



Effet protecteur du milieu enrichi et de l'exercice physique sur l'intégrité intestinale lors du stress chronique

Mémoire

François Coulombe-Rozon

Maîtrise en sciences cliniques et biomédicales - avec mémoire
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

Effet protecteur du milieu enrichi et de l'exercice physique sur l'intégrité intestinale lors du stress chronique

Mémoire

François Coulombe-Rozon

Sous la direction de :

Caroline Ménard, directrice de recherche

Résumé

Au cours de sa vie, un individu sur cinq sera touché par la dépression. Cette pathologie est la principale cause d'incapacité mondiale. Malgré l'existence de traitements pharmacologiques, 30 à 50 % d'individus déprimés ne répondent pas aux antidépresseurs. Ce faible taux souligne l'importance d'étudier des approches thérapeutiques novatrices qui ciblent les systèmes biologiques comme l'axe intestin-cerveau ou encore l'utilisation de stratégies préventives. Le stress chronique est un contributeur majeur au développement de la dépression et est associé à une activation de la réponse inflammatoire. Cette dernière affecte directement l'intégrité de la barrière intestinale, plus particulièrement la couche de cellules épithéliales interconnectées par les jonctions serrées qui tapissent l'intestin, régulant la perméabilité intestinale.

Pour valider l'efficacité des stratégies préventives et d'étudier les effets du stress chronique sur l'intégrité intestinale, nous utilisons le modèle murin de la défaite sociale qui mime l'intimidation par les pairs. Pendant 10 jours, des souris mâles sont mises en contact avec un agresseur et en contact sensoriel. Ensuite, les sujets passent un test d'interactions sociales pour déterminer le phénotype comportemental face au stress, soit la susceptibilité ou la résilience. Pendant la défaite, elles sont exposées à un environnement enrichi ou de l'exercice physique, qui reproduit les stratégies préventives, favorisant la résilience face au stress. Les tissus intestinaux sont récoltés pour l'analyse transcriptionnelle et morphologique des protéines de jonctions serrées pour vérifier les changements de la barrière intestinale.

Les stratégies préventives augmentent la proportion de souris résilientes. Au sein de cette population, l'expression des protéines de jonction serrée de l'intestin montre une adaptation moléculaire liée à une diminution du stress chronique, ce qui suggère que l'intégrité de la barrière intestinale pourrait jouer un rôle clé dans la réponse au stress. Ces changements physiologiques pourraient prévenir les symptômes dépressifs et favoriser de nouvelles modalités thérapeutiques pour traiter la dépression.

Abstract

Throughout life, one in five individuals will be affected by major depressive disorder (TDM). This disorder is the main cause of disability worldwide. Even though pharmacological treatment is available, only 30 to 50 % of depressed patients completely remit, suggesting that novel therapeutic approach targeting biological systems such as the gut-brain axis or preventive strategies should be studied. Chronic stress is the main contributor to the development of TDM and is associated with activation of inflammatory responses. This in return affects gut barrier (BI) integrity, more specifically the intestinal cell epithelium interconnected by tight junction proteins, regulating gut permeability.

To validate efficacy of preventive strategies and study chronic stress effect on gut barrier integrity, we used a murine model of chronic social defeat stress (CSDS) which mimics intimidation. For 10 days, male mice are put in contact with a novel aggressor and after in sensory contact. After, animals are subjected to the social interaction test to determine behavioral phenotype, either susceptibility or resilient to stress. During the defeat, mice have access to enrich environment (EE) or voluntary wheel running (VWR), which reproduced preventive strategies. Intestinal tissue is collected for transcriptional analysis and morphological evaluation of tight junction protein to study intestinal barrier changes.

Preventive strategies increase resilient mouse population. Expression of tight junction protein in the jejunum show molecular adaptation related a dampened stress response, suggesting that integrity of BI could play a key role in response to chronic stress. These physiological changes could prevent depressive symptoms and may open new alternatives in treatment of depression.

Table des matières

RÉSUMÉ	II
ABSTRACT	III
TABLE DES MATIÈRES	IV
LISTE DES FIGURES	VI
LISTES DES ABRÉVIATIONS, SIGLES, ACRONYMES	VII
REMERCIEMENTS	X
INTRODUCTION	1
1.1 DÉPRESSION	1
1.2 ÉTIOLOGIE	1
1.2.1 Symptômes	1
1.2.2 Diagnostic	2
1.2.3 Traitements actuels	2
1.3 IMPLICATION DU STRESS CHRONIQUE DANS LA PATHOGENÈSE DÉPRESSIVE	4
1.3.1 Réponse physiologique au stress	4
1.3.2 Inflammation	6
1.3.3 Stress chronique	7
1.3.4 Différences individuelles	8
1.4 STRATÉGIES PRÉVENTIVES	9
1.4.1 Hypothèse de l'inoculation	9
1.4.2 Charge allostatique et résilience	10
1.4.3 Statut socio-économique	10
1.4.4 Exercice physique	11
1.5 BARRIÈRE HÉMATOENCÉPHALIQUE	14
1.5.1 Système limbique	14
1.5.2 Fonctionnement et types cellulaires	15
1.5.3 Effet de l'exposition au stress chronique sur la barrière hématoencéphalique	15
1.6 BARRIÈRE INTESTINALE	16
1.6.1 Organisation	16
1.6.2 Composition cellulaire	17
1.6.3 Fonctions	18
1.6.4 Microbiote	19
1.6.5 Protéines jonctions serrées	21
1.6.6 Effet de l'exposition au stress chronique sur la barrière intestinale	24
1.7 MODÈLE ANIMAL DE LA DÉPRESSION	27
1.7.1 Modèle de la défaite sociale	27
1.7.2 Environnement enrichi	29
1.7.3 Activité physique	30
CHAPITRE 1 – RECHERCHE	32
2.1 CONTEXTE	32
2.2 HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS	32
2.3 MATÉRIEL ET MÉTHODES	33
2.3.1 Animaux	33

