser des *z-stack* et de juxtaposer plusieurs carrelages (*tiles scan*). Toutes les images ont été analysées à l'aide du logiciel Image J<sup>96</sup>. Les comptes stéréotaxiques ont été réalisés à l'aide d'Image J, en utilisant au minimum 3 sections de cerveau par souris. La densité axonale dans le mPFC a été mesurée à l'aide de NeuriteJ1.1<sup>97</sup>. Pour la densité axonale dans le NAc, la fluorescence a été corrigée au bruit de fond à l'aide de la méthode de fluorescence cellulaire totale corrigée (CTCF) suivant la formule :

$$CTCF = \text{Densité intégrée} - (\text{Aire de la zone de sélection} \times \text{la moyenne de fluorescence de l'arrière-plan})$$

## **Immunoprécipitation des ribosomes**

Sans anesthésie, les cerveaux des souris C57BL/6 Dat-Ires-Cre-RiboTag ont été prélevés rapidement sur la glace dans une solution PBS. Le tissu des régions d'intérêt a été extrait à l'aide d'un petit poinçon et immédiatement congelé dans l'azote liquide. Plus tard, le tissu de chaque région a été homogénéisé individuellement dans un tampon de lyse (Table 1) à une concentration de 5 m/v %. Les billes magnétiques Dynabeads (Invitrogen, 10007D) ont été lavées avec un tampon de rinçage (Table 2) et préincubées avec le lysat pendant 1h. Par la suite, le lysat a été incubé avec l'anticorps anti-HA (1 :400 de lysat, Sigma, H6908) pendant une nuit à 4°C. Le lendemain, les billes magnétiques ont été ajoutées à la solution contenant le lysat et l'anticorps HA, puis incubées pendant 4h à 4°C. Une solution d'alcool et de 2-mercaptoéthanol a été utilisée pour séparer les ribosomes et l'ARNm. Le RNeasy MiniKit (Qiagen, 74134) a été utilisé pour purifier les ARNm précipités. Le RNase free DNase set (Qiagen, 79254) a été utilisé pour éliminer la présence d'ADN. La quantification et l'intégrité (RIN) de l'ARN ont été déterminées à l'aide du Bioanalyzer Agilent 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA) avec le kit Agilent RNA 6000 Pico (# 5067-1513).



| Chx-Lysis Buffer                               |          |
|--|----------|
| HEPES-KOH                                      | 20mM     |
| MgCl <sub>2</sub>                              | 5mM      |
| KCl  | 150mM    |
| DTT  | 1mM      |
| NP40   | 1% v/v   |
| SUPERase In                                    | 200U/mL  |
| Cycloheximine                                  | 100ug/mL |
| Complete EDTA-free Protease Inhibitor Cocktail |          |

**Tableau 1. Tampon de lyse.**

| Wash Buffer       |          |
|-------------------|----------|
| HEPES-KOH         | 20mM     |
| MgCl <sub>2</sub> | 5mM      |
| KCl               | 350mM    |
| DTT               | 1mM      |
| NP40              | 1% v/v   |
| Cycloheximine     | 100ug/mL |

**Tableau 2. Tampon de rinçage.**

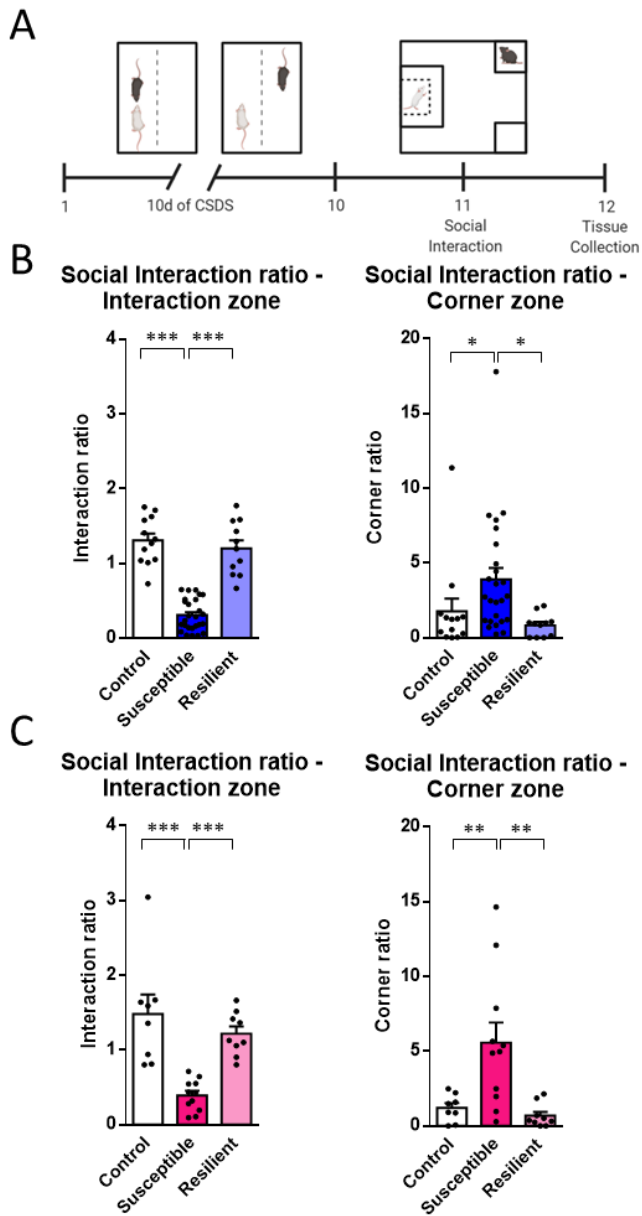
## Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 6.0 (GraphPadSoftware, La Jolla, CA, USA). Aucune souris n'a été exclue de nos analyses statistiques. Les différences entre groupes ont été déterminées par une ANOVA unidirectionnelle pour l'analyse morphologique de TH, l'expression pERK/c-fos. L'analyse morphologique dans le mPFC a été analysée à l'aide d'une ANOVA bidirectionnelle. Des ANOVA bidirectionnelles ont été utilisées pour évaluer l'effet du sexe sur l'expression de TH, de pERK et de c-fos. Chaque point représente une souris avec au moins trois sections par région d'intérêt. Toutes les données sont représentées par des moyennes  $\pm$  SEM, et la significativité est définie comme \* $p \leq 0,05$ , \*\* $p \leq 0,01$ , \*\*\* $p \leq 0,001$ .

# Chapitre -1 : Résultats

## Caractérisation du modèle de dépression du CSDS chez la souris

Pour étudier les changements morfo-fonctionnels du circuit dopaminergique induits par la dépression, nous avons utilisé la défaite sociale, un modèle de stress chez la souris utilisant le harcèlement physique et psychologique afin de simuler le comportement humain d'intimidation sociale. Les souris C57BL/6 ont été soumises à 10 jours consécutifs de stress physique et sensoriel en utilisant des souris CD1 agresseurs (Fig. 9A). Vingt-quatre heures après la dernière défaite sociale, nous avons effectué le test d'interaction sociale. Grâce à ce test, nous avons pu déterminer le phénotype des souris C57BL/6; susceptible si les souris évitent l'interaction sociale ou résiliente pour les souris qui interagissent avec l'agresseur CD1. Ainsi, les souris susceptibles évitent la zone d'interaction, mais essaient également d'aller plus loin que leur agresseur en passant plus de temps dans la zone de coin que les souris de contrôle. Inversement, les souris résilientes passent plus de temps dans la zone d'interaction et passent moins de temps dans la zone de coin. Le phénotype résilient/susceptible a été observé autant chez les souris C57BL/6 mâles que femelles (Fig. 9 B-C). Un ratio d'interaction sociale inférieur à 0.80 a été considéré comme un comportement susceptible, alors qu'un ratio supérieur à 0,80 a été considéré comme un comportement résilient. Ce ratio a été choisi en fonction du ratio observé chez les souris contrôles (Un ratio de plus de 0.80 inclus toutes les souris contrôles. Le phénotype des souris ayant un ratio de  $0.80 \pm 0.05$  était validé en fonction du ratio de coin. En addition, nous avons observé que la répartition entre le phénotype était de 50% de souris susceptibles et résilientes pour les souris mâles, alors que les souris femelles se montrent plus résilientes au stress social avec une répartition de 40% de susceptibilité et 60% de résilience au stress. En bref, nos résultats permettent de valider l'induction d'un comportement de type dépressif chez nos souris après l'application de notre modèle de CSDS.

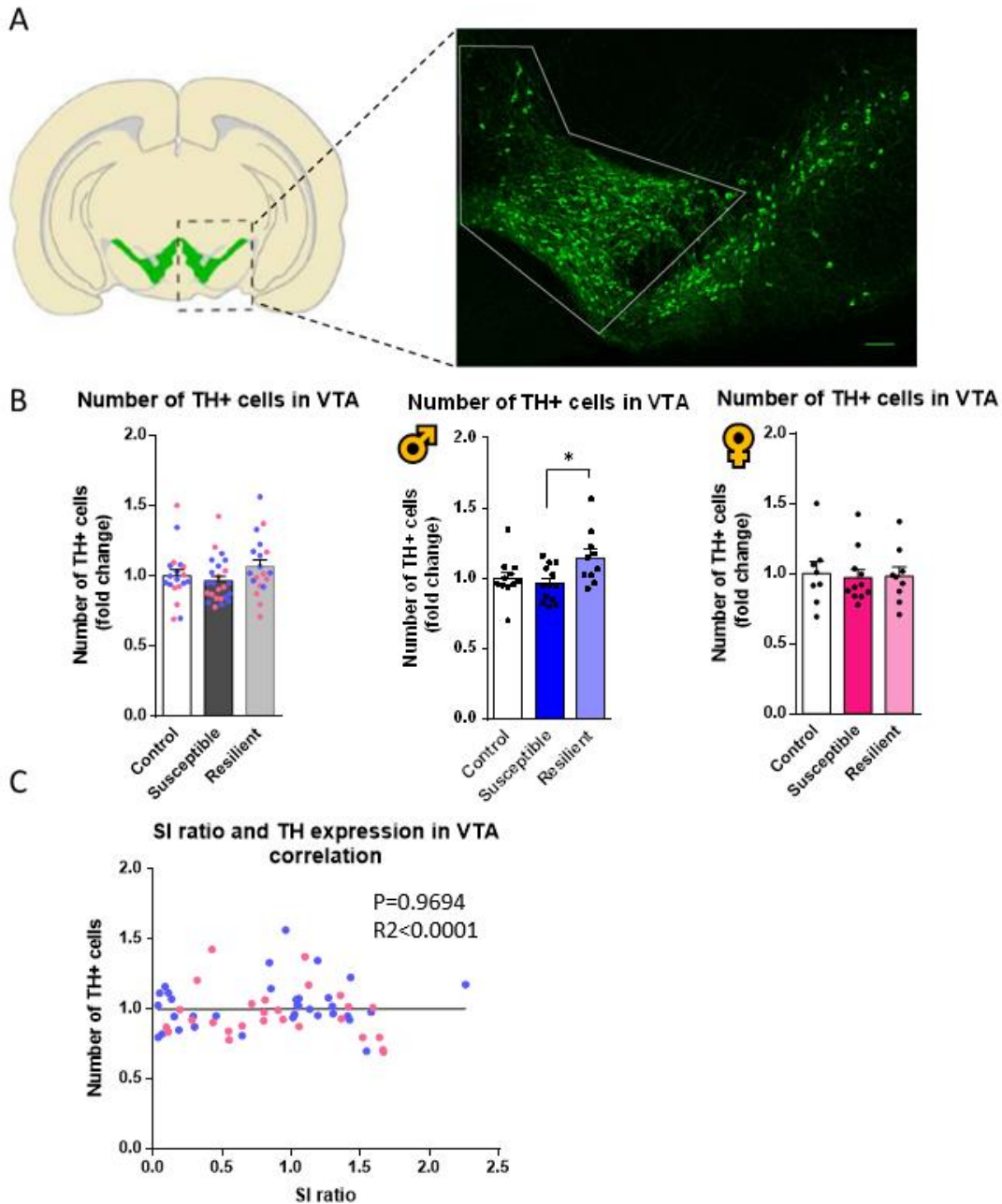


**Figure 9. Le stress de défaite sociale induit un évitement social similaire à la dépression.**

(a). Schéma montrant la procédure expérimentale pour le CSDS. (b). Le CSDS répété induit un évitement social chez les souris mâles susceptibles (en bleu foncé), alors que les souris mâles résilientes continuent d'interagir avec les agresseurs CD1 (bleu pâle). L'évitement social est exprimé par le ratio d'interaction sociale (SI) et le ratio de coin (CR) calculés par le temps passé dans la zone d'interaction ou de coin lorsqu'une CD1 est présente dans l'enceinte divisée par le temps passé dans la zone d'interaction ou de coin sans la présence de CD1 dans l'enceinte [ANOVA unidirectionnel,  $p < 0,0001$  pour SI,  $p < 0,05$  pour CR, Contrôle  $n=13$ , Susceptible  $n=26$ , Résilient  $n=12$ ]. (c). Résultats SI et CR pour les souris femelles (en rose) [ANOVA unidirectionnel,  $p < 0,0001$  pour SI,  $p < 0,005$  pour CR, Contrôle  $n=8$ , Susceptible  $n=11$ , Résilient  $n=9$ ]. Les graphiques à barres indiquent la moyenne  $\pm$  SEM. Chaque point représente une souris.

## **Caractérisation des neurones dopaminergiques dans le modèle de CSDS**

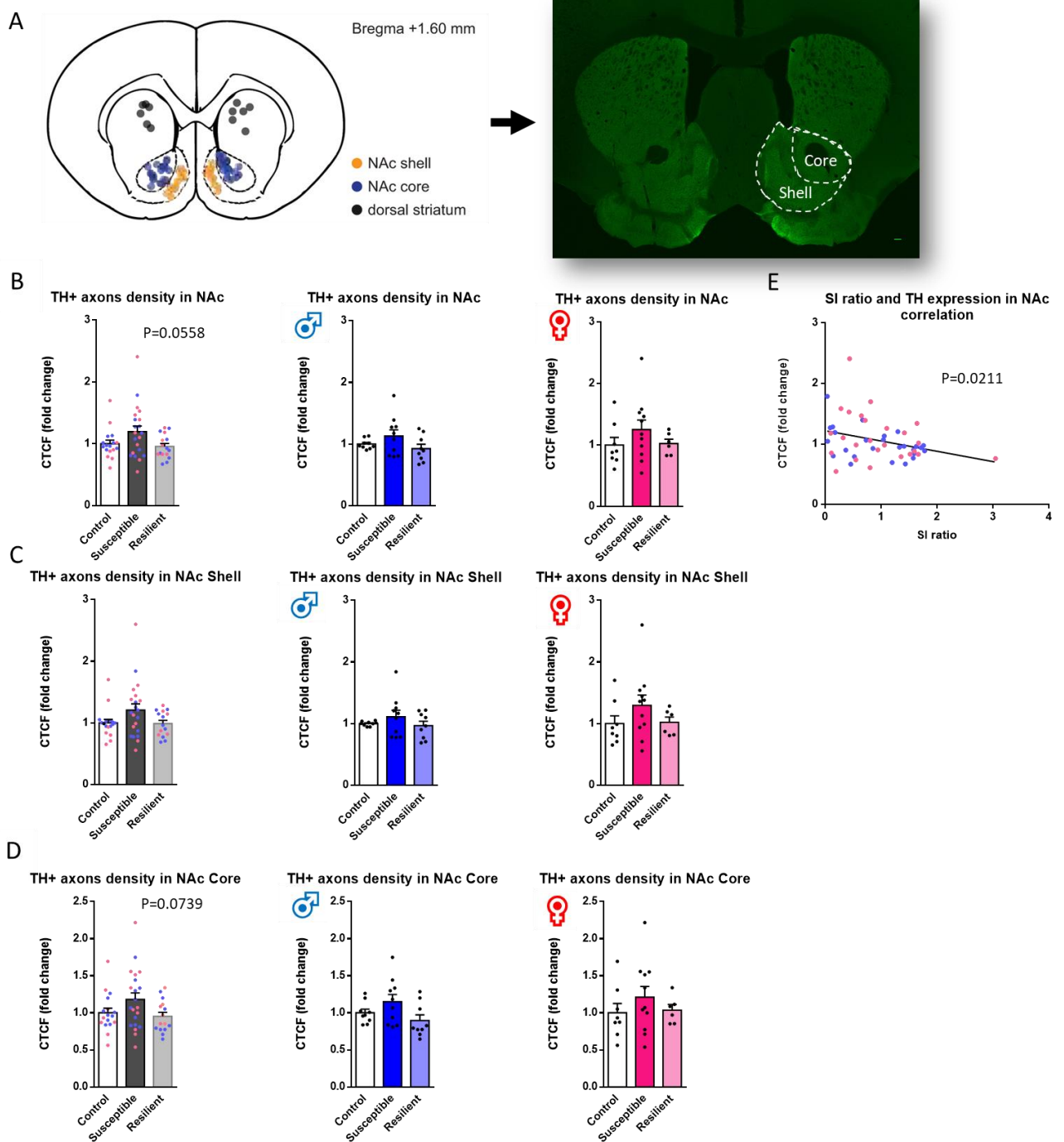
Après avoir validé notre modèle de dépression, notre première question à répondre était de savoir si le CSDS induisait des changements dans le nombre de neurones dopaminergiques présents dans la VTA. Pour ce faire, nous avons évalué le niveau d'expression de TH, une protéine impliquée dans la synthèse de la dopamine et qui est exprimée principalement dans les neurones dopaminergiques. Dans de nombreuses études, elle a été utilisée comme marqueur dopaminergique pour montrer la perte cellulaire des neurones dopaminergiques dans certaines pathologies telles que la maladie de Parkinson<sup>98; 99</sup> et l'Alzheimer<sup>100</sup>. Nous avons effectué une analyse stéréologique des cellules marquées par l'anticorps anti-TH dans la VTA (Fig. 10A). Nos résultats chez les deux sexes combinés suggèrent que le CSDS n'affecte pas le nombre de cellule exprimant la TH et que le nombre de cellules dopaminergiques TH<sup>+</sup> totales dans la VTA n'est pas affecté par le stress (Fig. 10B, en gris). En effet, les souris femelles susceptibles et résilientes montrent le même nombre de neurones que les souris femelles contrôles (Fig. 10B, en rose). En opposition, les mâles résilients montrent une faible augmentation (5%) du nombre de neurones exprimant la TH alors que les souris mâles contrôles et susceptibles ne présentent pas de différence significative (Fig. 10B, en bleu). Nous avons comparé le nombre de neurones TH<sup>+</sup> dans la VTA au ratio d'interaction sociale pour chaque souris (Fig. 10C). Nos résultats montrent que le nombre de neurones TH<sup>+</sup> dans la VTA ne corrèle pas avec le niveau d'interaction sociale. Par conséquent, ces résultats suggèrent que le CSDS n'induit pas de perte cellulaire chez les neurones dopaminergiques de la VTA.



**Figure 10. Le CSDS n'induit pas de perte de neurones dopaminergiques dans la VTA**

(a) Schéma montrant l'aire tegmentale ventrale marquée contre la TH. (b) Comptage stéréologique des neurones TH+ dans la VTA à l'aide du logiciel ImageJ, les souris femelles étant représentées par des points roses et les souris mâles par des points bleus [One-way ANOVA, Total  $H(3)=3.723$ ;  $P=0.1555$ , Mâle:  $F(1, 59)=4.129$ ;  $P=0.0257$ , Femelle:  $H(3)=0.2669$ ;  $P=0.8751$ , Contrôle  $n=19/11/8$ , Susceptible  $n=24/13/11$ , Résiliente  $n=19/10/9$ ]. (c) Corrélation linéaire entre le ratio SI et le nombre de cellules TH+ dans la VTA [régression linéaire, Contrôle  $n=19$ , Susceptible  $n=24$ , Résiliente  $n=19$ ]. Les graphiques à barres indiquent la moyenne  $\pm$  SEM. Les données sont représentées sous forme de *fold change* des souris par rapport aux valeurs des souris contrôle du même groupe. Chaque point représente une souris. Les valeurs sont dérivées d'au moins trois sections par cerveau. Barre d'échelle, 100 $\mu$ m.

Sur la base de nos résultats de l'expression de TH dans la VTA, nous nous sommes intéressés aux projections axonales mésolimbiques des neurones dopaminergiques. Dans la région du striatum et du nucleus accumbens, la TH est exprimée très densément (Fig. 11A). Pour étudier l'effet du CSDS sur la densité axonale des neurones dopaminergiques dans le NAc, nous avons mesuré le niveau de fluorescence des projections axonales marquées par la TH à l'aide de l'image J. Le niveau de fluorescence a été corrigé par rapport au bruit de fond en utilisant la méthode de fluorescence cellulaire totale corrigée (CTCF)<sup>101; 102; 103</sup>. Dans un premier temps, nos résultats suggèrent que la densité axonale dans l'ensemble du NAc n'est pas affectée par le CSDS (Fig. 11B, en gris). Nous avons obtenu le même résultat pour les femelles (Fig. 11B, en rose) et les mâles (Fig. 11B, en bleu). En revanche, le p-value est très faible suggérant une tendance d'une augmentation de la densité axonale des neurones TH<sup>+</sup> dans le NAc (Fig. 11B). Les souris mâles et femelles résilientes n'ont pas montré de différence de densité axonale TH<sup>+</sup> dans la partie cœur et latéral du NAc par rapport aux souris contrôles (Fig. 11C-D). Nos résultats suggèrent que les axones mDA projetant dans le NAc pourraient avoir une densité d'arborisation augmentée chez les souris susceptible, mais une densité inchangée pour les souris résilientes.



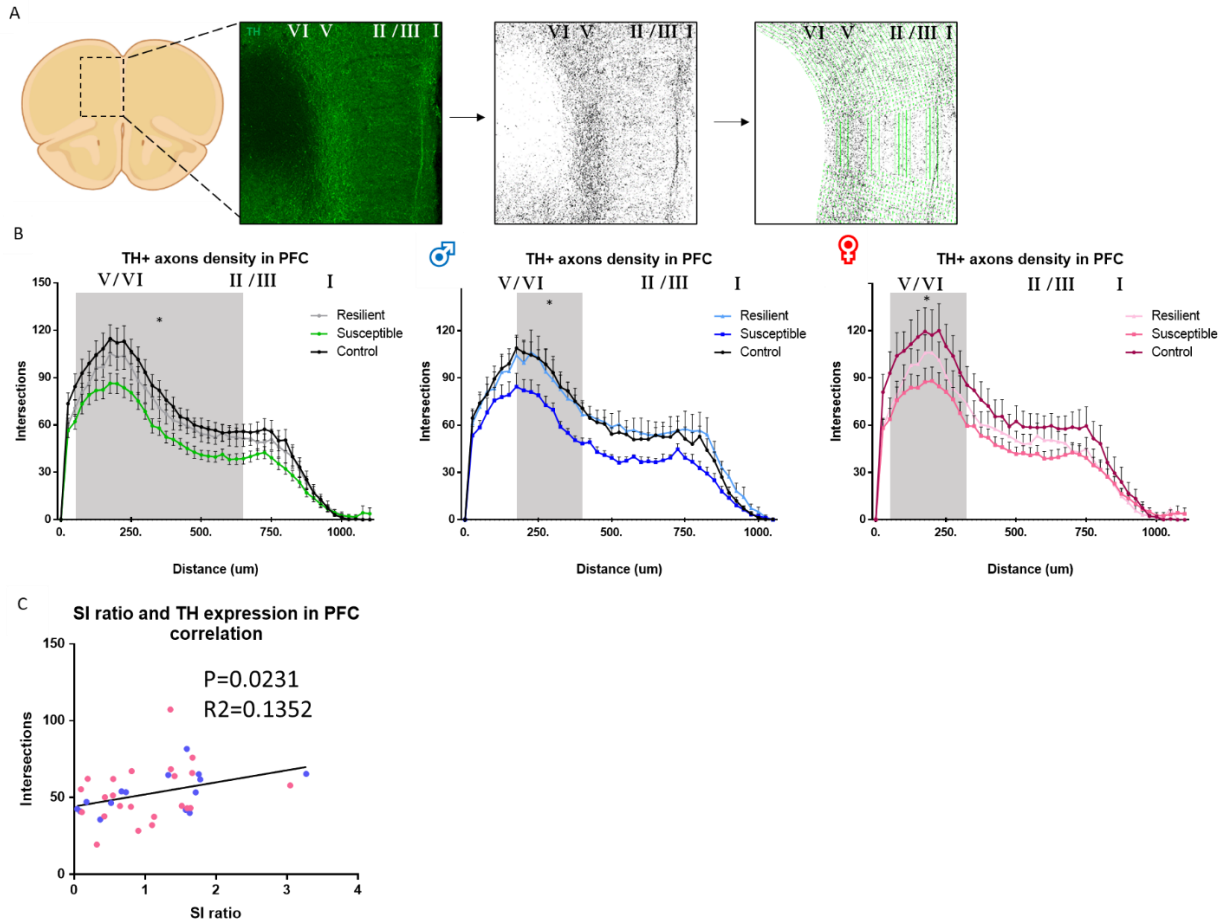
**Figure 11. Le CSDS induit des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques projetant dans le NAc.**

(a) Représentation schématique du NAc et sa séparation entre la région latérale et cœur<sup>104</sup>. (b) Densité de fluorescence des axones TH+ dans le NAc total en utilisant le logiciel ImageJ, données normalisées en utilisant la fluorescence cellulaire totale corrigée (CTCF = Densité intégrée - (Surface de la cellule sélectionnée X Fluorescence moyenne des lectures de fond)). Les souris femelles sont représentées en roses et les souris mâles en

bleus [ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0558$  pour le total,  $p=0,1646$  pour les mâles et  $p=0,3512$  pour les femelles, contrôle  $n=17/9/8$ , susceptible  $n=21/10/11$ , résiliente  $n=15/9/6$ ]. (c) Densité axonale pour la partie latérale du NAc [ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0901$  pour le total,  $p=0,3870$  pour les mâles et  $p=0,2790$  pour les femelles]. (d) Densité axonale pour la partie couleur du NAc [ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0739$  pour le total,  $p=0,0909$  pour les mâles et  $p=0,4743$  pour les femelles]. (e) Corrélation linéaire entre le rapport SI et la ctf dans le Nac [régression linéaire,  $R \text{ carré}=0,06891$ ,  $P=0,0973$ ]. Les données sont représentées sous forme de *fold change* des souris par rapport aux valeurs des souris contrôle du même groupe. Chaque point représente une souris. Les valeurs sont dérivées d'au moins trois sections par cerveau. Barre d'échelle, 100 $\mu\text{m}$ .

Enfin, nous avons examiné à nouveau les axones dopaminergiques, mais cette fois, en mettant notre attention sur le circuit mésocortical en utilisant la même approche immunohistochimique. Dans le mPFC, les axones dopaminergiques ont une faibles densités comparativement aux axones projetant vers le NAc. De plus, il est connu que les neurones dopaminergiques projettent principalement aux couches profondes (couches V et VI) du mPFC<sup>7</sup> (Fig. 2A). Nous avons confirmé que les neurones dopaminergiques de la VTA projettent principalement vers les couches V et VI du mPFC, bien qu'ils aient quelques ramifications axonales vers les couches II/III et I (Fig. 12A). Pour évaluer l'effet du CSDS sur les axones dopaminergiques exprimant la TH dans le cortex préfrontal, nous avons utilisé Neurite J, un logiciel qui permet de faire une analyse de densité axonale en 2D de l'arborisation des neurites TH<sup>+</sup>. Ce logiciel nous a permis de calculer la densité des neurites TH<sup>+</sup> dans les différentes couches du cortex préfrontal (Fig. 12A). Notre analyse a montré que les souris susceptibles, mais pas les souris résilientes, ont une densité axonale dopaminergique inférieure dans le cortex préfrontal, principalement dans la couche V et VI (Fig. 12B, en gris). En addition, la couche II/III est aussi moins dense chez les souris mâles susceptibles (Fig. 12B, en bleu), mais pas chez les souris femelles susceptibles (Fig. 12B, en rose). Lorsque l'on compare la densité axonale des souris mâles et femelles, nous avons montré que les souris femelles ont une arborisation des neurites TH<sup>+</sup> plus dense dans le cortex préfrontal que les souris mâles pour tous les phénotypes (Fig. 12B). De plus, lorsque la moyenne de densité pour toutes les couches du mPFC est comparée avec le ratio SI, on observe une corrélation positive significative. Cette corrélation montre que la densité axonale TH<sup>+</sup> dans le mPFC corrèle directement avec le ratio d'interaction sociale (Fig.12C). En bref, nos résultats de projections axonales des circuits mésocorticales et mésolimbiques montrent que le CSDS affecte les deux régions de manière opposée. Ces résultats peuvent suggérer la présence de différents mécanismes régulant l'arborisation axonale dopaminergique après un stress social.



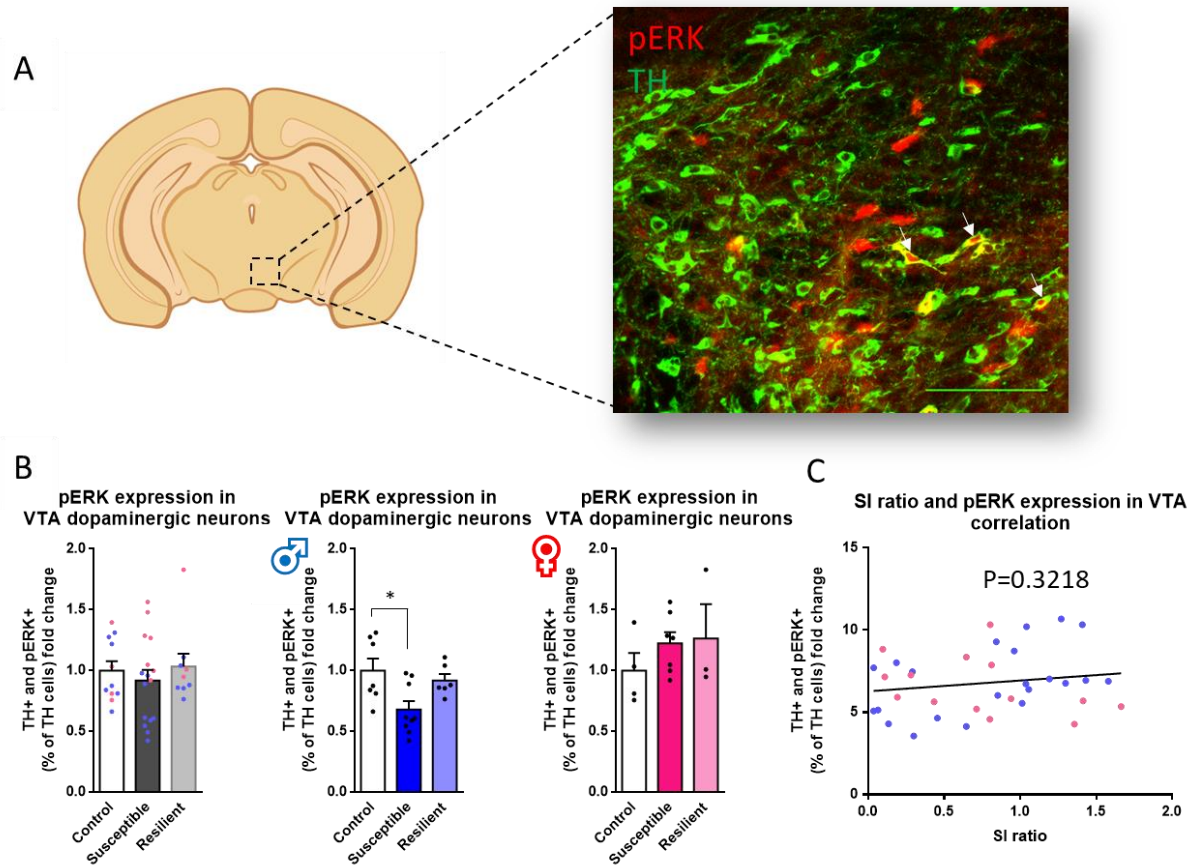


**Figure 12. Le CSDS induit une baisse de la densité axonale dans le mPFC des souris résilientes femelles et mâles.**

(a) Schéma montrant le mPFC marqué avec l'anticorps contre la TH. Démonstration de l'analyse faite avec le logiciel NeuriteJ sur les axones TH<sup>+</sup>. (b) Répartition de la densité des neurites TH<sup>+</sup> dans les différentes couches du mPFC. La distance 0 correspondant au corps calleux (couche VI) allant vers des distances plus grandes jusqu'à la ligne médiane du cerveau (couche I) [ANOVA bidirectionnelle, facteur de ligne et de colonne  $p < 0,0001$  pour le total, souris mâles et femelles. Les comparaisons multiples de Tukey sont significatives entre les souris témoins et les souris susceptibles pour les distances de 50 à 650  $\mu\text{m}$  pour les souris totales, 175 à 400  $\mu\text{m}$  pour les souris mâles et 50 à 325  $\mu\text{m}$  pour les souris femelles. Contrôle  $n=14/6/8$ , Susceptible  $n=16/5/11$ , Résiliente  $n=11/5/6$ ]. (c) Corrélation linéaire entre le rapport SI et la moyenne des interceptions pour toutes les distances dans le mPFC [régression linéaire,  $R^2 = 0,1352$ ,  $P = 0,0231$ , contrôle  $n = 14$ , susceptible  $n = 16$ , résiliente  $n = 11$ ]. Les barres d'incertitude représentent la moyenne  $\pm$  SEM. Les valeurs sont dérivées d'au moins trois sections par cerveau. Barre d'échelle, 100 $\mu\text{m}$ .

## **Caractérisation de l'expression de pERK dans les régions impliquées dans le circuit dopaminergique**

Après avoir observé des changements morphologiques des axones dopaminergiques dans le cœur du NAc et dans le mPFC, nous avons hypothétisé que ces changements pourraient être causés par un changement de l'activité dopaminergique. Il a été démontré que la voie de signalisation ERK est impliquée dans la transmission du signal dopaminergique, c'est pourquoi nous nous sommes intéressées au niveau d'activation de la voie de signalisation ERK chez les souris stressées par le CSDS. Pour cela, nous avons quantifié le niveau de protéines ERK phosphorylées (pERK) dans chacune des régions d'intérêt en utilisant une approche immunohistochimique. Tout d'abord, nous avons étudié le niveau d'expression de pERK dans les neurones dopaminergiques de la VTA. Pour cela, nous avons marqué les protéines TH et pERK pour ensuite effectuer une analyse stéréologique des neurones doublement positifs (Fig. 13A). Nos résultats suggèrent que l'expression de pERK dans les neurones TH<sup>+</sup> n'est pas affectée chez les souris susceptibles et les souris résilientes lorsque l'on combine les souris mâles et femelles (Fig. 13B). En revanche, si l'on observe les résultats en séparant les souris mâles et les souris femelles, nous observons que les souris mâles susceptibles présentent une diminution significative du niveau d'expression de pERK dans les neurones TH<sup>+</sup>. À l'opposé, les femelles ont montré une tendance non significative d'une augmentation de l'expression de pERK dans les neurones dopaminergiques des souris susceptibles. Chez les deux sexes, les souris résilientes présentent le même niveau d'expression de pERK que les souris contrôles. Par la suite, nous avons fait une régression linéaire entre les résultats des souris au test d'interaction social et l'expression de pERK dans les neurones TH<sup>+</sup> de la VTA. La régression montre qu'il n'y a pas de corrélation entre le comportement social des souris et l'expression de pERK dans les neurones dopaminergiques de la VTA (Fig. 13C). Ce même résultat a été observé chez les mâles et les femelles. Ces résultats suggèrent que la signalisation ERK dans les neurones dopaminergiques serait affectée par le CSDS uniquement chez les souris mâles susceptibles, alors qu'un effet de stress est observé chez les souris femelles.