2.3.2	<i>Modèle de la défaite sociale</i>	33
2.3.3	<i>Test d'interactions sociales</i>	34
2.3.4	<i>Environnement enrichi</i>	35
2.3.5	<i>Exercice physique</i>	35
2.3.6	<i>Collecte de tissus</i>	36
2.3.7	<i>Analyse transcriptionnelle de l'intestin chez la souris soumise à la CSDS</i>	36
2.3.8	<i>Immunohistochimie</i>	37
2.3.9	<i>Analyses statistiques</i>	37
2.4	RÉSULTATS	38
2.4.1	<i>L'environnement enrichi augmente la résilience dans le contexte d'un stress social chronique chez la souris</i>	38
2.4.3	<i>L'activité physique est efficace afin de prévenir l'apparition des comportements de type dépressifs chez la souris ayant subi une défaite sociale chronique</i>	43
2.4.4	<i>La distance parcourue sur les roues d'exercice ne permet pas de prédire la susceptibilité ou la résilience au stress chronique</i>	45
2.4.5	<i>Le stress chronique induit par la CSDS module l'expression transcriptionnelle des protéines de jonctions serrées de la barrière intestinale du jéjunum</i>	46
2.4.6	<i>Le stress chronique module l'intégrité des protéines de jonctions serrées de la barrière intestinale</i>	48
	CHAPITRE 2 – DISCUSSION	50
3.1	ENRICHISSEMENT STRUCTUREL AUGMENTE LA RÉSILIENCE DANS LA CSDS	51
3.2	L'EXERCICE PHYSIQUE AUGMENTE LA RÉSILIENCE DANS LA CSDS	52
3.3	STANDARDISATION DE L'ENVIRONNEMENT ENRICHISSEMENT	53
3.4	ÉTUDE DE LA BARRIÈRE INTESTINALE	53
3.5	DIFFÉRENCES SEXUELLES	55
	CONCLUSION	57
	RÉFÉRENCES	58
	ANNEXE 1 – AMORCE QPCR	82
	ANNEXE 2 – DÉTAIL DE L'ENVIRONNEMENT ENRICHISSEMENT	83
	ANNEXE 3 – DÉTAIL DE L'EXERCICE PHYSIQUE	84

Liste des figures

Figure 1. Rôles émotionnels reliés aux monoamines.	4
Figure 2. L'axe intestin-cerveau dans la réponse physiologique au stress.	5
Figure 3. L'exercice physique permet des adaptations physiologiques qui ont un potentiel antidépresseur. ...	14
Figure 4. Système limbique et régions impliquées dans les comportements dépressifs.	15
Figure 5. Organisation anatomique de l'intestin grêle.	17
Figure 6. Les jonctions serrées permettent le bon maintien de la barrière intestinale.	22
Figure 7. Effet du stress chronique sur la barrière intestinale.	27
Figure 8. Modèle de la défaite sociale et test d'interactions sociales.	35
Figure 9. L'enrichissement structurel promeut la résilience au stress chronique.	40
Figure 10. L'habituation à la roue d'exercice physique diminue la disparité des résultats inter-groupe.	42
Figure 11. L'activité physique volontaire promeut la résilience au stress chronique.	44
Figure 12. La distance moyenne parcourue ne prédit pas le phénotype comportemental dans la CSDS.	45
Figure 13. Le stress chronique induit par la CSDS module l'expression transcriptionnelle des protéines de jonctions serrées de la barrière intestinale du jéjunum.	47
Figure 14. Protéines de jonction serrées en immunofluorescence dans une crypte du jéjunum d'une souris ayant reçu de l'enrichissement structurel.	49

Listes des abréviations, sigles, acronymes

ACTH	: adrénocorticotrophine
AMY	: amygdale
APC	: cellules présentatrices d'antigènes
B6	: souris mâles C57BL/6
BDNF	: <i>brain derived neurotrophic factor</i>
BHE	: barrière hématoencéphalique
CTRL	: souris contrôle, souris non-stressée
CD-1	: mâle reproducteurs retraités/agresseurs
CSDS	: modèle de la défaite sociale
CLDN	: claudines
CRP	: <i>C-reactive protein</i>
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
DSM	: manuel diagnostique des troubles mentaux
EE	: environnement enrichi/enrichissement structurel
FABP2	: fatty acid-binding-protein
GC	: glucocorticoïdes
GIT	: tractus gastro-intestinal
GR	: récepteurs à glucocorticoïdes
GPA	: glande pituitaire antérieure
HIPP	: hippocampe
HPA:	hypothalamo-pituitaire-adrénalien
HSF-1	: <i>heat shock factor 1</i>
HSP	: protéines chaperonnes de choc thermique
HYP	: hypothalamus
IEC	: cellules épithéliales intestinales
IFN- γ	: interféron gamma
Ig	: immunoglobuline
KO	: knock-out
LPS	: lipopolysaccharides
MAOI	: inhibiteurs de la monoamine-oxydase
Marvdeld2	: tricelluline

MDCK	: Madin-Darby canine kidney cells
MMP3	: métalloprotéinase-3
MLCK	: <i>Myosin light-chain kinase</i>
NAc	: noyau accumbens
OCLN	: occludine
PFC	: cortex préfrontal
PKC	: protéine kinase C
PTSD	: stress post-traumatique
Ratio SI	: ratio d'interactions sociale
RES/res	: résilient
ROS	: espèces réactives de l'oxygène
SFCA	: acide gras à chaîne courte
SES	: statut socio-économique
SNA	: système nerveux autonome
SNC	: système nerveux central
SNÉ	: système nerveux entérique
SNPS	: système nerveux parasympathique
SNS	: système nerveux sympathique
SS/ss	: susceptible au stress
SSRI	: inhibiteur de capture de la sérotonine
TEER	: résistance transépithéliale
TDM	: trouble dépressif majeur
TJ	: jonctions serrées, <i>tight junction</i>
UC	: colite ulcéreuse
VWR	: exercice physique volontaire sur roue
ZO	: zonula occludens, <i>tight-junction protein</i>

“Mille milliards

De vieux amis

Microbiotes

Microbiomes

Un cerveau dans mon ventre

Qui pense pour moi ?”