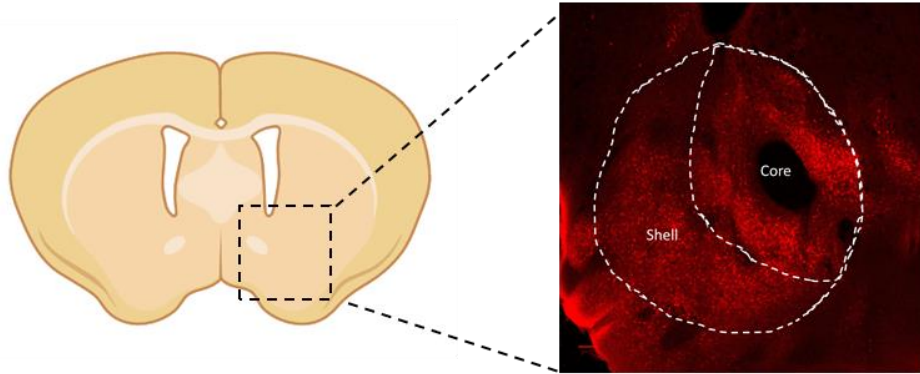


**Figure 13. La CSDS induit un changement de l'activation de la voie de signalisation ERK dans les neurones dopaminergiques de la VTA seulement chez les souris mâles susceptibles.**

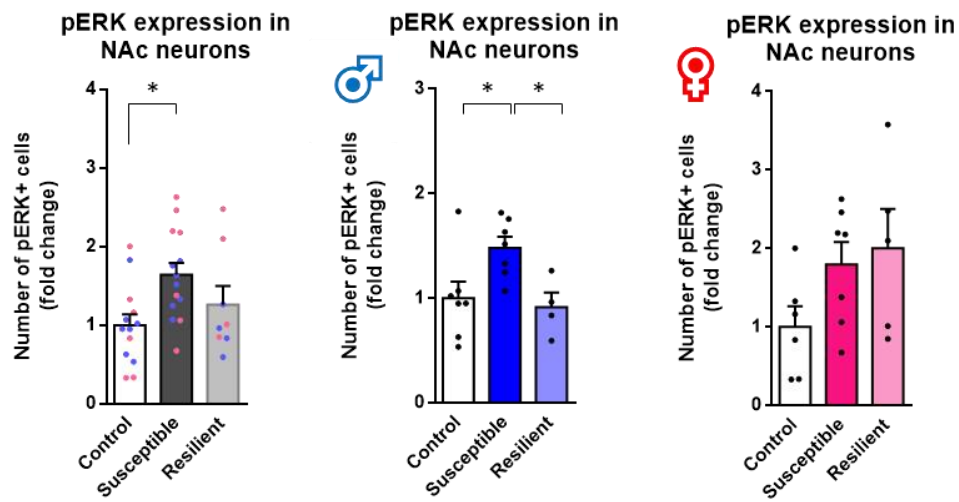
(a) Schéma montrant un z-stack de la VTA et l'immunohistochimie contre TH (rouge) et pERK (vert). (b) Comptage stéréologique des neurones TH<sup>+</sup> et pERK<sup>+</sup> dans la VTA à l'aide du logiciel ImageJ, les souris femelles étant représentées par des points roses et les souris mâles par des points bleus [ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,6438$  au total,  $p=0,0172$  pour les mâles et  $p=0,4688$  pour les femelles, contrôle  $n=11/7/4$ , susceptible  $n=16/9/7$ , résiliente  $n=9/6/3$ ]. (c) Corrélation linéaire entre le rapport SI et le nombre de cellules TH<sup>+</sup>/pERK<sup>+</sup> dans la VTA [régression linéaire,  $R^2=0,02887$ ,  $P=0,3218$ , Contrôle  $n=11$ , Susceptible  $n=16$ , Résilient  $n=9$ ]. Les diagrammes à barres indiquent la moyenne  $\pm$  SEM. Les données sont représentées sous forme de *fold change* par rapport aux valeurs de contrôle du même groupe. Chaque point représente une souris. Les valeurs sont dérivées d'au moins trois sections par cerveau. Barre d'échelle, 100 $\mu$ m.

Ensuite, nous avons étudié l'activation de la voie ERK dans les régions recevant les projections dopaminergiques de la VTA (NAc et mPFC). Tout d'abord, nous avons vérifié le niveau d'expression de pERK chez les neurones totaux de la région du NAc (Fig. 14A). Nos résultats suggèrent qu'il y a une augmentation significative de l'expression de pERK chez les souris susceptibles mâles et femelles, mais pas chez les souris résilientes (Fig. 14B). De plus, nos résultats montrent que le niveau d'activation de pERK dans le NAc corrèle fortement avec le ratio SI (Fig. 14C). En bref, les souris ayant une expression plus élevée de pERK dans le NAc montrent un comportement d'évitement social. Lorsque nous avons analysé le NAc en séparant la portion coeur et la portion latérale, nous avons observé que l'augmentation de l'activation de pERK chez les souris susceptibles était plus marquée dans le cœur du NAc que dans la partie latérale, et ce, pour les deux sexes (Fig. 14D-E).

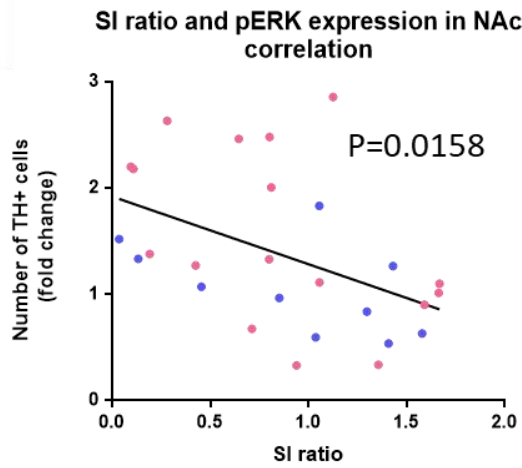
A



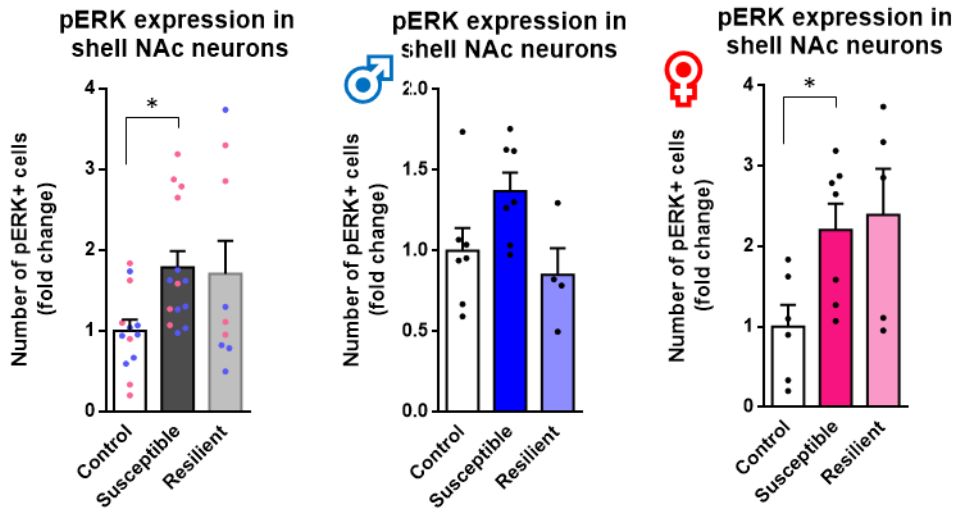
B



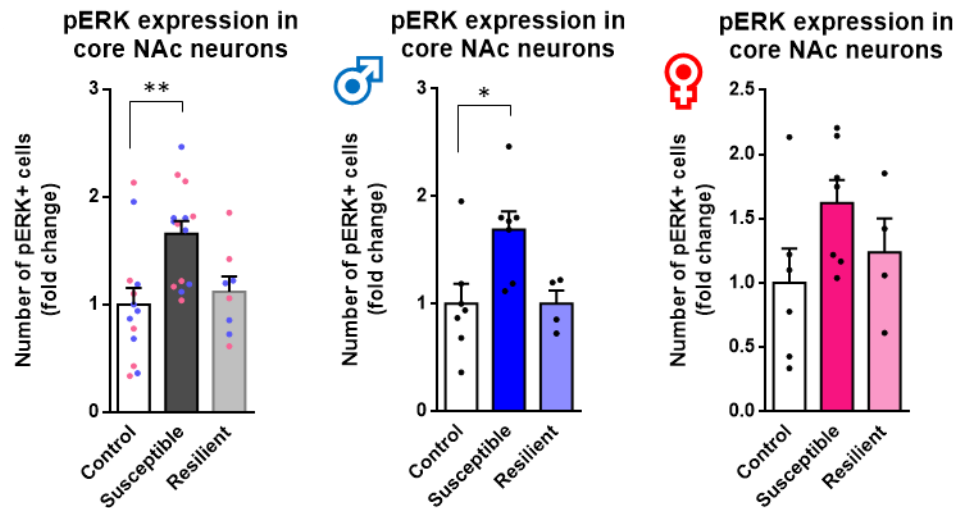
C



D



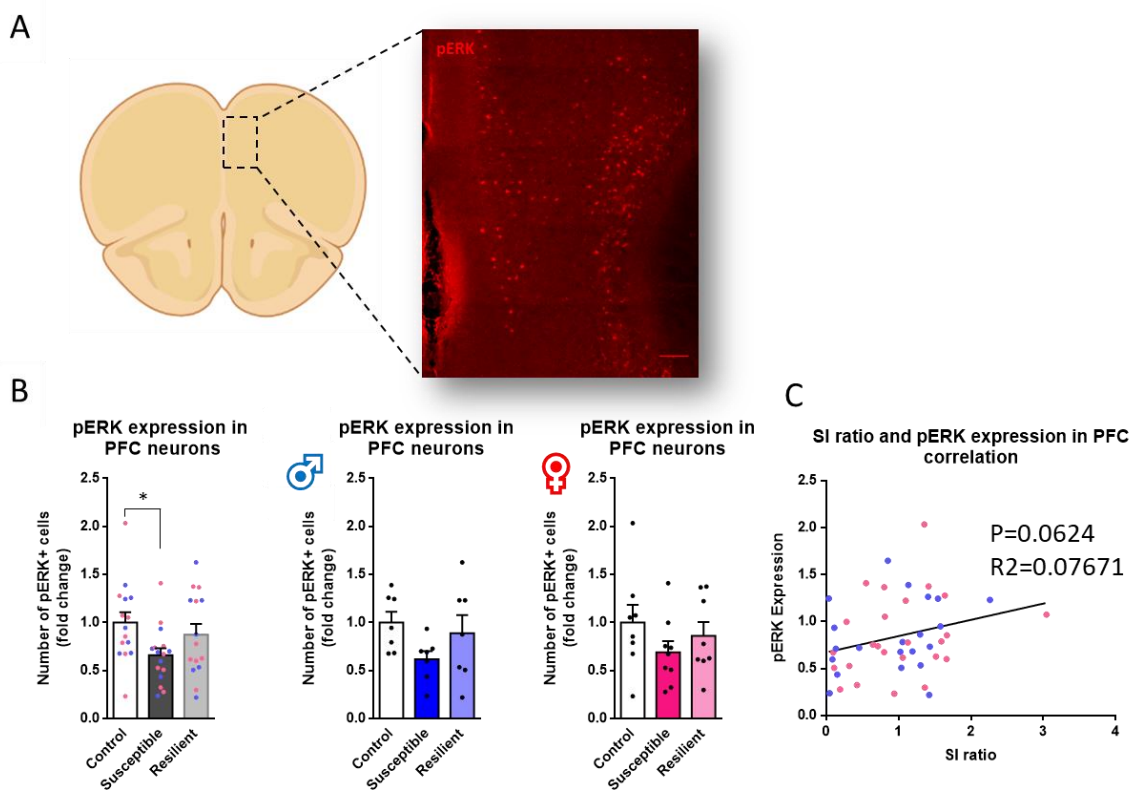
E



**Figure 14. La voie de signalisation ERK est affectée par le CSDS dans le NAc.**

(a) Schéma montrant le NAc et l'immunohistochimie contre la pERK (rouge) pour tous les phénotypes de souris. (b) Comptage stéréologique des neurones pERK+ dans la NAc en utilisant le logiciel ImageJ, les souris femelles étant représentées par des points roses et les souris mâles par des points bleus [ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0226$  pour le total,  $p=0,0226$  pour les mâles et  $p=0,1328$  pour les femelles, Contrôle  $n=13/7/6$ , Susceptible  $n=14/7/7$ , Résilient  $n=9/4/5$ ]. (c) Corrélation linéaire entre le rapport SI et le nombre de cellules pERK+ dans la NAc [régression linéaire,  $R^2=0,2114$ ,  $P=0,0158$ , Contrôle  $n=13$ , Susceptible  $n=14$ , Résilient  $n=9$ ]. (d-e) Comptage stéréologique de pERK dans les différentes régions du NAc (latéral et coeur) [Latéral : ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0429$  pour le total,  $p=0,0538$  pour les mâles et  $p=0,0469$  pour les femelles, Coeur : ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0296$  pour le total,  $p=0,0177$  pour les mâles et  $p=0,2519$  pour les femelles]. Les diagrammes à barres indiquent la moyenne  $\pm$  SEM. Les données sont représentées sous forme de *fold change* par rapport aux valeurs de contrôle du même groupe. Chaque point représente une souris. Les valeurs sont dérivées d'au moins trois sections par cerveau. Barre d'échelle, 100 $\mu$ m.

Enfin, nous avons vérifié le niveau d'activation de la voie ERK dans les neurones du mPFC. En utilisant la même approche immunohistochimique, nous avons pu déterminer le niveau d'expression de pERK dans le mPFC (Fig. 15A). Chez les souris susceptibles, mâles et femelles, l'activation de la voie ERK significativement plus faible que chez les souris contrôles (Fig. 15B, en gris). Les souris résilientes n'ont pas montré d'altération de l'activité de ERK chez les deux sexes. Lorsque l'on observe l'expression de pERK chez les femelles et les mâles séparément, on aperçoit une diminution non significative de la protéine phosphorylée. La corrélation entre le comportement social et l'expression de pERK dans le mPFC n'est pas significative. Cependant, on observe une tendance qu'une baisse de l'expression de pERK dans le mPFC corrèle avec des comportements d'évitement social.

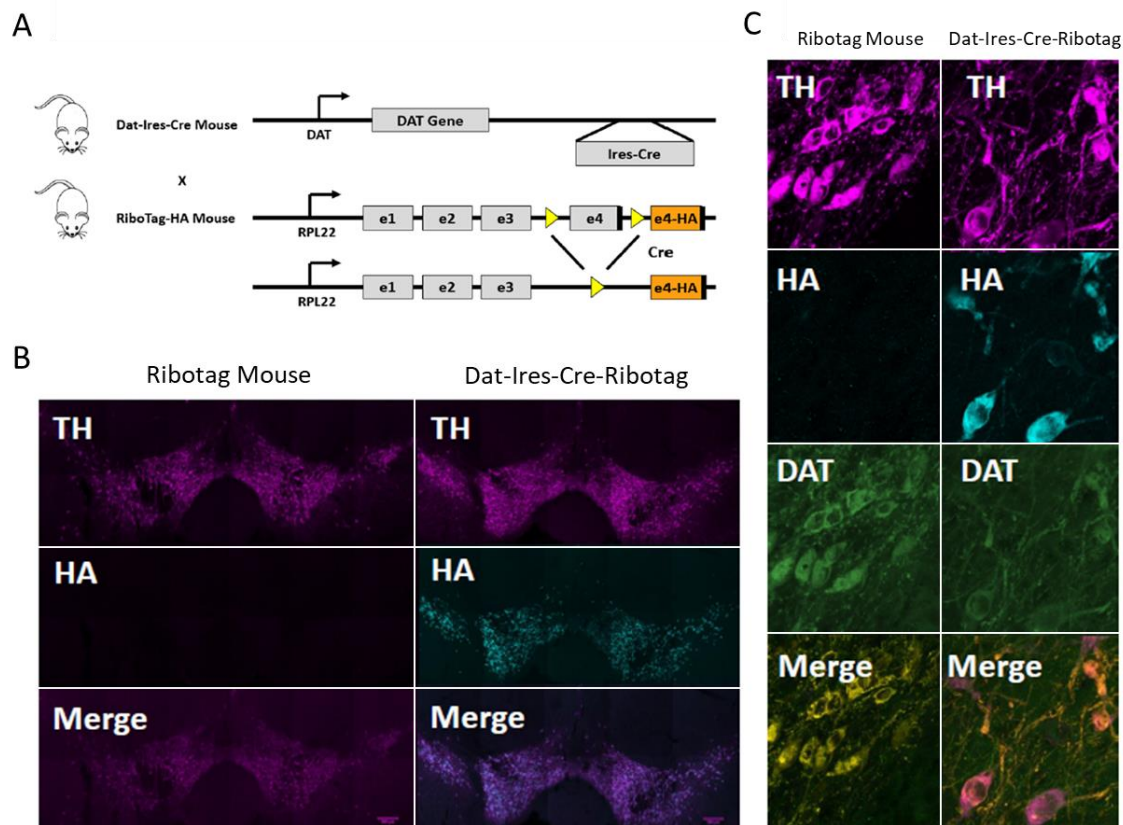


**Figure 15. La voie de signalisation ERK est affectée par le CSDS dans le mPFC.**

(a) Schéma montrant le mPFC et l'immunohistochimie contre la pERK (rouge). (b) Comptage stéréologique des neurones pERK<sup>+</sup> dans le mPFC à l'aide du logiciel ImageJ, les souris femelles étant représentées par des points roses et les souris mâles par des points bleus [ANOVA unidirectionnelle,  $p=0,0558$  pour le total,  $p=0,1546$  pour les mâles et  $p=0,3497$  pour les femelles, Contrôle  $n=15/7/8$ , Susceptible  $n=16/7/9$ , Résilient  $n=15/7/8$ ]. (c) Corrélation linéaire entre le rapport SI et le nombre de cellules pERK<sup>+</sup> dans la NAc [régression linéaire,  $R$  carré=0,07671,  $P=0,0624$ , Contrôle  $n=15$ , Susceptible  $n=16$ , Résilient  $n=15$ ]. Les diagrammes à barres indiquent la moyenne  $\pm$  SEM. Les données sont représentées sous forme de *fold change* par rapport aux valeurs des souris contrôle du même groupe. Chaque point représente une souris. Les valeurs sont dérivées d'au moins trois sections par cerveau. Barre d'échelle, 100 $\mu$ m.

## Les souris Dat-Ires-Cre-Ribotag expriment l'étiquette hémagglutinine A spécifiquement dans les neurones dopaminergiques

Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'effet du stress chez la souris sur l'expression des gènes. Afin d'isoler le transcriptome dopaminergique, nous avons croisé des souris Dat-Ires-Cre hétérozygotes avec des souris RiboTag homozygotes (Fig. 16A). Les souris Dat-Ires-Cre expriment spécifiquement la Cre-recombinase dans les neurones exprimant la DAT. Quant à la souris RiboTag, elle contient une étiquette hémagglutinine polyA sur l'exon 4 de la sous-unité ribosomale RPL22. En absence de Cre-recombinase, la souris n'exprime pas l'étiquette HA, mais lorsque la Cre-recombinase est exprimée, cela permet aux deux sites LoxP de se recombiner ce qui entraîne l'expression de l'exon 4 contenant l'étiquette HA. En d'autres mots, la souris Dat-Ires-Cre-Ribotag exprime spécifiquement l'étiquette HA sur les ribosomes des neurones dopaminergiques exprimant la DAT (Fig 16B-C).



**Figure 16. Souris Dat-Ires-Cre-RiboTag.**

(a) Représentation du croisement entre les souris Dat-Ires-Cre et RiboTag. La souris RiboTag contient deux sites loxP (triangles jaunes) autour de l'exon 4 du gène codant pour la sous-unité ribosomale RPL22. En présence de Cre-recombinase, l'exon 4 est recombinaison permettant l'expression de l'étiquette HA. (b-c) Colocalisation des immunohistochimies contre TH, DAT et HA dans la VTA.



De précédentes expériences utilisant la souris RiboTag ont montré qu'il était possible d'isoler le transcriptome axonal<sup>105; 106</sup>. Dans le cadre de notre expérience, nous nous sommes servis de cet attribut afin d'isoler le transcriptome axonal du circuit mésocorticolimbique. Dans le cadre de notre projet, nous avons pu isoler la traduction locale des ARNm des axones dopaminergiques situés dans le NAc et le mPFC ainsi que la traduction des corps cellulaires situés dans la VTA. Après avoir isolé l'ARNm de ces trois régions d'intérêt, nous avons séquencé le matériel génétique purifié pour les deux sexes (mâle et femelle) ainsi que pour nos trois différents phénotypes résultants du CSDS (contrôle, susceptible et résilient). Dans le cadre de mon projet, j'ai préparé les échantillons et isoler le matériel génétique. Le séquençage et le traitement bioinformatique a été fait en collaboration avec Metzakopian de UK DRI à Cambridge au Royaume-Uni. Par la suite, j'ai pu procéder à l'analyse des résultats obtenus. Les analyses qui suivent sont préliminaires. Dans le futur, une analyse statistique plus complète sera fait par une biostatisticienne de notre équipe de laboratoire.

## **Altérations du transcriptome des neurones dopaminergiques chez les souris stressées par la défaite sociale**

À l'aide du séquençage, il nous a été possible d'obtenir les niveaux d'expression de plus de 24 000 gènes. Dans le cadre de notre expérience, nous avons choisi d'utiliser l'expression différentielle pour l'analyse de nos données. Pour ce faire, nous avons comparé le niveau d'expression des gènes des souris ayant subies la défaite sociale par rapport au niveau d'expression des gènes des souris contrôles n'ayant pas subies la défaite sociale. Par exemple, pour le gène tripartite motif-containing 67 (*Trim67*), lorsque l'on regarde la liste comparant les souris mâles susceptibles dans la VTA, nous avons obtenu un nombre de transcrit par million de kilobase (TPM) de 43.517 pour le groupe de souris contrôles mâles, dans la région de la VTA (Fig. 17A, Colonne 6). Pour les souris dites "traitées", ici ce sont les souris susceptibles, nous avons obtenu un TPM de 0.432 pour le même gène (Fig. 17A, colonne 7). Cette différence d'expression nous donne un log2 du *fold change* de -6.63 entre les souris contrôles mâles et les souris susceptibles mâles pour le gène *Trim67*. Les deux groupes comportant un nombre d'individus de 3, le p-value est de  $3.68^{E-06}$  et le p-value ajusté est de 0.000123 (Fig. 17A, colonne 4 et 5). Ces informations nous permettent de conclure que le gène *Trim67* est régulé négativement dans la VTA des souris susceptibles mâles. Par la suite, dans une autre liste, il est possible d'obtenir la différence d'expression du même gène, mais cette fois, en comparant la VTA des souris contrôles et des souris résilientes. Si l'on regarde les résultats de cette liste, encore une fois nous obtenons un TPM de 43.517 pour les souris contrôles mâles dans la VTA, mais un TPM de 1.589 pour les souris résilientes. Comme pour les souris susceptibles, la différence de l'expression du gène *Trim67* est significative puisque le p-

value est de 0.000948 et le p-value ajusté est de 0.016332 (Fig. 17B). Donc pour le gène *Trim67*, il est possible de conclure qu'avec les résultats de nos différentes listes, le gène est sous-exprimé chez les souris susceptible et résiliente comparativement aux souris contrôles.

| RegionVTA.TypeSusceptible.SexMvsRegionVTA.TypeControl.SexM |                                |          |          |           |         |          |                |
|--|--------------------------------|----------|----------|-----------|---------|----------|----------------|
| 1  | 2                              | 3        | 4        | 5         | 6       | 7        | 8              |
| gene_name  | description                    | pvalue   | padj     | baseMean  | ctrlTPM | treatTPM | log2FoldChange |
| Trim67   | tripartite motif-containing 67 | 3.68E-06 | 0.000123 | 433.10128 | 43.517  | 0.432    | -6.63286851    |

| RegionVTA.TypeResilient.SexMvsRegionVTA.TypeControl.SexM |                                |          |          |           |         |          |                |
|--|--------------------------------|----------|----------|-----------|---------|----------|----------------|
| 1  | 2                              | 3        | 4        | 5         | 6       | 7        | 8              |
| gene_name  | description                    | pvalue   | padj     | baseMean  | ctrlTPM | treatTPM | log2FoldChange |
| Trim67   | tripartite motif-containing 67 | 0.000948 | 0.016332 | 433.10128 | 43.517  | 1.589    | -4.709020963   |

**Figure 17. Exemple de résultat de séquençage.**

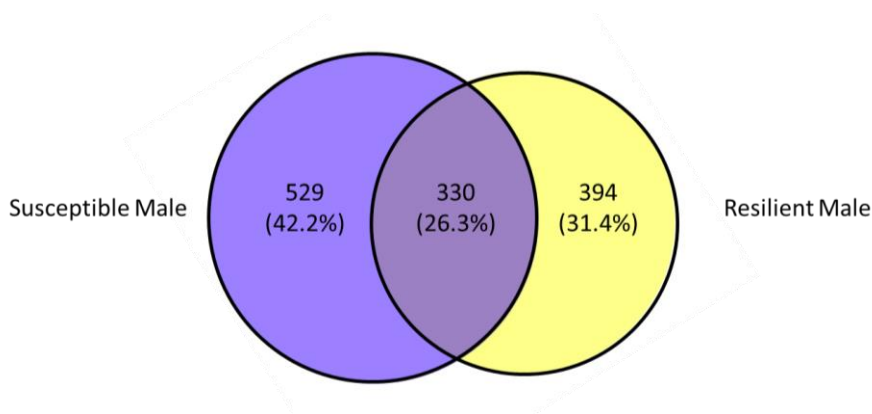
De gauche à droite, nous avons l'abréviation du nom des différents gènes, puis le nom complet des gènes. Ensuite, le p-value comparant les deux phénotypes de défaite sociale ainsi que le p-value ajusté. La colonne BaseMean indique le niveau d'expression du gène pour tous les phénotypes, genres et régions analysées du cerveau. La colonne "ctrlTPM" indique le nombre de transcrit par million de kilobase pour le groupe contrôle. La colonne "treatTPM" indique le nombre de TPM pour le groupe traité étant les souris susceptibles en (a) et résiliente en (b). Finalement, la colonne "log2Foldchange" indique la différence d'expression entre les deux groupes en log en base 2 du *fold change*.

L'exemple ci-haut nous permet de comparer le niveau d'expression de plusieurs milliers de gènes pour les souris mâles susceptibles et résilientes pour la région de la VTA. Pour l'analyse qui suit, nous avons comparé les listes de nos trois régions d'intérêt : la VTA, les axones projetant au NAc et les axones projetant au PFC. De plus, il nous a été possible de faire cet exercice comparatif pour observer les effets du CSDS sur le transcriptome chez les deux sexes. Dans le cadre de nos analyses, nous avons retiré tous les gènes dont le *BaseMean* était en dessous de 20 pour la totalité de nos échantillons. Nous avons fait ce choix pour éliminer les gènes qui pourraient être différemment exprimés, mais qui s'avérerait de faux positifs dus aux bruits de fond du séquençage. Nous avons considéré que les gènes ayant un p-value en dessous de 0.05 était significativement altérés. De plus, puisque le p-value ajusté est beaucoup plus stricte que le p-value, les gènes devaient être en dessous de 0.1 pour être considéré comme significativement différemment exprimés entre les deux groupes.

## **La défaite sociale entraîne des altérations du niveau d'expression des gènes dans les neurones dopaminergiques de la VTA**

En premier lieu, nous nous sommes intéressés aux changements d'expression des gènes dans les corps cellulaires dopaminergiques situés dans la VTA. Pour ce faire, nous avons comparé les niveaux d'expression des gènes chez les souris susceptibles et résilientes pour les deux sexes. Premièrement, nous avons analysé les différences d'expression entre les souris susceptibles et résilientes mâles. En

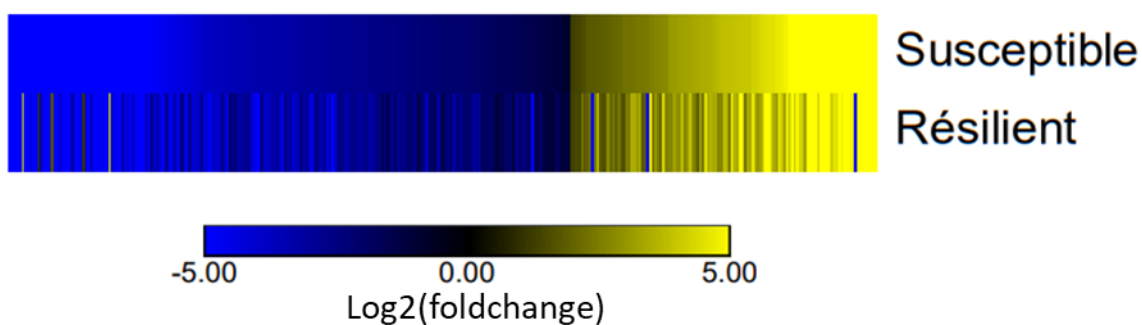
comparant ces deux groupes, nous avons conclu que 859 gènes étaient altérés chez les souris susceptibles comparativement aux souris résilientes, alors que 724 gènes étaient affectés chez les souris résilientes (Fig. 18). En comparant les listes des gènes significativement altérés pour les souris susceptibles et résilientes, nous avons obtenu que les deux groupes partagent 330 gènes différemment exprimés par rapport aux souris contrôles (Fig. 18).



**Figure 18. Diagramme de Venn des gènes ayant un niveau d'expression altéré par la défaite sociale pour les souris mâles dans les neurones dopaminergiques de la VTA.**

Le nombre de gènes différemment exprimés chez les souris susceptibles en bleu et le nombre de gènes différemment exprimés chez les souris résilientes en jaune.

L'une des premières questions qu'il nous est venu à l'idée était de savoir si les gènes différemment exprimés chez les souris susceptibles et les souris résilientes étaient régulés dans le même sens ou dans le sens opposé. Pour ce faire, nous avons généré une *heatmap* pour les 330 gènes altérés dans les deux phénotypes afin de déterminer si le niveau d'expression de chaque gène était régulé positivement ou négativement.



**Figure 19. Heatmap des fold change pour les 330 gènes différemment exprimés chez les souris susceptibles et résilientes.**

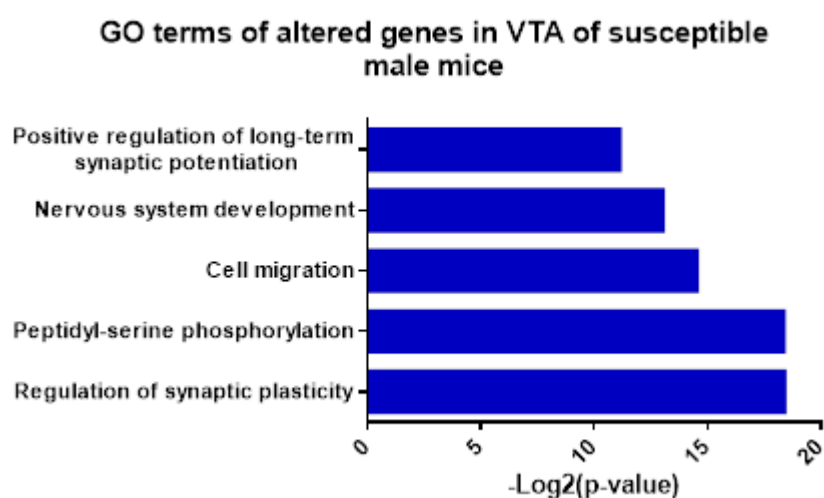
La couleur bleue représente les gènes dont l'expression est inhibée par rapport au contrôle. Le jaune représente les gènes dont l'expression est augmentée par rapport aux souris contrôles. La différence est exprimée en log en base 2 du *fold change*.

Avec cette analyse, nous remarquons que la majorité des gènes différemment exprimée chez les deux phénotypes sont régulés dans le même sens pour les deux phénotypes, comme dans le cas de l'exemple *Trim67* (Fig. 19). Par contre, certains gènes sont régulés dans le sens opposé chez les différents phénotypes. Ces gènes pourraient s'avérer intéressants à étudier afin de comprendre le comportement social opposé de ces deux phénotypes. Par exemple, le gène *Azi2* est régulé positivement chez les souris susceptibles et négativement chez les souris résilientes. Ce gène code pour la protéine 5-azacytidine-induced 2. Il contribue à l'activation de NF- $\kappa$ B, un complexe de gène régulant la transcription de l'ADN. Il a été montré que NF- $\kappa$ B serait impliqué dans la plasticité synaptique et la mémoire<sup>107; 108</sup>. Ainsi, ce gène pourrait être une cible expérimentale potentielle afin de comprendre les différences morphologiques, fonctionnelles et comportementales entre les souris résilientes et susceptibles au CSDS.

Un autre exemple de gène altéré est *Grin2b* codant pour le récepteur du glutamate ionotropique NMDA 2B. Selon nos résultats, le gène serait négativement régulé dans les souris mâles susceptibles au stress, mais régulé positivement chez les souris résilientes. Les neurones de la VTA expriment ce récepteur permettant de recevoir le signal glutamatergique des différentes projections afférentes. En effet, plusieurs régions ont des projections glutamatergiques vers la VTA tels que le pallidum ventral, l'habenula latéral, la substance grise périaqueducule et le raphé dorsal<sup>109</sup>. Ainsi, ce gène pourrait être aussi une cible intéressante afin de comprendre les mécanismes entraînant les changements causés par le CSDS.