Vieux amis - Jimmy Hunt

Remerciements

Je suis reconnaissant envers les gens qui ont été impliqués de près ou de loin dans ce projet de maîtrise.

Merci, Caroline, pour ton mentorat, ton esprit vif et le maintien d'un lieu où il fait bon de se développer autant qu'en scientifique que sur le plan personnel. Merci, Manon, de m'avoir rassuré tout au long du parcours. Ta répartie et ta confiance se sont transférée jusqu'à moi et m'ont permis de m'ancrer dans ma pratique. La gratitude que je porte pour vous est infinitésimale.

J'aimerais souligner le dévouement de l'équipe de l'animalerie. Plus particulièrement, Louisabelle, France et Mireille, qui ont effectué un travail de maître dans le maintien des expériences, dans les processus administratifs et dans le temps que vous avez pris pour me transmettre vos connaissances.

Merci aux étudiants du laboratoire Ménard, grâce à vous mon expérience en tant que chercheur s'est vu grandement bonifiée. Des conversations philosophiques aux délires sur les expériences dont on voudrait être sujets, vous avez su mettre du soleil dans mes journées. Je suis reconnaissant pour le temps que vous avez pris pour me faire part de votre sagesse personnelle et je vous souhaite tout le meilleur du monde.

À ma famille, aux Baes, Lydia, Adia, Hubert, Annie, Tom, Laurent et Gabrielle, merci d'avoir pris le temps d'écouter mes longs monologues sur la santé mentale et la barrière intestinale. Vos commentaires, vos questions et nos discussions m'ont permis de grandir et de me remettre en question à plusieurs étapes. Ce processus aurait été vain sans votre compagnie et votre support. Ça fait du bien de savoir que j'étais bien entouré et en sécurité tout ce temps.

Introduction

1.1 Dépression

Bien avant notre temps, la dépression était caractérisée sous d'autres termes. Chez les Grecs, sous la plume de Polybe, un disciple d'Hippocrate, on qualifiait déjà la bile noire comme étant représentatrice du tempérament mélancolique¹. Chez les Perses, la mélancolie et le phrénite, le sentiment physique d'inflammation, étaient déjà bien caractérisés². Le mal-être a souvent été une maladie qui était attribuée à la folie, et donc le fardeau revenait à l'individu plutôt qu'à une conséquence biopsychosociale³. Un peu plus près de nous, les travaux de Freud et Meyer ont permis de mieux cerner les critères diagnostiques de la dépression. Freud a relié l'idée que la mélancolie provenait de la perte d'un objet aimé et que les conséquences affectaient profondément la psyché⁴. Meyer pour sa part utilisait une approche biosociale pour déterminer que la dépression provenait plutôt d'un trouble à part entière de la mélancolie et que celle-ci devrait être différenciée pour faciliter son diagnostic⁵. En 1980, le manuel diagnostique des troubles mentaux (DSM-III) se verra bonifier de critères diagnostiques du trouble dépressif majeur (TDM). Ceci permettra une meilleure prise en charge des patients atteints de la dépression et facilitera la déconstruction du stigmatisme associé à la dépression.

De nos jours, la dépression est définie comme un trouble de santé mentale qui diminue considérablement le fonctionnement d'un individu. Au cours de sa vie, une personne sur cinq dans le monde souffrira du trouble dépressif majeur⁶. Au Canada, la prévalence annuelle d'être touché par un événement dépressif est de 5,4%⁷. D'autre part, 11% des hommes et 16% des femmes sont à risque de souffrir de dépression au cours de sa vie⁷. Récemment, l'OMS a décrété qu'elle était la principale cause d'incapacité mondiale et que plus de 300 millions d'individus en sont affectés^{6,8}.

1.2 Étiologie

1.2.1 Symptômes

Le trouble dépressif majeur se caractérise par de la tristesse sévère, la perte de plaisir et/ou d'intérêt, la dévalorisation de soi, l'irritabilité, l'idéation suicidaire, la fluctuation de l'appétit et le sommeil dérangé⁹. Les causes biologiques et psychosociales de la dépression sont hétérogènes. Du point de vue biologique : la génétique, la déplétion de neurotransmetteurs, la suractivation de l'axe hypothalamo-pituitaire-adrénalien (HPA), des dysfonctions immunologiques, la perte de volume de l'hippocampe ou la perturbation des cycles du sommeil¹⁰. Du côté psychosocial, les volets cognitifs, psychodynamiques et l'environnement dans lequel l'individu évolue sont des éléments d'importance. Par exemple, une vision négative de soi-même, une estime de soi diminuée, des problèmes d'attachement et l'effet de l'environnement sur le développement psychosocial sont des variables à

prendre en compte¹¹. Lorsqu'une personne subit du stress de façon prolongée elle sera alors plus susceptible à développer un comportement dépressif¹².

Plusieurs facteurs de risques sont impliqués dans la prévalence du TDM. D'emblée, les femmes ont 2 à 3 fois plus de chance de développer le TDM⁶. Ensuite, l'impact de l'historique familial, comme la présence de TDM, les tentatives de suicide, les suicides et l'abus de substance chez la parenté contribuent à la prévalence⁶. Puis, les expériences du passé comme l'abus et la négligence influencent les traits de personnalité et les perceptions. Finalement, les stressors de la vie quotidienne comme le travail, les finances, le statut socio-économique, le groupe d'appartenance et de support ont leur apport dans le développement TDM¹³.