En ce qui concerne la voie de signalisation ERK, nous retrouvons des gènes dont l'expression est affectée chez les souris susceptible. En effet, nos résultats montrent que *dusp3*, *dusp8* et *dusp7* serait affecté par le stress social spécifiquement chez les souris susceptibles mâles. Ces gènes sont impliqués dans la voie de signalisation ERK et des évidences ont montré une expression altérée dans plusieurs régions du cerveau pourrait être en lien avec la prédisposition au stress<sup>110; 111</sup>. En addition, *pak2* et *cdc42*, deux gènes impliqués dans la cascade de signalisation ERK ont aussi été retrouvé dans nos listes de gènes affectés chez les souris susceptibles. Des évidences montrent que ces gènes pourraient être impliqué dans la structure du cytosquelette et dans la morphologie des neurones<sup>112</sup>. Dans le même ordre d'idée, le gène *igflr* est régulé négativement chez les souris susceptibles mâles et femelles. Ce gène serait impliqué dans la relâche et la synthèse de la dopamine via la voie de signalisation ERK<sup>113</sup>.

Par la suite, nous nous sommes intéressés aux fonctions des gènes dont le niveau d'expression est altéré par la défaite sociale. Pour ce faire, nous avons procédé à une analyse de *gene oncology Term Enrichment* (GO Term) afin de connaître la fonction associée au gène affecté par la défaite sociale. Ici, nous avons vérifié les GO Terms des gènes dont le niveau d'expression était altéré dans la VTA des souris mâles susceptibles au stress (Fig. 20). Les termes qui sont sortis les plus significatifs sont associés à la régulation de la plasticité synaptique, la phosphorylation des peptidyl-sérines, la migration cellulaire, le développement du système nerveux et à la régulation positive des potentiels synaptiques à long terme. Ce type d'analyse nous permet de mieux comprendre quels sont les différents mécanismes fonctionnels affectés par le stress de défaite sociale.



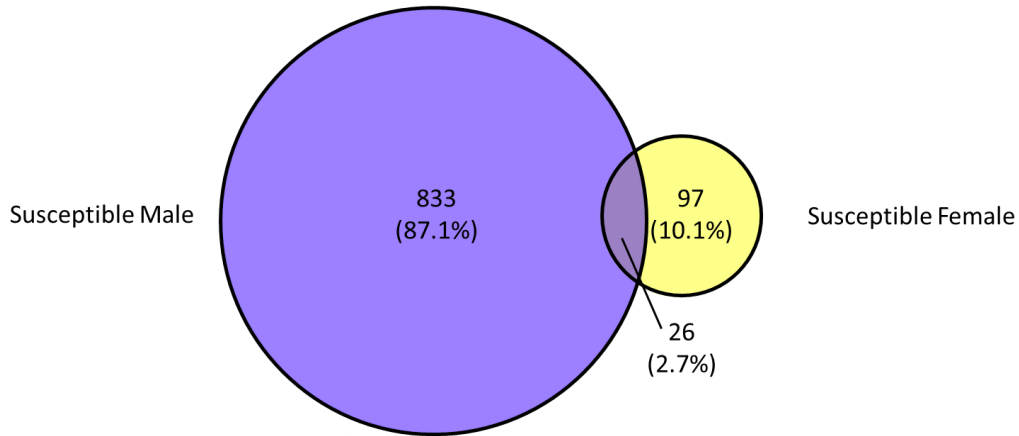
**Figure 20. Analyse par GO term des gènes dont le niveau d'expression est altéré par la défaite sociale chez les souris mâles susceptibles dans la VTA.**

Liste des termes GO les plus significativement représentés chez les gènes altérés des souris susceptibles mâles. Les valeurs sont exprimées en  $-\log_2(\text{p-value})$  où le p-value représente la probabilité d'observer au moins x nombres de gènes parmi les n gènes totaux de la liste annotés à un terme GO particulier, étant donné la proportion de gènes dans le génome entier qui sont annotés à ce terme GO.

### **Les altérations de la transcription dans la VTA sont différentes chez les mâles et les femelles**

Ensuite, nous avons exploré les différences entre les mâles et les femelles stressés. Nos résultats montrent que la plupart des gènes altérés par les défaites sociales sont spécifiques au genre de la souris. En effet, les souris femelles susceptibles ont 123 gènes différemment exprimés dans la VTA et elles partagent 26 gènes communs avec les souris mâles (Fig. 21). Parmi les gènes altérés spécifiquement chez les souris susceptibles femelles, *Gnao1* est fortement régulé positivement ( $\text{Log}_2\text{Foldchange} = 3.25$ ) dans les neurones dopaminergiques de la VTA. Ce gène code pour la sous-unité  $\alpha$  de la protéine  $G_o$  qui est

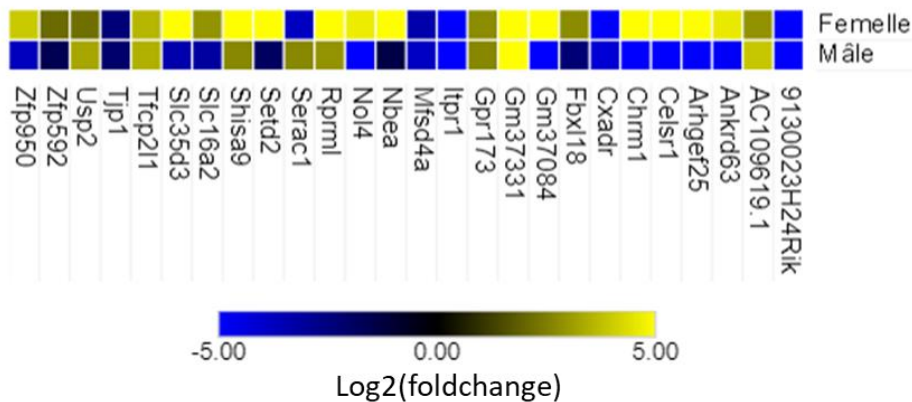
impliquée dans la signalisation de *Drd2*. Il serait intéressant d'étudier les gènes spécifiquement altérés chez les souris femelles et mâles afin de mieux comprendre le dimorphisme sexuel présent dans la dépression.



**Figure 21. Nombre de gènes altérés dans la VTA des souris susceptibles mâles et femelles.**

Diagramme de Venn exprimant en bleu les gènes altérés chez les souris mâles et en jaune, les souris femelles.

Parmi les gènes partagés entre les deux sexes, nous retrouvons le récepteur cholinergique muscarinique 1 (*Chrm1*) qui est régulé positivement chez les souris femelles, mais régulés négativement pour les souris mâles. Plusieurs gènes ont montré une régulation différente chez les mâles et les femelles et approfondir nos recherches sur ces gènes pourrait nous aider à mieux comprendre les différences entre les sexes dans la prédisposition au stress. En effet, lorsque l'on regarde la *heatmap* de l'expression des gènes altérés par le stress chez les souris susceptibles, nous observons que la plupart des gènes sont régulés inversement entre les deux sexes (Fig. 21).



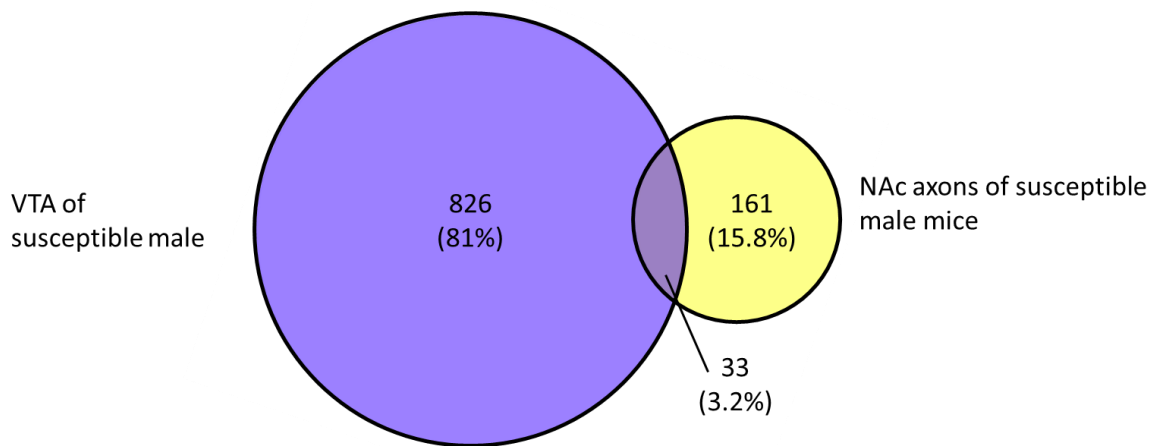
**Figure 22. Heatmap du niveau d'expression des gènes altérés communs aux deux sexes des souris susceptibles.**

La couleur bleue représente les gènes qui sont inhibés par rapport au contrôle. Le jaune représente les gènes dont l'expression est augmentée par rapport aux souris contrôles. La différence est exprimée en log en base 2 du *fold change*.

**Le transcriptome axonal des neurones dopaminergiques est aussi affecté par la défaite sociale**

Grâce à notre souris transgénique Dat-Ires-Cre-Ribotag, il a été possible d'isoler le transcriptome axonal des neurones mDA. Une des questions que nous tentions de répondre était de savoir si le transcriptome axonal affecté par le CSDS était similaire à celui affecté dans les corps cellulaires. Pour ce faire, nous avons comparé les gènes dont l'expression a été altérée au niveau des corps cellulaires de la VTA et les gènes dont l'expression a été altérée au niveau des axones dopaminergiques du NAc et du mPFC chez les souris mâles susceptibles. Nous observons que les différentes régions du neurones dopaminergiques ne partagent pas les mêmes gènes altérés (Fig. 22). En effet, le transcriptome communément altéré entre les corps cellulaires de la VTA et les projections axonales du NAc est de seulement 33 gènes (3.2%). Par exemple, le gène codant pour la tubuline Beta classe I, *Tubb5*, est fortement régulé négativement autant dans la VTA que dans les axones du NAc par rapport aux souris contrôles (respectivement  $\log_2\text{foldchange} = -2.4$  et  $-2.24$ ). Cette protéine est impliquée dans la structure des microtubules.

Enfin, lorsque nous nous intéressons aux gènes spécifiquement altérés dans les axones dopaminergiques du NAc, nous observons des gènes altérés dont les GO term appartient à l'extension des axones et la régulation positive de l'extension des axones telles que *Sema5a*, *Sema7a* et *Nrg1*. Les gènes *Sema5a* et *Sema7a* se trouvent régulés négativement dans les axones du NAc (respectivement  $\log_2\text{foldchange} = -2.29$  et  $-1.63$ ) et *Nrg1* est régulé positivement ( $\log_2\text{foldchange}=2.67$ ). Puisque ces gènes sont impliqués dans l'extension et l'orientation de l'axone, il serait possible qu'ils soient impliqués dans les changements morphologiques des axones dopaminergiques que nous avons observés dans le NAc (Fig. 12B). En addition, de précédentes études d'association de gènes ont montré que *Nrg1* pourrait être lié à la maladie de la dépression et à la schizophrénie<sup>114; 115; 116</sup>. Bref, ces gènes se présentent comme des cibles intéressantes afin d'étudier l'impact des altérations de la signature transcriptionnelle sur les changements morpho-fonctionnels observés chez les mâles et les femelles stressés.



**Figure 23. Nombre de gènes altérés dans la VTA et dans les axones du NAc des souris susceptibles mâles.**

Diagramme de Venn exprimant en bleu les gènes altérés chez les souris dans la VTA des souris mâles susceptibles et en jaune, les souris les axones dopaminergiques du NAc des souris mâles susceptibles.



## Chapitre-2 : Discussion

La dépression est une affection neurologique dont les mécanismes cellulaires provoquant la maladie sont encore très peu compris. Aujourd'hui, plusieurs études ont montré l'implication du système dopaminergique dans le développement de la maladie de la dépression. Nos résultats viennent supporter ces études en indiquant le rôle crucial du circuit dopaminergique dans la réponse au stress. Ici, nous avons caractérisé l'effet du stress induit par le modèle de CSDS sur les neurones dopaminergiques. Dans cette discussion, il sera discuté des observations quant aux changements morphologiques, de l'expression de pERK ainsi que de la signature transcriptionnelle à la suite d'un stress social.

| Région    | Protéine | Mâle et Femelle | Mâle          | Femelle       |
|-----------|----------|-----------------|---------------|---------------|
| VTA       | TH       | Aucun           | ↗ Résiliente  | Aucun         |
| PFC       | TH       | ↘ Susceptible   | ↘ Susceptible | ↘ Susceptible |
| VTA       | pERK     | Aucun           | ↘ Susceptible | Aucun         |
| NAc shell | pERK     | ↗ Susceptible   | Aucun         | ↗ Susceptible |
| NAc Core  | pERK     | Aucun           | ↗ Susceptible | Aucun         |
| NAc Total | pERK     | ↗ Susceptible   | ↗ Susceptible | Aucun         |
| PFC       | pERK     | ↘ Susceptible   | Aucun         | Aucun         |

**Tableau 3. Récapitulatif des résultats de changement d'expression de TH et pERK.**

### **Le CSDS induit des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques des souris susceptibles**

Le premier objectif de ce projet était de caractériser les changements morphologiques induits par le stress dans les neurones dopaminergiques. Tout d'abord, nous avons vérifié si le nombre de neurones dopaminergiques présents dans la VTA restait stable après le CSDS. Nos résultats nous permettent de constater que le nombre de neurones TH<sup>+</sup> dans la VTA présente chez les souris susceptibles étaient le même que chez les souris résilientes et contrôles (Fig. 10). Cependant, chez les souris mâles résilientes, nous avons observé une augmentation significative du nombre de neurones exprimant la TH dans la VTA. Il est peu probable que la défaite sociale augmente le nombre de neurones dopaminergiques dans la VTA spécifiquement chez les souris résilientes mâles. Néanmoins, il serait possible que l'expression de la TH dans les neurones dopaminergiques soit augmentée entraînant un compte cellulaire plus élevé de neurones TH<sup>+</sup> chez les souris résilientes mâles. Prochainement, pour confirmer que le nombre de neurones dopaminergiques dans la VTA n'est pas affecté par le CSDS, nous allons répéter cette expérience en utilisant d'autres marqueurs neuronaux tels que DAT ou NeuN. Différentes études ont

montré que le stress et la dépression pouvaient entraîner des changements morphologiques dans les neurones et les cellules gliales<sup>117</sup>. Par exemple, il a été montré que les neurones pyramidaux glutamatergiques situés dans les couches III et V du mPFC avaient une densité significativement réduite chez les patients dépressifs<sup>118</sup>. Une autre étude a montré qu'un score plus élevé de gènes relié à l'anhédonie corrélait à une perte de volume du cerveau, incluant les régions du NAc et du mPFC, suggérant le rôle de Netrin-1 et DCC<sup>119; 120</sup>. Netrin-1 et DCC sont particulièrement impliqués dans la guidance axonale des neurones. Une étude utilisant le stress de contention chronique sur les rats a montré qu'un stress de 4 semaines entraînait une diminution du nombre de neurones TH<sup>+</sup> ainsi qu'une diminution de l'expression de l'ARNm TH dans la VTA. Néanmoins, les résultats présentés dans ce mémoire suggèrent que le stress social chez la souris n'induirait pas de perte de neurones dopaminergiques dans la VTA<sup>121</sup>. Cette différence de résultats pourrait s'expliquer par l'utilisation d'un modèle de stress différent. En effet, le modèle de stress utilisé par cette dernière étude prolonge le stress pendant une période de 16 semaines et la perte de neurones dopaminergiques survient après 4 semaines de stress. En comparaison, notre protocole a une durée de 10 jours seulement. Il est possible que le CSDS prolongé (plus de 4 semaines) puisse entraîner une perte des neurones TH<sup>+</sup>. Dans le futur, il serait intéressant de voir si nous pourrions reproduire la perte de neurone TH<sup>+</sup> de la VTA à l'aide du modèle de CSDS prolongé. Finalement, le ratio d'interaction sociale n'est pas corrélé avec le nombre de neurones TH<sup>+</sup> dans la VTA ce qui suggère que le nombre de neurones dopaminergiques n'affecte pas la sociabilité des souris (Fig. 10C).

Par la suite, nous nous sommes intéressés à l'effet du stress social sur la morphologie des axones dopaminergiques. Plusieurs études ont montré l'effet des différents modèles de stress sur l'intégrité morphologique des axones dans diverses régions du CNS. Entre autres, une étude a montré qu'un stress moyen chronique (CMS) entraînait une réduction de la longueur des dendrites des neurones du mPFC. De plus, dans cette même étude, ils ont montré que le CMS induirait une diminution du nombre d'épines dendritiques ainsi que des changements morphologiques des épines dendritiques des neurones du mPFC<sup>122</sup>. Dans le NAc, une étude a montré que le stress social induit une hypertrophie des dendrites ainsi qu'une augmentation de la densité des épines dendritiques<sup>123</sup> situées dans cette région. Les résultats de ces études nous ont amené à postuler que le CSDS pourrait avoir un effet sur l'intégrité morphologique des axones dopaminergiques. Ici, notre étude suggère que l'arborisation des axones dopaminergiques pourrait être affectée par le CSDS. En effet, nos résultats montrent une tendance non significative de l'augmentation de la densité axonale TH<sup>+</sup> dans le NAc des souris susceptibles. Cette tendance est observée autant chez les souris mâles que les femelles (Fig. 11B). De plus, la corrélation entre le comportement social et la densité TH<sup>+</sup> dans le NAc suggère qu'un comportement social est associé à une plus faible densité axonale TH<sup>+</sup>.

En ce qui concerne le circuit mésocortical, nous avons observé une diminution significative de la densité axonale TH<sup>+</sup> dans le mPFC des souris susceptibles au stress social (Fig. 12). Quant aux souris résilientes, elles présentent une densité axonale similaire aux souris contrôles. Ces mêmes résultats ont été observés chez les souris mâles et femelles. Cette diminution de densité axonale TH<sup>+</sup> est principalement significative dans la couche V et VI, soit les couches où les terminaisons axonales dopaminergiques projettent. L'un des biais de notre expérience est le fait que certains neurones noradrénergiques projetant dans le mPFC expriment aussi la TH dans leurs axones ce qui pourrait fausser notre approche immunohistochimique utilisant la TH. Néanmoins, les neurones noradrénergiques projettent principalement vers les couches II/III et I, soit les régions du mPFC où nous n'avons pas observé de différence significative d'expression de la TH (Fig. 2, en vert). En ce qui concerne les neurones noradrénergiques, seulement 10% des axones projetant vers le mPFC expriment la TH<sup>124</sup>. De plus, il a été montré que le stress chronique par le froid induit une augmentation de l'expression de la TH dans les axones NE situés dans le mPFC<sup>124</sup>. Un autre biais de notre étude est la possibilité que les changements morphologiques axonaux observés dans le mPFC et le NAc soit causés par une altération de l'expression de la TH. Une étude utilisant un modèle de stress combinant l'isolement social et génétique a montré que la TH était régulée négativement, via des mécanismes épigénétiques, dans le cortex frontal des souris stressées<sup>125</sup>. La prochaine étape afin de valider ces résultats serait de confirmer les résultats obtenus dans cette étude via l'utilisation d'un autre marqueur des neurones dopaminergiques (DAT) ou par l'utilisation d'une approche virale marquant sélectivement les neurones dopaminergiques.

Bref, nous avons observé des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques principalement dans la région du mPFC. Nos résultats montrent que la densité axonale est réduite principalement dans les couches V et VI du mPFC. Les neurones pyramidaux de ces couches du mPFC recevant les projections dopaminergiques projettent à leur tour vers le raphé dorsal, l'habenula latéral, l'amygdale basolatérale et la VTA<sup>126</sup>. Ces régions sont impliquées dans plusieurs fonctions limbiques. Il est possible que le stress social cause des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques via des mécanismes étant encore inconnus. À leur tour, ces changements morphologiques pourraient créer un déficit dans la signalisation dopaminergique affectant l'équilibre du système limbique. Dans le futur, il serait intéressant de moduler la densité des axones dopaminergiques du mPFC et du NAc via des manipulations génétiques ou virales afin d'observer l'effet de l'arborisation dopaminergique sur la prédisposition à la résilience et à la susceptibilité au stress. À la suite de mon projet, nous souhaitons utiliser un nouvel outil génétique, le Dlight, qui permet de quantifier la relâche de la dopamine<sup>127</sup>.

## **Le CSDS induit des altérations de la signalisation dopaminergique dans les différentes régions du circuit mésocorticolimbique**

Le deuxième objectif de ce projet était de caractériser les changements fonctionnels induits par le modèle CSDS dans les neurones dopaminergiques. Pour ce faire, nous nous sommes intéressés à la voie de signalisation ERK. Plusieurs études ont montré que les différents modèles de dépression chez les rongeurs entraînaient des changements dans l'activation de la voie de signalisation ERK<sup>29; 83</sup>. Dans la continuité de ces résultats, nous avons décidé d'étudier les changements dans la voie ERK induits par le stress social, spécifiquement dans les neurones dopaminergiques de la VTA. Par le passé, plusieurs études ont montré que le stress entraîne une augmentation du niveau de pERK dans la VTA. En opposition, nos résultats montrent une diminution de l'expression de pERK dans les neurones TH<sup>+</sup> de la VTA des souris mâles susceptibles au stress, alors qu'aucune différence significative n'a été observée chez les femelles. La première observation faite après cette expérience était le faible pourcentage d'expression de pERK dans les neurones TH<sup>+</sup> de la VTA. En effet, la plupart des neurones pERK<sup>+</sup> de la VTA n'exprimait pas la TH. Il se peut que la différence entre nos résultats et la littérature puisse être causée par la spécificité de l'étude aux neurones dopaminergiques (TH<sup>+</sup>). En addition, nos résultats montrent que la sociabilité des souris ne corrèle pas avec l'expression de pERK dans les neurones dopaminergiques.

Par la suite, pour valider notre modèle, nous avons aussi quantifié pERK dans le NAc et dans le mPFC. En ce qui concerne le NAc, nos résultats ont montré une augmentation significative de la phosphorylation de ERK chez les souris susceptibles. Par contre, cette différence a été observée seulement chez les mâles alors que les femelles présentent une tendance similaire aux souris mâles. De plus, nous avons observé que l'augmentation de l'expression de pERK dans le NAc corrèle directement avec un comportement d'évitement social. Finalement, les différences d'expression de pERK étaient nettement plus élevées dans le cœur du NAc que dans le shell. Des études antérieures ont montré que le stress active principalement la structure shell du NAc<sup>128; 129</sup>, tandis que la dépendance aux drogues active la structure du noyau<sup>130</sup>. Les modèles d'expression de pERK observés dans le noyau et le shell du NAc suggèrent que les deux structures intègrent différemment les facteurs de stress social chez les mâles et les femelles et suggèrent que des circuits neuronaux distincts de ces sous-régions du NAc peuvent contribuer différemment à l'expression du stress chez les hommes et les femmes. Pour le mPFC, nous avons observé une diminution de l'expression de pERK chez les souris susceptibles au CSDS. Ces résultats d'expression de pERK dans le NAc et le mPFC corroborent avec les résultats de précédentes études montrant la même régulation de pERK chez les rongeurs stressés<sup>75; 84; 131</sup>. En opposition, une étude a montré une augmentation de l'expression de pERK dans le cortex préfrontal des femmes atteintes de

la dépression. En addition, cette étude a aussi montré une augmentation de pERK dans le mPFC des femelles stressées par le stress chronique variable<sup>30</sup>. Cette différence de résultat pourrait être expliquée par l'utilisation de différents modèles de stress. Finalement, l'expression de pERK dans le mPFC ne corrèle pas avec la sociabilité des souris.

## **Le CSDS induit des modifications de la signature transcriptionnelle dans les corps cellulaires et les axones dopaminergiques**

L'objectif final de ce travail était de caractériser la signature transcriptionnelle des neurones dopaminergiques des souris défaites socialement afin de définir la contribution fonctionnelle des circuits dopaminergiques sur la prédisposition à la dépression chez le mâle et la femelle. Pour ce faire, nous avons utilisé la souris transgénique *Dat-Ires-Cre-Ribotag* afin d'isoler spécifiquement le transcriptome des neurones dopaminergiques et de leurs axones. Nos résultats ont permis d'obtenir une quantité énorme d'informations sur l'expression des gènes des souris mâles et femelles ayant subi le CSDS. Dans ce mémoire, il a été présenté quelques analyses montrant les altérations d'expression entre les divers phénotypes, régions et sexes. (Fig 18 à 23). Les analyses faites dans ce mémoire nous permettent d'obtenir des informations de base sur l'effet du CSDS sur la signature transcriptionnelle des neurones dopaminergiques. Des analyses plus avancées utilisant des techniques telles que l'analyse de *rank-rank hypergeometric overlap* (RRHO), l'analyse de connectivité différentielle par module (MDC) et l'analyse par ARACNE (Algorithm for the Reconstruction of Accurate Cellular Networks) sont prévues afin d'obtenir une meilleure compréhension de l'effet du stress sur la signature transcriptionnelle des neurones dopaminergiques.

D'abord, nous avons étudié les gènes dont l'expression était affectée par le CSDS en comparant le transcriptome des souris susceptibles et résilientes. Nos analyses ont montré que les deux phénotypes montraient une signature transcriptionnelle spécifique aux différents phénotypes ainsi qu'une portion de gènes altérés et partagés par les deux phénotypes. Cette analyse nous a permis de révéler que les gènes partagés entre les deux phénotypes sont pour la grande majorité régulés dans la même direction. Les gènes régulés de façon inverse, tel qu'*Azi2*, sont intéressants puisqu'ils pourraient être impliqués dans le phénotype opposé de sociabilité observé chez les souris susceptibles et résilientes. À l'aide des analyses des termes GO, il a été possible de souligner les principaux processus biologiques des gènes impliqués dans la susceptibilité au stress social. Nos résultats montrent que les gènes affectés par le stress sont principalement impliqués dans la régulation de la synapse. Cela suggère que le stress social pourrait causer un déséquilibre de la régulation de l'intégrité synaptique. Hypothétiquement, ces changements d'expression des gènes impliqués dans la synapse pourraient être la cause des changements morphologiques et fonctionnels observés dans ce projet. En addition, le deuxième terme GO le plus

significatif était la *phosphorylation peptidyl-sérine*. Ce terme GO inclut plusieurs gènes impliqués dans la modulation de la phosphorylation des peptidyl-sérines. Plusieurs gènes codant pour les protéines impliquées dans la voie de signalisation ERK font partie de ce terme GO. Les changements observés de la phosphorylation de ERK dans la VTA pourraient être causés par une altération de l'expression des gènes inclus dans ce terme GO. Finalement, les termes *GO migration cellulaire et développement du système nerveux* englobent une multitude de gènes, dont les gènes impliqués dans la guidance et le maintien des axones. Ces résultats suggèrent que le stress social affecte particulièrement l'expression des gènes impliqués dans la signalisation dopaminergique, dans la voie de signalisation ERK ainsi que dans le maintien et la guidance des axones dopaminergiques.

Par la suite, nous avons étudié les gènes affectés par le stress chez les souris susceptibles en comparant les résultats entre les mâles et les femelles. Notre hypothèse était que les gènes affectés par le stress seraient différents entre les deux sexes. Il fut surprenant d'observer que les mâles susceptibles avaient beaucoup plus de gènes différemment exprimés comparés aux souris femelles du même phénotype. Nos résultats bruts ont montré que les changements d'expression des gènes entre les différents groupes de souris mâles avaient moins de variations que les souris femelles. En effet, les groupes de souris femelles montrent une différence plus grande dans les gènes touchés par le stress, ce qui résulte d'une diminution du nombre de gènes dont l'expression est significativement altérée. Malgré cette incertitude dans nos résultats, nos données montrent que les souris mâles et femelles présentent des gènes dont l'expression est altérée spécifiquement au sexe, tout en partageant une portion de gènes différemment exprimés chez les deux sexes. Étonnamment, plusieurs des gènes dont l'expression était affectée dans les deux sexes ont montré une régulation inverse. Bref, l'étude de l'expression des gènes affectés par le stress social spécifique aux sexes pourrait permettre une meilleure compréhension des mécanismes causant les différences de symptômes et de réponse aux traitements entre les hommes et les femmes.

Puis, notre modèle Ribotag nous a permis d'obtenir des informations sur l'effet du stress social sur le transcriptome axonal des neurones dopaminergiques. Notre hypothèse de départ était que le transcriptome axonal des neurones dopaminergiques pourrait être affecté différemment du transcriptome des corps cellulaires situés dans la VTA. Précédemment, quelques études ont montré les différences entre le transcriptome des axones et des corps cellulaires, mais la littérature sur l'effet d'un modèle de dépression sur le transcriptome axonal n'a pas été explorée à ce jour<sup>132</sup>. Notre analyse suggère que les gènes altérés dans la VTA ne sont généralement pas les mêmes que ceux retrouvés dans les axones de ces mêmes neurones situés dans le NAc (Fig. 23). Il serait possible que les gènes altérés dans les axones et les somas soient différents puisqu'ils régulent localement des mécanismes spécifiques à la région du

neurone. Dans le futur, il serait intéressant d'étudier plus en profondeur le rôle du transcriptome axonal dopaminergique dans la prédisposition au stress.

Dans le même ordre d'idée, nous avons présenté quelques gènes pouvant être intéressants à étudier plus en profondeur afin de mieux comprendre l'effet du stress sur le réseau dopaminergique. Puisque nos résultats suggèrent des changements morphologiques dans les axones dopaminergiques, il est intéressant d'utiliser nos listes d'expression différentielle afin de tenter d'expliquer ces changements. C'est pourquoi nous nous sommes davantage intéressés aux gènes impliqués dans la guidance axonale et dans la régulation des axones. Ces gènes altérés par le stress, tels que *Sema5a*, *Sema7a*, *Robo2*, *Efnb2* et *Plxna4*, se présentent comme des cibles de choix afin d'expliquer les changements morphologiques observés dans les axones. Pour la suite de ce projet, il serait intéressant d'aller moduler l'expression de ces gènes, via une approche virale ou transgénique, afin d'observer les effets sur la morphologie axonale et sur le comportement social des souris. Dû au côté unique de notre travail, il est difficile de comparer nos listes de gènes à la littérature. Certains gènes impliqués dans la régulation des axones tels que *Slit3*, *L1cam* et *Cadm1* ont montré leur implication dans la prédisposition au stress<sup>133; 134; 135</sup>. Les gènes *Slit3* et *Cadm1* ne se sont pas montrés significatifs dans nos listes de gènes. Par contre, nous avons observé que *L1cam* était régulé négativement dans la VTA des souris résilientes. *L1cam* serait impliqué dans la résistance au stress, via une régulation négative dans le mPFC et une régulation positive dans le cortex pariéto-occipital<sup>135</sup>. Cependant, il est difficile de comparer nos résultats dus à la spécificité pour la sous-population axonale dopaminergique dans notre recherche. Une étude a montré que le duo Netrin-1/DCC serait affecté spécifiquement dans les neurones dopaminergiques<sup>119</sup>. Nos listes de séquençage ne montrent pas de changement dans l'expression d'ARNm pour ces deux gènes. Cependant, nous avons observé une régulation négative de plusieurs gènes *Unc5* dans les corps cellulaires de la VTA et une régulation négative de *Unc5c* dans les axones dopaminergiques du mPFC et du NAc des souris susceptibles. *Unc5* code pour une protéine impliquée dans la signalisation de la nétrine<sup>136</sup>.

Bref, avec les listes du transcriptome des neurones dopaminergiques, il est possible d'avoir une myriade d'informations sur l'altération des gènes par le CSDS chez les deux sexes. Nous avons concentré notre analyse sur les gènes impliqués dans la guidance axonale et l'extension des axones puisque ces gènes pourraient expliquer les changements morphologiques observés chez les souris susceptibles. Par la suite, il serait intéressant d'analyser les gènes impliqués dans la signalisation dopaminergique. En effet, nous avons observé des changements dans l'expression de pERK dans la VTA et il serait intéressant de comprendre de quels gènes sous-tendent ces altérations de la voie de signalisation ERK. De plus, il serait intéressant d'analyser l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme de la dopamine. En addition, des études ont montré que la cadence de tir des neurones dopaminergiques était affectée par le

CSDS, possiblement via les canaux potassiques<sup>15</sup>. Nos listes ont montré que l'expression d'ARNm était affectée pour plusieurs gènes codant pour des canaux du potassium. De ce fait, il serait aussi intéressant d'étudier l'impact de ces canaux sur la prédisposition au stress. En conclusion, les informations de ces différentes listes de la signature transcriptionnelle des neurones dopaminergiques nous permettront de mieux orienter notre recherche afin d'améliorer nos connaissances sur les mécanismes génétiques impliqués dans la prédisposition au stress.



# Conclusion et perspectives

Premièrement, nous devons caractériser les changements morpho-fonctionnels dans le système dopaminergique induits par le modèle de dépression. Pour ce faire, nous avons montré que le nombre de neurones dopaminergiques n'était pas affecté par le stress. Par la suite, nous avons suggéré que la morphologie des axones dopaminergiques projetant vers le NAc et le mPFC étaient affectés par le stress social. Deuxièmement, nous avons montré que la voie de signalisation ERK est affectée dans la VTA, le NAc et le mPFC après un stress de défaite sociale. Suivant ces résultats, nous nous sommes intéressés à la signature transcriptionnelle des neurones dopaminergiques afin de tenter de comprendre les mécanismes cellulaires régulant les changements morpho-fonctionnels observés chez les mâles et les femelles. Avec la souris *Dat-Ires-Cre-Ribotag*, il a été possible de cartographier les signatures transcriptionnelles pouvant expliquer les différences phénotypiques propres à chaque sexe suivant un stress chronique. Pour la suite de ce projet, il serait intéressant de cibler l'expression de certains gènes cibles via une approche virale ou génétique afin d'évaluer les conséquences morphologiques, fonctionnelles et comportementales de ces modifications. La réalisation de ce projet a permis de définir la contribution fonctionnelle de la sous-population dopaminergique sur la prédisposition à la dépression et d'associer ces effets à des altérations moléculaires et fonctionnelles propres aux mâles et aux femelles. Ultiment, ces connaissances pourraient nous mettre en meilleure position pour développer des approches thérapeutiques plus adaptées au traitement de la dépression chez l'homme et la femme.