1.2.2 Diagnostic

Le diagnostic du trouble dépressif majeur se fait par l'évaluation de la sévérité des symptômes dépressifs par les critères diagnostiques du DSM-V et par l'évaluation du degré de fonctionnement ainsi que la détresse anxieuse par le questionnaire sur la santé du patient (QSP-9) par le médecin traitant. En soi, le DSM-V a défini des critères qui permettent de diagnostiquer un trouble dépressif. Le premier critère est rempli s'il y a la présence d'au moins 5 symptômes suivants pendant deux semaines consécutives : l'humeur dépressive et/ou une perte d'intérêt dans les activités du quotidien, une perte ou un gain de poids significatif, une diminution de la qualité du sommeil, une agitation ou une lassitude du point de vue psychomoteur, la perte d'énergie, le sentiment d'être inutile, la perte de concentration et la récurrence d'idéation suicidaire. Le deuxième critère stipule que les symptômes doivent causer une détresse clinique significative ou une dysfonction sociale et/ou occupationnelle. Les trois autres critères vérifient que le trouble mental n'est pas dû à une autre problématique comme la consommation de drogue, la schizophrénie ou la bipolarité⁹.

1.2.3 Traitements actuels

Les traitements actuels sont diversifiés et peuvent être introduits en prévention ou en réaction à l'apparition du trouble dépressif. Dans la prévention, un environnement favorable, la méditation pleine-conscience et l'augmentation de l'activité physique peuvent avoir des effets protecteurs¹⁴⁻¹⁶. Ensuite, en première ligne réactive le patient peut avoir accès à une prescription de la médication et à la psychothérapie pour diminuer les symptômes dépressifs et travailler sur la reconstruction de ses schèmes mentaux. Dans les cas plus sévères, l'intervention d'un psychiatre peut permettre la modulation des doses médicamenteuses ou encore d'effectuer des techniques de stimulation du cerveau qui sont encore en phase expérimentale.

L'administration chronique d'antidépresseurs repose sur l'hypothèse du déséquilibre monoaminergique. Celle-ci stipule que la pathophysiologie de la dépression est liée à un déséquilibre des neurotransmetteurs liés à trois systèmes chimiques d'intérêt dans le cerveau : la norépinéphrine, la dopamine et la sérotonine (**fig. 1**)¹⁷. La norépinéphrine (et l'épinéphrine) est liée aux retards psychomoteurs comme l'effet léthargique ou la fatigue intense ressentie chez les patients dépressifs¹⁸. La baisse de concentration dopaminergique est plutôt liée à l'anhédonie, soit la perte de plaisir et de motivation et la capacité à rechercher des expériences qui mènent au plaisir^{19,20}. La sérotonine est impliquée dans la gestion des émotions et la régulation des fonctions limbiques et plus particulièrement des émotions tristes²¹. À ce jour, trois classes d'antidépresseurs sont utilisées: les inhibiteurs de la monoamine-oxydase (MAOI), les antidépresseurs tricycliques et les inhibiteurs de recapture. Les deux premiers ont été utilisés pour favoriser la production de norépinéphrine ce qui a eu pour effet d'augmenter les concentrations d'épinéphrine et permettre une réduction des symptômes dépressifs²². Toutefois, leur utilisation mène à des effets secondaires sévères comme la perte d'appétit, une perte de libido et des problèmes de sommeil. En parallèle, la découverte des inhibiteurs de capture de la sérotonine (SSRI) a permis d'établir une troisième classe d'antidépresseurs. Les SSRI se lient aux transporteurs pour empêcher la recapture de la sérotonine, ce qui fait qu'elle reste plus longtemps dans la fente synaptique et augmenter son efficacité à moduler l'activité du neurone récepteur. Il est à noter que l'effet neurologique des antidépresseurs est presque instantané, toutefois l'amélioration de l'humeur dépressive prend plusieurs semaines avant d'être observable chez les patients traités et comporte des effets secondaires comme la dysfonction sexuelle, la somnolence et le gain de poids²³.

Toutefois, on note que près de 50% des patients déprimés ne répondent peu ou sont résistants aux traitements par les antidépresseurs et que seul 30 à 35% des adultes dépressifs subissent une rémission avec les approches thérapeutiques, laissant environ deux tiers des gens dépressifs avec un trouble mental qui n'est pas traité adéquatement²⁴⁻²⁶. Ceci indique que l'utilisation de questionnaire et la prescription de médicaments basés sur l'hypothèse monoaminergique ne permettent pas le traitement de l'entièreté du désordre mental. En bref, la dépression s'inscrit dans un éventail beaucoup plus large qui nécessite une meilleure compréhension des systèmes biologiques et de l'utilisation de stratégies préventives qui pourraient mitiger les implications physiopathologiques de la dépression²².

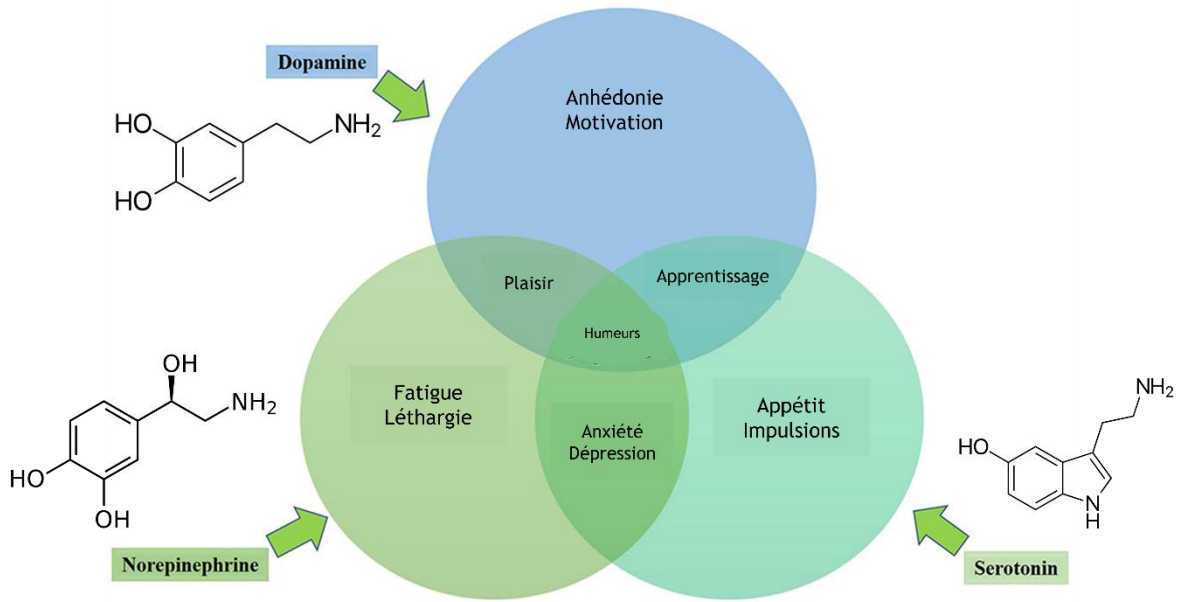


Figure 1. Rôles émotionnels reliés aux monoamines.

Les neurotransmetteurs sont associés à des humeurs spécifiques dans la littérature moderne. Les traitements actuels font intervenir le balancement de ces monoamines dans un objectif de rétablir les humeurs. Adapté de Liu et al., 2018²⁷.

1.3 Implication du stress chronique dans la pathogenèse dépressive

1.3.1 Réponse physiologique au stress

Dans les dernières années, une panoplie d'évidences pointe vers un lien entre stress chronique, la réponse immunitaire dérégulée et la dépression qui est mieux caractérisée^{26,28-30}. Bien avant l'anthropocène, la réponse au stress était nécessaire pour survivre en nature. Ce mécanisme s'est vu conservé au sein de l'évolution puisqu'il a permis à nos ancêtres de répondre à des agresseurs ou encore de se mettre à l'abri en cas de blessure³¹. Le stress est une réponse à l'environnement qui permet une adaptation neuronale, moléculaire et humorale dans le but de s'adapter et de l'outrepasser. La réponse au stress fait intervenir le système nerveux autonome (SNA) et l'axe HPA. Le SNA constitué du système nerveux sympathique et parasympathique qui active les fonctions cardiovasculaires, les organes viscéraux et la médulla surrénale³². Cette dernière est responsable du relâchement de l'épinéphrine dans la circulation qui permet la mobilisation des systèmes biologiques et d'activer la réponse fuite ou combat³³. Dans l'axe HPA, l'hypothalamus reçoit principalement les signaux afférents du nerf vague et communique avec la glande pituitaire antérieure (GPA) par l'intermédiaire d'hormones (**fig. 2**)³². Lorsqu'il y a un stresser, l'hypothalamus relâche la corticotrophine (CRH) qui stimule production de l'adrénocorticotrophine (ACTH) dans la GPA. L'ACTH est relâchée dans la circulation jusqu'au cortex des glandes surrénales qui relâche les glucocorticoïdes (GC). Les glucocorticoïdes sont des composés stéroïdiques qui ont pour rôle de

mobiliser l'énergie disponible et d'inhiber les fonctions immunes³⁴. Un GC bien connu chez l'humain est le cortisol. Les GC relâchés dans la circulation inhibent la réponse inflammatoire par trois mécanismes distincts. Premièrement, quand les récepteurs à glucocorticoïdes (GR) reçoivent leur ligand, les GC, ils s'activent et le GR subit un changement de conformation³⁵. Ce dernier permet la translocation du cytoplasme vers le noyau de la cellule et les GR peuvent se lier aux séquences promotrice de gènes pro-inflammatoire et inhiber leur expression³⁶. Deuxièmement, l'activation des GR mène à l'induction de gènes anti-inflammatoires qui inhibe le facteur nucléaire kappa-B (NF- κ B), un facteur de transcription, et bloque sa cascade inflammatoire³⁵. Troisièmement, NF- κ B et AP-1, des facteur de transcription, ont un effet antagoniste qui inhibe les interactions protéine-protéine³⁴. Lorsque le corps s'adapte au stress ou à son environnement, les GC produisent une rétro-inhibition de la production de CRH et d'ACTH ce qui permet de terminer la réponse au stress.