# Bibliographie

- <sup>1</sup> BJÖRKLUND, A.; DUNNETT, S. B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. **Trends Neurosci**, v. 30, n. 5, p. 194-202, May 2007. ISSN 0166-2236. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17408759> >.
- <sup>2</sup> ALCARO, A.; HUBER, R.; PANKSEPP, J. Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: an affective neuroethological perspective. **Brain Res Rev**, v. 56, n. 2, p. 283-321, Dec 2007. ISSN 0165-0173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17905440> >.
- <sup>3</sup> LUO X., S.; HUANG J., E. Dopaminergic Neurons and Brain Reward Pathways. **Neurogenesis to Circuit Assembly**, v. 186(3), p. 478-488, 2016.
- <sup>4</sup> IKEMOTO, S. Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. **Brain Res Rev**, v. 56, n. 1, p. 27-78, Nov 2007. ISSN 0165-0173. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17574681> >.
- <sup>5</sup> BEAULIEU, J. M.; GAINETDINOV, R. R. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. **Pharmacol Rev**, v. 63, n. 1, p. 182-217, Mar 2011. ISSN 1521-0081. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21303898> >.
- <sup>6</sup> WEELE, C.; SICILIANO, C.; TYE, K. Dopamine tunes prefrontal outputs to orchestrate aversive processing. **Brain research**, v. 1713, 06/15/2019 2019. ISSN 1872-6240. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih.gov.acces.bibl.ulaval.ca/30513287/> >.
- <sup>7</sup> WEELE, C. M. V.; SICILIANO, C. A.; TYE, K. M. Dopamine tunes prefrontal outputs to orchestrate aversive processing. **Brain Res**, v. 1713, p. 16-31, 06 2019. ISSN 1872-6240. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30513287> >.
- <sup>8</sup> DA CUNHA, C. S., MH. WIETZIKOSKI, S. WIETZIKOSKI, EC. FERRO, MM. KOUZMINE, I. CANTERAS, NS. Place learning strategy of substantia nigra pars compacta-lesioned rats. **Behavioral neuroscience**, v. 120, n. 6, 2006 Dec 2006. ISSN 0735-7044. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih.gov.acces.bibl.ulaval.ca/17201473/> >.
- <sup>9</sup> SCHWARTZKROIN, P. A. **Encyclopedia of Basic Epilepsy Research**. Academic Press: 2009. ISBN 978-0-12-373961-2.
- <sup>10</sup> PURIS, E. et al. L-Type amino acid transporter 1 as a target for drug delivery. **Pharm Res**, v. 37, n. 5, p. 88, May 2020. ISSN 1573-904X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32377929> >.
- <sup>11</sup> KLEIN, M. O. et al. Dopamine: Functions, Signaling, and Association with Neurological Diseases. **Cell Mol Neurobiol**, v. 39, n. 1, p. 31-59, Jan 2019. ISSN 1573-6830. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30446950> >.
- <sup>12</sup> TOSHIHARU, N. et al. Human tyrosine hydroxylase in Parkinson's disease and in related disorders. **Journal of Neural Transmission**, v. 126, n. 4, p. 397-409, 2018-07-11 2018. ISSN 1435-1463. Disponível em: < <https://link-springer-com.acces.bibl.ulaval.ca/article/10.1007/s00702-018-1903-3> >.

- 13 WANG, X. et al. The endogenous substrates of brain CYP2D. **European journal of pharmacology**, v. 724, 02/05/2014 2014. ISSN 1879-0712. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/24374199/> >.
- 14 LIU, C.; KAESER, P. S. Mechanisms and regulation of dopamine release. **Curr Opin Neurobiol**, v. 57, p. 46-53, 08 2019. ISSN 1873-6882. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30769276> >.
- 15 CHAUDHURY, D. et al. Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. **Nature**, v. 493, n. 7433, p. 532-6, Jan 2013. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23235832> >.
- 16 DUNLOP, B. W.; NEMEROFF, C. B. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. **Arch Gen Psychiatry**, v. 64, n. 3, p. 327-37, Mar 2007. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17339521> >.
- 17 EISENHOFER, G.; KOPIN, I. J.; GOLDSTEIN, D. S. Catecholamine metabolism: a contemporary view with implications for physiology and medicine. **Pharmacol Rev**, v. 56, n. 3, p. 331-49, Sep 2004. ISSN 0031-6997. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15317907> >.
- 18 AMIN, F. et al. Assessment of the central dopaminergic index of plasma HVA in schizophrenia. **Schizophr Bull**, v. 21, n. 1, p. 53-66, 1995. ISSN 0586-7614. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7770741> >.
- 19 OGAWA, S.; TSUCHIMINE, S.; KUNUGI, H. Cerebrospinal fluid monoamine metabolite concentrations in depressive disorder: A meta-analysis of historic evidence. **J Psychiatr Res**, v. 105, p. 137-146, 10 2018. ISSN 1879-1379. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30219563> >.
- 20 HASLER, G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? **World Psychiatry**, v. 9, n. 3, p. 155-61, Oct 2010. ISSN 2051-5545. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20975857> >.
- 21 BEAULIEU, J. M.; ESPINOZA, S.; GAINETDINOV, R. R. Dopamine receptors - IUPHAR Review 13. **Br J Pharmacol**, v. 172, n. 1, p. 1-23, Jan 2015. ISSN 1476-5381. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25671228> >.
- 22 JABER, M. et al. Dopamine receptors and brain function. **Neuropharmacology**, v. 35, n. 11, p. 1503-19, 1996. ISSN 0028-3908. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9025098> >.
- 23 BUTINI, S. et al. Polypharmacology of dopamine receptor ligands. **Prog Neurobiol**, v. 142, p. 68-103, 07 2016. ISSN 1873-5118. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27234980> >.
- 24 LEE, S. et al. Dopamine D1 and D2 receptor Co-activation generates a novel phospholipase C-mediated calcium signal. **The Journal of biological chemistry**, v. 279, n. 34, 08/20/2004 2004. ISSN 0021-9258. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/15159403/> >.

- 25 LUTTRELL, L. M.; LEFKOWITZ, R. J. The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. **J Cell Sci**, v. 115, n. Pt 3, p. 455-65, Feb 2002. ISSN 0021-9533. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11861753> >.
- 26 PARMAR, M. S. et al. Role of ERK1, 2, and 5 in dopamine neuron survival during aging. **Neurobiol Aging**, v. 35, n. 3, p. 669-79, Mar 2014. ISSN 1558-1497. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24411019> >.
- 27 CAHILL, E. et al. Convergence of dopamine and glutamate signaling onto striatal ERK activation in response to drugs of abuse. **Front Pharmacol**, v. 4, p. 172, Jan 2014. ISSN 1663-9812. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24409148> >.
- 28 RANGEL-BARAJAS, C.; CORONEL, I.; FLORÁN, B. Dopamine Receptors and Neurodegeneration. **Aging Dis**, v. 6, n. 5, p. 349-68, Sep 2015. ISSN 2152-5250. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26425390> >.
- 29 DI BENEDETTO, B. et al. Acute antidepressant treatment differently modulates ERK/MAPK activation in neurons and astrocytes of the adult mouse prefrontal cortex. **Neuroscience**, v. 232, p. 161-8, Mar 2013. ISSN 1873-7544. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23238574> >.
- 30 LABONTÉ, B. et al. Sex-specific transcriptional signatures in human depression. **Nat Med**, v. 23, n. 9, p. 1102-1111, Sep 2017. ISSN 1546-170X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28825715> >.
- 31 RAI, S. et al. The Role of PI3K/Akt and ERK in Neurodegenerative Disorders. **Neurotoxicity research**, v. 35, n. 3, 2019 Apr 2019. ISSN 1476-3524. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/30707354/> >.
- 32 KIM, E. K.; CHOI, E. J. Compromised MAPK signaling in human diseases: an update. **Arch Toxicol**, v. 89, n. 6, p. 867-82, Jun 2015. ISSN 1432-0738. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25690731> >.
- 33 HOWES, O. M., R. OWEN, MJ. MURRAY, RM. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. **Biological psychiatry**, v. 81, n. 1, 01/01/2017 2017. ISSN 1873-2402. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/27720198/> >.
- 34 VOLKOW, N. M., M. The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. **Cell**, v. 162, n. 4, 08/13/2015 2015. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/26276628/> >.
- 35 DERUBEIS, R. J.; STRUNK, D. R. **The Oxford Handbook of Mood Disorders**. Oxford University Press, 2016.
- 36 THE, T. C. O. N. A. S. O.; ASSOCIATION, A. P. **DIAGNOSTIC AND STATISTICAL**

**MANUAL**

**MENTAL**

**DISORDERS.** AMERICAN PSYCHIATRIC ASSOCIATION MENTAL HOSPITAL SERVICE, 1952.

- 37 ASSOCIATION, A. P. **Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 3rd Edition.** Washington: 1980.
- 38 CANADA, S. **VOTRE SANTÉ ET VOUS VOTRE SANTÉ ET VOUS** 2009.
- 39 WHO. Depression. 2020. Disponível em: < <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression> >. Acesso em: 05/05.
- 40 VERBEEK, E. C. et al. The Genetics of MDD – A Review of Challenges and Opportunities. **Journal of Depression and Anxiety**, 2014.
- 41 SHEILA M, M. K. B. K. A. J., RUSH. STEPHEN, R. WISNIEWSKI. ANDREW, NIERENBERG. G. K. BALASUBRAMANI. LOUISE, RITZ. SUSAN, KORNSTEIN. ELIZABETH, A. YOUNG. MADHUKAR, H. TRIVEDI. Gender Differences in Depression Symptoms in Treatment-Seeking Adults: STAR\*D Confirmatory Analyses. May–Jun 2008 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/pmc/articles/PMC2759282/> >.
- 42 MENA, F.; BENOIT, L. Molecular programs underlying differences in the expression of mood disorders in males and females. **Brain Res**, v. 1719, p. 89-103, 09 2019. ISSN 1872-6240. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31129154> >.
- 43 COHEN, M. L., I. KATZ, R. FRIED, G. POLLACK, S. Low physical activity, fatigue and depression in breast cancer survivors: Moderation by levels of IL-6 and IL-8. **International journal of psychophysiology : official journal of the International Organization of Psychophysiology**, v. 158, 2020 Dec 2020. ISSN 1872-7697. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/33080293/> >.
- 44 KRUSE, J. O., R. HELLEMANN, G. WADE, B. JIANG, J. VASAVADA, MM. BROOKS III, JO. CONGDON, E. ESPINOZA, R. NARR, KL. IRWIN, MR. Inflammation and depression treatment response to electroconvulsive therapy: Sex-specific role of interleukin-8. **Brain, behavior, and immunity**, v. 89, 2020 Oct 2020. ISSN 1090-2139. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/32479994/> >.
- 45 DOMINIKA, B. K., ZBORALSKI. AGATA, ORZECZOWSKA. PIOTR, GAŁECKI. Thyroid hormones association with depression severity and clinical outcome in patients with major depressive disorder. 2014 2014. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/pmc/articles/PMC3968440/> >.
- 46 RINCÓN-CORTÉS, M. G., AA. Sex-Dependent Effects of Stress on Immobility Behavior and VTA Dopamine Neuron Activity: Modulation by Ketamine. **The international journal of neuropsychopharmacology**, v. 20, n. 10, 10/01/2017 2017. ISSN 1469-5111. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/28591782/> >.
- 47 FANG, Y.; WU, Z. Advance in Diagnosis of Depressive Disorder. **Advances in experimental medicine and biology**, v. 1180, 2019 2019. ISSN 0065-2598. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi.nlm.nih.gov.access.bibl.ulaval.ca/31784963/> >.

- 48 KENNEDY, S. H. Core symptoms of major depressive disorder: relevance to diagnosis and treatment. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 10, n. 3, p. 271-7, 2008. ISSN 1294-8322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18979940> >.
- 49 DUVAL, F.; LEBOWITZ, B. D.; MACHER, J. P. Treatments in depression. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 8, n. 2, p. 191-206, 2006. ISSN 1294-8322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16889105> >.
- 50 IONESCU, D. F.; ROSENBAUM, J. F.; ALPERT, J. E. Pharmacological approaches to the challenge of treatment-resistant depression. **Dialogues Clin Neurosci**, v. 17, n. 2, p. 111-26, Jun 2015. ISSN 1958-5969. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26246787> >.
- 51 ARTIGAS, F.; NUTT, D. J.; SHELTON, R. Mechanism of action of antidepressants. **Psychopharmacol Bull**, v. 36 Suppl 2, p. 123-32, 2002. ISSN 0048-5764. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12490828> >.
- 52 BELUJON, P.; GRACE, A. A. Dopamine System Dysregulation in Major Depressive Disorders. **Int J Neuropsychopharmacol**, v. 20, n. 12, p. 1036-1046, 12 2017. ISSN 1469-5111. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29106542> >.
- 53 HOPES\_STANFORD, E. **SSRIs – HOPES Huntington's Disease Information**. MECANISM, S.: hopes\_stanford 2010.
- 54 SULLIVAN, P. F.; NEALE, M. C.; KENDLER, K. S. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. **Am J Psychiatry**, v. 157, n. 10, p. 1552-62, Oct 2000. ISSN 0002-953X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11007705> >.
- 55 WRAY, N. E. A. Genome-wide association analyses identify 44 risk variants and refine the genetic architecture of major depression. **Nature genetics**, v. 50, n. 5, 2018 May 2018. ISSN 1546-1718. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29700475> >.
- 56 LUSCHER, B.; SHEN, Q.; SAHIR, N. The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. **Mol Psychiatry**, v. 16, n. 4, p. 383-406, Apr 2011. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21079608> >.
- 57 HASHIMOTO, K. Emerging role of glutamate in the pathophysiology of major depressive disorder. **Brain Res Rev**, v. 61, n. 2, p. 105-23, Oct 2009. ISSN 1872-6321. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19481572> >.
- 58 KENDELL, S. F.; KRYSTAL, J. H.; SANACORA, G. GABA and glutamate systems as therapeutic targets in depression and mood disorders. **Expert Opin Ther Targets**, v. 9, n. 1, p. 153-68, Feb 2005. ISSN 1744-7631. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15757488> >.
- 59 HASLER, G. et al. Reduced prefrontal glutamate/glutamine and gamma-aminobutyric acid levels in major depression determined using proton magnetic resonance spectroscopy. **Arch Gen Psychiatry**, v. 64, n. 2, p. 193-200, Feb 2007. ISSN 0003-990X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17283286> >.

- 60 TACHÉ, Y. Corticotropin releasing factor receptor antagonists: potential future therapy in gastroenterology? **Gut**, v. 53, n. 7, p. 919-21, Jul 2004. ISSN 0017-5749. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15194633> >.
- 61 KÜNZEL, H. E. et al. Treatment of depression with the CRH-1-receptor antagonist R121919: endocrine changes and side effects. **J Psychiatr Res**, v. 37, n. 6, p. 525-33, 2003 Nov-Dec 2003. ISSN 0022-3956. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14563384> >.
- 62 SHAO, X.; ZHU, G. Associations Among Monoamine Neurotransmitter Pathways, Personality Traits, and Major Depressive Disorder. **Front Psychiatry**, v. 11, p. 381, 2020. ISSN 1664-0640. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32477180> >.
- 63 ARANGO, V. et al. Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. **Neuropsychopharmacology**, v. 25, n. 6, p. 892-903, Dec 2001. ISSN 0893-133X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11750182> >.
- 64 KIM, K. Y. et al. Association of low-dose exposure to persistent organic pollutants with global DNA hypomethylation in healthy Koreans. n. 1552-9924 (Electronic),
- 65 OQUENDO, M. A. et al. Toward a biosignature for suicide. **Am J Psychiatry**, v. 171, n. 12, p. 1259-77, Dec 2014. ISSN 1535-7228. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25263730> >.
- 66 FURLANETTI, L.; COENEN, V.; DÖBRÖSSY, M. Ventral tegmental area dopaminergic lesion-induced depressive phenotype in the rat is reversed by deep brain stimulation of the medial forebrain bundle. **Behavioural brain research**, v. 299, 02/15/2016 2016. ISSN 1872-7549. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/26657994/> >.
- 67 PIZZAGALLI, D. et al. Assessment of Striatal Dopamine Transporter Binding in Individuals With Major Depressive Disorder: In Vivo Positron Emission Tomography and Postmortem Evidence. **JAMA psychiatry**, v. 76, n. 8, 05/01/2019 2019. ISSN 2168-6238. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/31042280/> >.
- 68 OPMEER, E. M.; KORTEKAAS, R.; ALEMAN, A. Depression and the role of genes involved in dopamine metabolism and signalling. **Prog Neurobiol**, v. 92, n. 2, p. 112-33, Oct 2010. ISSN 1873-5118. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20558238> >.
- 69 VASKE, J. et al. The interaction of DRD2 and violent victimization on depression: an analysis by gender and race. **Journal of affective disorders**, v. 112, n. 1-3, 2009 Jan 2009. ISSN 0165-0327. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/18501970/> >.
- 70 VAN DYCK, C. et al. Increased dopamine transporter availability associated with the 9-repeat allele of the SLC6A3 gene. **Journal of nuclear medicine : official publication, Society of Nuclear Medicine**, v. 46, n. 5, 2005 May 2005. ISSN 0161-5505. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/15872345/> >.