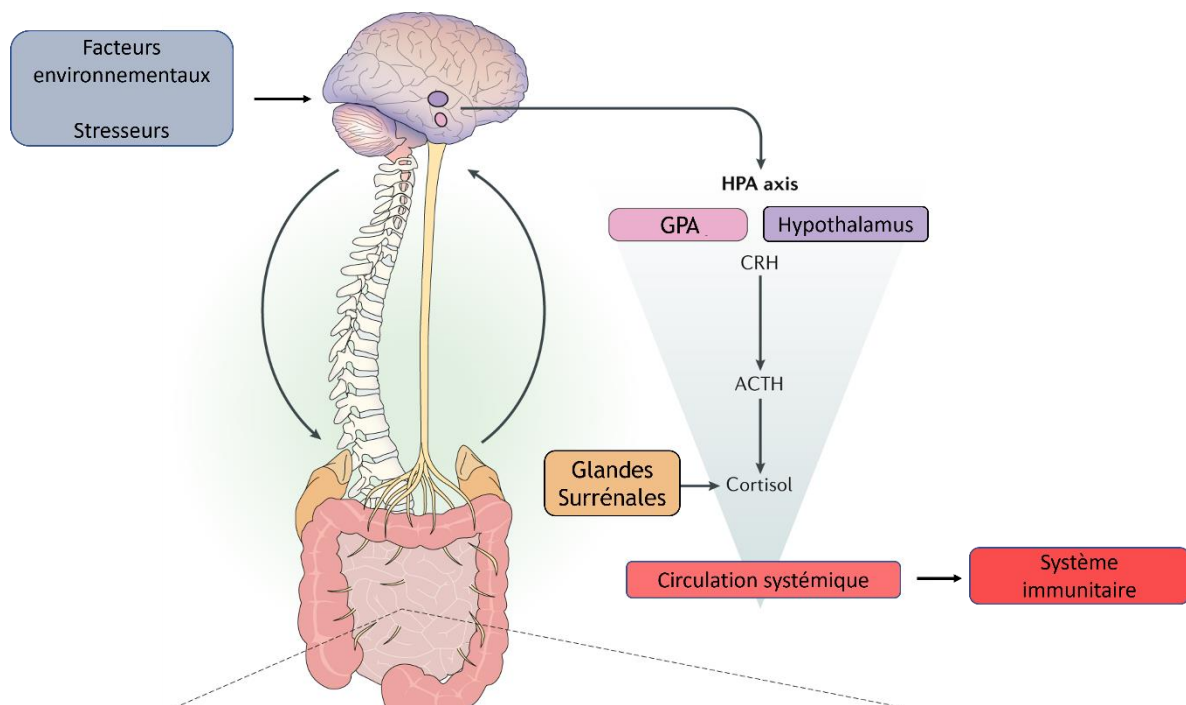


Figure 2. L'axe intestin-cerveau dans la réponse physiologique au stress.

Les éléments externes à l'individu comme les facteurs environnementaux et les stressors de la vie quotidienne influencent l'axe HPA, la production de glucocorticoïdes et le système immunitaire. Les stressors communiquent par les afférences vagales jusqu'à l'hypothalamus qui relâche des hormones (CRH, ACTH) qui activent la glande pituitaire antérieure (GPA). L'ACTH se lie aux glandes surrénales permet le relâchement des glucocorticoïdes, comme le cortisol, dans la circulation systémique. Adapté de Morais et al., 2021³¹.

1.3.2 Inflammation

D'autre part, les stressseurs externes sont reconnus pour activer le système immunitaire, la réponse inflammatoire et la production de cytokines pro-inflammatoires (**fig. 2**)⁸. De façon générale, la réponse immunitaire est importante pour contrer les agressions de l'environnement extérieur au corps comme les pathogènes ou encore les dommages cellulaires. Le système immunitaire est composé du système inné et du système adaptatif. L'immunité innée représente les premières lignes de défense de l'organisme. On le reconnaît par les barrières physiques comme les muqueuses, par les barrières chimiques comme le faible pH et la présence de mucus, et par la série de cellules immunitaires hématopoïétiques comme les granulocytes, les monocytes, les cellules dendritiques et les neutrophiles qui dérivent de la moelle osseuse³⁷. Ces cellules possèdent des récepteurs qui permettent de détecter les pathogènes ou les dommages cellulaires. L'activation du bras cellulaire de l'immunité innée mène à une réponse rapide qui stimule la sécrétion de médiateurs inflammatoires qui permettent le recrutement de cellules immunitaires au site d'infection ou de dommage et le relâchement subséquent de signaux d'alarme, des cytokines pro-inflammatoires, par les macrophages et cellules dendritiques³⁸. Lorsque la réponse innée n'est pas spécifique pour éliminer la cause de la réponse inflammatoire, l'immunité adaptative entre en jeu. Cette dernière est assurée par les lymphocytes T et B qui produisent une réponse adaptée à l'agent pathogène qui affecte l'organisme. L'immunité cellulaire est assurée par les lymphocytes T auxiliaires et cytotoxiques qui permettent le recrutement efficace d'effecteurs au site d'infection par la sécrétion de cytokines, la sélection de la réponse adéquate au site d'infection et la formation d'un regroupement de cellules mémoires dans le cas d'une réinfection. L'immunité humorale, exercée par l'intermédiaire d'anticorps, est médiée par les lymphocytes B qui produisent une cascade d'antigène neutralisant les envahisseurs, leur opsonisation subséquente et la production de cellules mémoires qui permet une réponse adaptative efficace en cas de réinfection. Dans le contexte de la prise de parole en public, Woody et al. ont montré qu'une réduction dans le rythme vagal par la diminution de la fréquence respiratoire, était associée avec une augmentation de cytokines proinflammatoires comme TNF- α et l'IL-6³⁹. Ainsi, l'activité du nerf vague pourrait être en cause dans la résolution du stress. Une fois que le stimulus négatif est éliminé ou que la résolution du stress a lieu, l'inflammation entre dans une phase de résolution caractérisée par la diminution de l'influx des neutrophiles, l'efférocytose (apoptose et phagocytose) par les macrophages et le changement du phénotype des macrophages vers la production de cytokines anti-inflammatoires comme l'IL-10, TGF- β et les médiateurs spécialisés dans la résolution de l'inflammation⁴⁰.

1.3.3 Stress chronique

La coordination réciproque du SNA, de l'axe HPA et du système immunitaire pour répondre au stress et maintenir l'homéostasie physiologique est primordiale. La perte de coordination entre ces systèmes tend à modifier le milieu interne et à favoriser la dérégulation des cloisons qui les séparent, soit la barrière hématoencéphalique et la barrière intestinale. Les réponses inadaptées aux stimuli de l'environnement accaparent une grande partie de l'énergie de l'individu; lorsqu'un nouveau stressor apparaît dans l'environnement, l'individu n'est plus en mesure de surpasser l'adversité. La perte de synchronicité mène à l'induction des comportements associés au trouble dépressif.

Il est reconnu qu'à long terme, le stress chronique est le principal facteur de risque environnemental au développement du TDM. Chez 20 à 25% des gens qui subissent un événement stressant majeur, comme l'accompagnement d'un proche en phase terminale, une relation de couple tumultueuse ou une difficulté à trouver un emploi vont développer des symptômes dépressifs^{41,42}. Le stress chronique engendré par le mode de vie moderne en réponse aux divers défis sociaux, symboliques et imaginés se traduit en une suractivation de la réponse immunitaire et de la réponse de fuite ou combat³⁵. Celles-ci suscitent les mêmes voies d'activation que la réponse au stress, en menant à une production accrue de glucocorticoïde mobilisant l'énergie disponible et à la production accrue de cytokines pro-inflammatoires. Plus précisément, le stress chronique mène à la résistance aux GC, par la diminution de la contrainte régulatoire de l'activité inflammatoire médiée par les GR. Ce mécanisme réduit la sensibilité des cellules immunitaires pour compenser la sécrétion persistante dans le temps et mène l'activité immunitaire dans un régime qui n'est pas contrôlé^{42,43}. D'autre part, le stress chronique étant perçu comme un agresseur mobilise le système d'immunité innée et stimule la prolifération de monocytes et neutrophiles dans la circulation²⁸. Les souris susceptibles au stress sont portées à développer une résistance aux GC, qui génèrent la production de cellules immunitaires à partir de la moelle épinière, ce qui générerait plus de cellules immunitaires dans la circulation³⁸. Ginhoux et Jung ont montré qu'en réponse au stress, les neutrophiles et les monocytes Ly6C^{hi} en provenance des cellules hématopoïétiques augmentent en nombre et atteignent rapidement la circulation systémique. Une fois recruté dans les tissus, les Ly6C^{hi} agissent pour augmenter l'expression de la réponse inflammatoire ou la résoudre^{28,44}. Les cytokines pro-inflammatoires circulantes comme IL-1 β et l'IL-6 atteignent le SNC par la voie neuronale via le nerf vague ou par la voie humorale en traversant la BHE³⁸. À long terme, la présence de cytokines constitue un risque pour la pathogenèse de la dépression et la récurrence des comportements dépressifs⁸. Finalement, le stress chronique représente des facteurs de risque dans le développement de maladies chroniques comme l'asthme, l'obésité, la douleur chronique, les syndromes métaboliques, les troubles cardiovasculaires et neurodégénératifs²⁶.

Cette charge délétère représente un fardeau considérable sur le corps et l'esprit de l'individu et mène au développement de la vulnérabilité et un risque accru des troubles neuropsychiatriques.

1.3.4 Différences individuelles

Dans les années 90, Smith dénote qu'une étude où des volontaires ont reçu de l'interferon alpha (IFN- α), une cytokine produite par les monocytes et les macrophages, induisant des symptômes similaires à ceux observés chez les patients du TDM⁴⁵. Cette évidence le mène à proposer l'hypothèse des macrophages, une alternative à l'hypothèse monoaminergique. Dans une étude menée sur 22 contrôles sains et 109 patients dépressifs, les observations pointent vers une corrélation positive entre le nombre de leucocytes, monocytes et neutrophiles et la sévérité des symptômes dépressifs observés⁴⁶. D'autre part, une méta-analyse sur les cytokines présentes chez les patients atteints de TDM montre une augmentation de l'IL-6, de TNF- α , du récepteur de l'IL-12 soluble, de CCL3, de l'IL-13, IL-18 et le récepteur 2 de TNF- α et une diminution de l'INF- γ ⁴⁷. Plus récemment, on note aussi des différences individuelles dans les cytokines pro-inflammatoires présentes dans la périphérie chez les patients dépressifs comme l'IL-6. L'IL-6 favorise l'activation des lymphocytes T et B menant à une condition d'inflammation chronique. De plus, elle active la voie JAK/STAT ou la voie MAPKKK qui sont des facteurs de transcription de cytokines pro-inflammatoires⁴⁸.

À long terme, la suractivation du système immunitaire mène à une variété de réponses qui ne sont pas adaptée et qui varient entre les individus⁴⁹. En soi, cette réponse permet de dire qu'il existe une variabilité physiologique individuelle sur le plan de l'immunité. Les différences individuelles pourraient donc servir à prédire la susceptibilité ou la résilience au stress. Par exemple, Hodes et al., ont remplacé le système immunitaire périphérique chez des souris KO pour l'IL-6 (IL-6^{-/-}) n'ayant jamais vécu de stress par celui d'animaux ayant subi la CSDS. Leur résultat montre que la réduction de l'effet de l'IL-6 dans la périphérie permet d'augmenter le phénotype résilient au stress chronique⁵⁰. Plus récemment, les travaux de la Dre Ménard ont montré la perte d'intégrité de la BHE et une perméabilité accrue des cytokines pro-inflammatoires chez les animaux présentant de la susceptibilité au stress social⁵¹. Dans ce même contexte, Dudek et al., ont montré que la cascade de signalisation de TNF- α /NF- κ B et une hausse de la modulation épigénétique de Hdac1 sont liées à la susceptibilité au stress chez les souris et le TDM chez l'humain⁵². En contrepartie, la régulation épigénétique permissive de la CLDN5 par le facteur de transcription Foxo1 favoriserait la résilience et que les données sur des sujets humains corroborent dans ce même sens⁵².

1.4 Stratégies préventives

Pour arriver à diminuer l'effet du stress chronique et le développement de symptômes dépressifs, il est primordial d'agir en amont des variables qui exercent une influence sur le mode de vie et le comportement. L'utilisation des médicaments permet d'offrir une opportunité aux gens atteints de TDM de pouvoir puiser dans leur réserve énergétique ou varier leurs schèmes mentaux habituels pour permettre de diminuer la limitation motivationnelle qui entrave le sentiment de plaisir ou les schèmes positifs. Toutefois, le faible taux de rémission par l'utilisation des antidépresseurs montre que les stratégies préventives seraient une stratégie alternative intéressante pour diminuer à la symptomatologie dépressive. L'état végétatif et les symptômes dépressifs induits par le stress chronique peuvent être renversés en agissant en amont des variables qui exercent une influence sur le mode de vie et les comportements. D'une part, l'accès à un statut socio-économique soutenu permet de créer des contextes positifs où l'individu peut se sentir en sécurité, se développer et s'épanouir⁵³. D'autre part, l'introduction ou l'augmentation de la fréquence d'activité physique induit une augmentation de la norépinéphrine qui génère le relâchement subséquent de la dopamine et de la sérotonine; ces neurotransmetteurs sont reconnus pour avoir un impact sur le sentiment de bien-être et de la motivation⁵⁴. Ces deux interventions thérapeutiques auront pour effet de mitiger les effets délétères des troubles neurobiologiques induits par le stress chronique et augmenter le temps de vie en santé.