- 71 KRISHNAN, V. et al. Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. **Cell**, v. 131, n. 2, 10/19/2007 2007. ISSN 0092-8674. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/17956738/> >.
- 72 QU, Y. et al. Regional differences in dendritic spine density confer resilience to chronic social defeat stress. **Acta Neuropsychiatr**, v. 30, n. 2, p. 117-122, Apr 2018. ISSN 1601-5215. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28566105> >.
- 73 SZCZYPIŃSKI, J. J.; GOLA, M. Dopamine dysregulation hypothesis: the common basis for motivational anhedonia in major depressive disorder and schizophrenia? **Rev Neurosci**, v. 29, n. 7, p. 727-744, 09 2018. ISSN 0334-1763. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29573379> >.
- 74 TRITSCH, N. X.; SABATINI, B. L. Dopaminergic modulation of synaptic transmission in cortex and striatum. **Neuron**, v. 76, n. 1, p. 33-50, Oct 2012. ISSN 1097-4199. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23040805> >.
- 75 J, W. K. et al. Essential Role of Mesolimbic Brain-Derived Neurotrophic Factor in Chronic Social Stress-Induced Depressive Behaviors. **Biological psychiatry**, v. 80, n. 6, 09/15/2016 2016. ISSN 1873-2402. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/26858215/> >.
- 76 CHAUDHURY, D. et al. Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. **Nature**, v. 493, n. 7433, 01/24/2013 2013. ISSN 1476-4687. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/23235832/> >.
- 77 DREVETS, W. C.; PRICE, J. L.; FUREY, M. L. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression. **Brain Struct Funct**, v. 213, n. 1-2, p. 93-118, Sep 2008. ISSN 1863-2653. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18704495> >.
- 78 NUMA, C. et al. Social defeat stress-specific increase in c-Fos expression in the extended amygdala in mice: Involvement of dopamine D1 receptor in the medial prefrontal cortex. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, 11/13/2019 2019. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/31723165/> >.
- 79 SHINOHARA, R. et al. Dopamine D1 receptor subtype mediates acute stress-induced dendritic growth in excitatory neurons of the medial prefrontal cortex and contributes to suppression of stress susceptibility in mice. **Molecular psychiatry**, v. 23, n. 8, 2018 Aug 2018. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/28924188/> >.
- 80 PATTON, M. H.; BIZUP, B. T.; GRACE, A. A. The infralimbic cortex bidirectionally modulates mesolimbic dopamine neuron activity via distinct neural pathways. **J Neurosci**, v. 33, n. 43, p. 16865-73, Oct 2013. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24155293> >.
- 81 NIKULINA, E. et al. Long-term behavioral and neuronal cross-sensitization to amphetamine induced by repeated brief social defeat stress: Fos in the ventral tegmental area and amygdala. **Neuroscience**, v. 123, n. 4, 2004 2004. ISSN 0306-4522. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/14751279/> >.



- 82 HETMAN, M.; GOZDZ, A. Role of extracellular signal regulated kinases 1 and 2 in neuronal survival. **European journal of biochemistry**, v. 271, n. 11, 2004 Jun 2004. ISSN 0014-2956. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15153093> >.
- 83 IÑIGUEZ, S. D. et al. Extracellular signal-regulated kinase-2 within the ventral tegmental area regulates responses to stress. **J Neurosci**, v. 30, n. 22, p. 7652-63, Jun 2010. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20519540> >.
- 84 YAP, J. J. et al. Social defeat stress-induced sensitization and escalated cocaine self-administration: the role of ERK signaling in the rat ventral tegmental area. **Psychopharmacology (Berl)**, v. 232, n. 9, p. 1555-69, May 2015. ISSN 1432-2072. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25373870> >.
- 85 NESTLER, E.; HYMAN, S. Animal models of neuropsychiatric disorders. **Nature Neuroscience**, v. 13, n. 10, p. 1161-1169, 2010-09-27 2010. ISSN 1546-1726/1546-1726. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/nn.2647> >.
- 86 READER, B. F. et al. Peripheral and central effects of repeated social defeat stress: monocyte trafficking, microglial activation, and anxiety. **Neuroscience**, v. 289, p. 429-42, Mar 2015. ISSN 1873-7544. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25596319> >.
- 87 MURTHY, S.; GOULD, E. Early Life Stress in Rodents: Animal Models of Illness or Resilience? **Front Behav Neurosci**, v. 12, p. 157, 2018. ISSN 1662-5153. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30108490> >.
- 88 MÉNARD, C.; HODES, G. E.; RUSSO, S. J. Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies. **Neuroscience**, v. 321, p. 138-162, May 2016. ISSN 1873-7544. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26037806> >.
- 89 SAPOLSKY, R. M.; MEANEY, M. J. Maturation of the adrenocortical stress response: neuroendocrine control mechanisms and the stress hyporesponsive period. **Brain Res**, v. 396, n. 1, p. 64-76, Mar 1986. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3011218> >.
- 90 GARDNER, K. L. et al. Early life experience alters behavior during social defeat: focus on serotonergic systems. **Neuroscience**, v. 136, n. 1, p. 181-91, 2005. ISSN 0306-4522. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16182451> >.
- 91 KUNDAKOVIC, M. et al. Sex-specific and strain-dependent effects of early life adversity on behavioral and epigenetic outcomes. **Frontiers in psychiatry**, v. 4, 08/01/2013 2013. ISSN 1664-0640. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/23914177/> >.
- 92 TSUDA, M.; OGAWA, S. Long-lasting consequences of neonatal maternal separation on social behaviors in ovariectomized female mice. **PLoS one**, v. 7, n. 3, 2012 2012. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/22412981/> >.
- 93 BONDAR, N.; LEPESHKO, A.; RESHETNIKOV, V. Effects of Early-Life Stress on Social and Anxiety-Like Behaviors in Adult Mice: Sex-Specific Effects. **Behavioural neurology**, v. 2018, 01/09/2018 2018. ISSN 1875-8584. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/29619126/> >.

- 94 GOLDEN, S. A. et al. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. **Nat Protoc**, v. 6, n. 8, p. 1183-91, Jul 2011. ISSN 1750-2799. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21799487> >.
- 95 HARRIS, A. Z. et al. A Novel Method for Chronic Social Defeat Stress in Female Mice. **Neuropsychopharmacology**, v. 43, n. 6, p. 1276-1283, 05 2018. ISSN 1740-634X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29090682> >.
- 96 RASBAND, W. S. **ImageJ**. Bethesda, Maryland, USA: U. S. National Institutes of Health 1997-2018.
- 97 TORRES-ESPÍN, A. et al. Neurite-J: an image-J plug-in for axonal growth analysis in organotypic cultures. **J Neurosci Methods**, v. 236, p. 26-39, Oct 2014. ISSN 1872-678X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25124852> >.
- 98 SINGH, S. et al. Acetyl-L-Carnitine via Upregulating Dopamine D1 Receptor and Attenuating Microglial Activation Prevents Neuronal Loss and Improves Memory Functions in Parkinsonian Rats. **Molecular neurobiology**, v. 55, n. 1, 2018 Jan 2018. ISSN 1559-1182. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/27975173/> >.
- 99 DOUCET-BEAUPRÉ, H. et al. Lmx1a and Lmx1b regulate mitochondrial functions and survival of adult midbrain dopaminergic neurons. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 113, n. 30, 07/26/2016 2016. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/27407143/> >.
- 100 NOBILI, A. et al. Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. **Nature communications**, v. 8, 04/03/2017 2017. ISSN 2041-1723. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/28367951/> >.
- 101 GAVET, O.; PINES, J. Progressive activation of CyclinB1-Cdk1 coordinates entry to mitosis. **Dev Cell**, v. 18, n. 4, p. 533-43, Apr 2010. ISSN 1878-1551. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20412769> >.
- 102 MCCLOY, R. A. et al. Partial inhibition of Cdk1 in G2 phase overrides the SAC and decouples mitotic events. **Cell Cycle**, v. 13, n. 9, p. 1400-12, 2014. ISSN 1551-4005. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24626186> >.
- 103 BURGESS, A. et al. Loss of human Greatwall results in G2 arrest and multiple mitotic defects due to deregulation of the cyclin B-Cdc2/PP2A balance. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 107, n. 28, p. 12564-9, Jul 2010. ISSN 1091-6490. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20538976> >.
- 104 MORRA, J. G., SD. CHEER, JF. Neural encoding of psychomotor activation in the nucleus accumbens core, but not the shell, requires cannabinoid receptor signaling. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 30, n. 14, 04/07/2010 2010. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/20371830/> >.

- 105 SHIGEOKA, T. et al. Dynamic Axonal Translation in Developing and Mature Visual Circuits. **Cell**, v. 166, n. 1, 06/30/2016 2016. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/27321671/> >.
- 106 KOPPERS, M. et al. Receptor-specific interactome as a hub for rapid cue-induced selective translation in axons. **eLife**, v. 8, 11/20/2019 2019. ISSN 2050-084X. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/31746735/> >.
- 107 FUJITA, F. et al. Identification of NAP1, a regulatory subunit of IkappaB kinase-related kinases that potentiates NF-kappaB signaling. **Molecular and cellular biology**, v. 23, n. 21, 2003 Nov 2003. ISSN 0270-7306. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/14560022/> >.
- 108 MERLO, E.; FREUDENTHAL, R.; ROMANO, A. The IkappaB kinase inhibitor sulfasalazine impairs long-term memory in the crab Chasmagnathus. **Neuroscience**, v. 112, n. 1, 2002 2002. ISSN 0306-4522. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/12044481/> >.
- 109 OISHI, Y.; LAZARUS, M. The control of sleep and wakefulness by mesolimbic dopamine systems. **Neuroscience research**, v. 118, 2017 May 2017. ISSN 1872-8111. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/28434991/> >.
- 110 AN, N. B., K. AL JOWF, GI. STEINBUSCH, HWM. ROTHERMEL, M. DE NIJS, L. RUTTEN, BPF. Dual-specificity phosphatases in mental and neurological disorders. **Progress in neurobiology**, 09/06/2020 2020. ISSN 1873-5118. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/32905807/> >.
- 111 DURIC, V. B., M. LICZNERSKI, P. SCHMIDT, HD. STOCKMEIER, CA. SIMEN, AA. NEWTON, SS. DUMAN, RS. A negative regulator of MAP kinase causes depressive behavior. **Nature medicine**, v. 16, n. 11, 2010 Nov 2010. ISSN 1546-170X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20953200> >.
- 112 KAIFAN, Z. Y., WANG. TIANDA, FAN. CHENG, ZENG. ZHONG SHENG, SUN. The p21-activated kinases in neural cytoskeletal remodeling and related neurological disorders. **Protein & Cell**, p. 1-20, 2020-12-11 2020. ISSN 1674-8018. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007/s13238-020-00812-9> >.
- 113 ALESSANDRO, P. C., BLOMELEY. EMANUEL, LOPES. SARAH, THRELFELL. ELISA, MERLINI. DENIS, BURDAKOV. STEPHANIE, CRAGG. FRANÇOIS, GUILLEMOT. SIEW-LAN, ANG. Dopamine neuron-derived IGF-1 controls dopamine neuron firing, skill learning, and exploration. 2019-02-26 2019. Disponível em: < <https://www.pnas.org/content/116/9/3817> >.
- 114 BERTRAM, I. et al. Immunohistochemical evidence for impaired neuregulin-1 signaling in the prefrontal cortex in schizophrenia and in unipolar depression. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1096, 2007 Jan 2007. ISSN 0077-8923. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/17405926/> >.
- 115 WEN, Z. et al. Genetic association between NRG1 and schizophrenia, major depressive disorder, bipolar disorder in Han Chinese population. **American Journal of Medical genetics. Part B, Neuropsychiatric Genetics : the Official Publication of the International Society of Psychiatric Genetics**, v. 171B, n. 3, p. 468-478, 2020. ISSN 1552-485X. Disponível em: < <https://europepmc.org/article/med/26888291> >.

- 116 ANDRE, K. et al. BDNF and NRG1 polymorphisms and temperament in selective serotonin reuptake inhibitor-treated patients with major depression. **Acta neuropsychiatrica**, v. 30, n. 3, 2018 Jun 2018. ISSN 1601-5215. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/29310728/> >.
- 117 RAJKOWSKA, G. Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. **Biological psychiatry**, v. 48, n. 8, 10/15/2000 2000. ISSN 0006-3223. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/11063973/> >.
- 118 BERNSTEIN, H. et al. Reduced density of glutamine synthetase immunoreactive astrocytes in different cortical areas in major depression but not in bipolar I disorder. **Frontiers in cellular neuroscience**, v. 9, 08/10/2015 2015. ISSN 1662-5102. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/26321908/> >.
- 119 VOSBERG, D.; LEYTON, M.; FLORES, C. The Netrin-1/DCC guidance system: dopamine pathway maturation and psychiatric disorders emerging in adolescence. **Molecular psychiatry**, v. 25, n. 2, 2020 Feb 2020. ISSN 1476-5578. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/31659271/> >.
- 120 WARD, J. et al. Novel genome-wide associations for anhedonia, genetic correlation with psychiatric disorders, and polygenic association with brain structure. **Translational psychiatry**, v. 9, n. 1, 12/04/2019 2019. ISSN 2158-3188. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/31797917/> >.
- 121 SUGAMA, S. K., Y. Loss of dopaminergic neurons occurs in the ventral tegmental area and hypothalamus of rats following chronic stress: Possible pathogenetic loci for depression involved in Parkinson's disease. **Neuroscience research**, v. 111, 2016 Oct 2016. ISSN 1872-8111. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/27142317/> >.
- 122 ZHUANG, P. et al. Treadmill Exercise Reverses Depression Model-Induced Alteration of Dendritic Spines in the Brain Areas of Mood Circuit. **Frontiers in behavioral neuroscience**, v. 13, 05/03/2019 2019. ISSN 1662-5153. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/31130853/> >.
- 123 BESSA, J. et al. Stress-induced anhedonia is associated with hypertrophy of medium spiny neurons of the nucleus accumbens. **Translational psychiatry**, v. 3, n. 6, 06/04/2013 2013. ISSN 2158-3188. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/23736119/> >.
- 124 MINER, L. et al. Chronic stress increases the plasmalemmal distribution of the norepinephrine transporter and the coexpression of tyrosine hydroxylase in norepinephrine axons in the prefrontal cortex. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 26, n. 5, 02/01/2006 2006. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/16452680/> >.
- 125 MINAE, N. H., JAARO-PELED. STEPHANIE, TANKOU.SAURAV, SESHADRI. TAKATOSHI, HIKIDA. YURIE, MATSUMOTO. NICOLA, G. CASCELLA. SHIN-ICHI, KANO. NORIO, OZAKI. TOSHITAKA, NABESHIMA. AKIRA, SAWA. Adolescent Stress-Induced Epigenetic Control of Dopaminergic Neurons via Glucocorticoids. 2013 Jan 18 2013. Disponível em: < <https://www-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/pmc/articles/PMC3617477/> >.

- 126 RIGA, D. et al. Optogenetic dissection of medial prefrontal cortex circuitry. **Front Syst Neurosci**, v. 8, p. 230, 2014. ISSN 1662-5137. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25538574> >.
- 127 PATRIARCHI, T. C., JR. MERTEN, K. HOWE, MW. MARLEY, A. XIONG, WH. FOLK, RW. BROUSSARD, GJ. LIANG, R. JANG, MJ. ZHONG, H. DOMBECK, D. VON ZASTROW, M. NIMMERJAHN, A. GRADINARU, V. WILLIAMS, JT. TIAN, L. Ultrafast neuronal imaging of dopamine dynamics with designed genetically encoded sensors. **Science (New York, N.Y.)**, v. 360, n. 6396, 06/29/2018 2018. ISSN 1095-9203. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/29853555/> >.
- 128 KALIVAS, P. D., P. Selective activation of dopamine transmission in the shell of the nucleus accumbens by stress. **Brain research**, v. 675, n. 1-2, 03/27/1995 1995. ISSN 0006-8993. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/7796146/> >.
- 129 MUSCHAMP, J. V. T. V., A. PARSEGHIAN, A. GALLO, MS. CHEN, M. NEVE, RL. MELONI, EG. CARLEZON, WA. Activation of CREB in the nucleus accumbens shell produces anhedonia and resistance to extinction of fear in rats. **The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience**, v. 31, n. 8, 02/23/2011 2011. ISSN 1529-2401. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/21414930/> >.
- 130 GAO, X. J. et al. AMPK signaling in the nucleus accumbens core mediates cue-induced reinstatement of cocaine seeking. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 1038, 04 2017. ISSN 2045-2322. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28432301> >.
- 131 WANG, Q.; SHAO, F.; WANG, W. Region-Dependent Alterations in Cognitive Function and ERK1/2 Signaling in the PFC in Rats after Social Defeat Stress. **Neural Plast**, v. 2018, p. 9870985, 2018. ISSN 1687-5443. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29849577> >.
- 132 SHIGEOKA, T. et al. Dynamic Axonal Translation in Developing and Mature Visual Circuits. **Cell**, v. 166, n. 1, p. 181-92, Jun 2016. ISSN 1097-4172. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27321671> >.
- 133 FREI, J. S., ET. SynCAMs - From axon guidance to neurodevelopmental disorders. **Molecular and cellular neurosciences**, v. 81, 2017 Jun 2017. ISSN 1095-9327. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/27594578/> >.
- 134 GLESSNER, J. W., K. SLEIMAN, PM. ZHANG, H. KIM, CE. FLORY, JH. BRADFIELD, JP. IMIELINSKI, M. FRACKELTON, EC. QIU, H. MENTCH, F. GRANT, SF. HAKONARSON, H. Duplication of the SLIT3 locus on 5q35.1 predisposes to major depressive disorder. **PloS one**, v. 5, n. 12, 12/01/2010 2010. ISSN 1932-6203. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/21152026/> >.
- 135 LAIFENFELD, D. K., R. KLEIN, E. BEN-SHACHAR, D. Alterations in cell adhesion molecule L1 and functionally related genes in major depression: a postmortem study. **Biological psychiatry**, v. 57, n. 7, 04/01/2005 2005. ISSN 0006-3223. Disponível em: < <https://pubmed-ncbi-nlm-nih-gov.acces.bibl.ulaval.ca/15820228/> >.

<sup>136</sup> POON, V. Y.; KLASSEN, M. P.; SHEN, K. UNC-6/netrin and its receptor UNC-5 locally exclude presynaptic components from dendrites. **Nature**, v. 455, n. 7213, p. 669-73, Oct 2 2008. ISSN 0028-0836 (Print)1476-4687 (Electronic). Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nature07291> >.