1.4.1 Hypothèse de l'inoculation

Les stratégies préventives permettent de préparer l'individu à développer des comportements adéquats face à l'adversité^{55,56}. Celle-ci se constitue des stressors de la vie courante qui peuvent prendre diverses formes comme un statut socio-économique moindre, l'isolement sociale (tant en jeune âge qu'en fin de vie) ou encore le diagnostic d'une maladie grave. Selon leur nature et leur gravité, ces stressors créent des réactions internes subjectives à l'individu comme le stress, l'anxiété, la dépression ou encore des réponses physiologiques comme les symptômes végétatifs ou l'hyperactivité. L'exposition à l'adversité est reconnue comme une manière de s'accoutumer et ainsi d'offrir un mécanisme de protection à divers stressors⁴¹. Un courant relativement récent propose l'hypothèse de l'inoculation. Celle-ci repose sur l'inoculation à un stressor donné dans le but d'avoir une portée protectrice lors de la réexposition à un stressor de même nature. Il est montré que les adultes qui sont exposés à des stressors liés à l'emploi dès l'adolescence sont moins prônes à risque de développer des effets négatifs sur leur santé comparativement à des adultes qui subissent le stress occupationnel à l'âge adulte⁵⁷. D'autre part, les individus qui apprennent à se débrouiller face à l'adversité à l'adolescence montrent qu'ils peuvent s'adapter et conserver une meilleure santé mentale

en plus de faire face à des diagnostics de maladies sévères, des deuils ou des accidents majeurs à l'âge adulte⁵⁸. Il faut toutefois souligner que l'inoculation à un stressor n'est pas simplement une question d'exposition, mais aussi une résolution adéquate et adaptée au contexte. Un stressor trop sévère en début de vie mène au développement de la vulnérabilité au stress sur le long terme. Pour qu'elle soit fonctionnelle, l'inoculation devrait être occasionnée par des stressors qui sont surmontables.

1.4.2 Charge allostatique et résilience

Sous-jacent à l'hypothèse de l'inoculation, la charge allostatique se définit comme le processus de retour d'un système dynamique à son point initial suite à un défi⁵⁹. Le corps humain est composé d'une grande diversité de mécanismes allostatiques qui permettent la conservation des systèmes et de l'individu. Cette charge allostatique représente le coût pour permettre la conservation et il peut prendre une forme énergétique, de fluctuation de la concentration ionique ou encore dans le renouvellement de protéines (*turnover*). Dans le contexte du système limbique, la charge allostatique prend la forme de la charge cognitive qui constitue la capacité à mobiliser des ressources mentales pour accomplir une tâche⁵⁹. Chaque système régulateur est dynamique et évolue pour permettre une charge allostatique donnée, toutefois il est possible d'entrer dans une surcharge allostatique où la demande du système dépasse sa capacité. Si cette surcharge perdure ou elle n'est pas résolue adéquatement, c'est à ce moment que les symptômes pathologiques de troubles comme le PTSD, le TDM, la dépendance ou les troubles anxieux font leur apparition⁵⁸.

La résilience, concept principalement tiré des études des matériaux, est une caractéristique physique d'un matériel à pouvoir reprendre sa forme initiale suite à une contrainte⁶⁰. Au fil des années, les chercheurs ont remarqué que des individus subissant un même stress chronique n'avaient pas nécessairement la même réponse émotionnelle et physiologique, ce qui les a portés à intégrer ce terme à leur vocabulaire^{61,62}. Certains individus présentent une charge allostatique adaptative à certains stressors, nommée résilience, tandis que certains individus présentent un comportement inadapté, nommée susceptibilité. En prenant en considération l'impact de la génétique et de l'environnement, les différences individuelles pourraient expliquer la trajectoire déterminant quel phénotype est le plus probable d'apparaître chez un individu donné en fonction de la modulation émotionnelle et physiologique⁵⁰.

1.4.3 Statut socio-économique

Le statut socio-économique (SES) est déterminé par le niveau de revenu, de richesses possédées, de scolarité et du prestige d'une personne⁶³. L'individu ayant un SES élevé possède plus de ressources et ainsi de possibilité de mettre en place des stratégies pour diminuer l'influence des stressors de la vie courante. Lopez et al. ont mesuré la mortalité, l'incidence, la prévalence et la limitation induite

ajustées en fonction des années de vie pour déterminer le poids associé à diverses maladies non transmissibles. Autant dans les pays à revenu élevé que dans les pays à faible et moyen revenu, le TDM se trouve dans les maladies qui réduisent le temps de vie et la qualité de vie. De plus, le temps de vie est significativement plus affecté dans les pays à faible revenu, ce qui indique qu'un faible SES affecte directement la longévité, la disponibilité et la qualité des soins offerts ainsi que l'accès à une qualité de vie^{64,65}.

En relation à l'inflammation, un faible SES représente une forme de stress chronique. Chez des sujets à faible SES, il est montré que le compte relatif et absolu de monocytes circulants est plus élevé que chez les sujets au SES élevé²⁸. De plus, la population de monocytes inflammatoires et la présence d'un profil transcriptionnel de type β -adrénergique qui promouvait la myélopoïèse, incluant l'induction de la formation de monocytes, a également été observée⁶⁶. Ce qui indique que le faible SES influence le maintien d'une réponse inflammatoire de bas grade, une observation récurrente dans la pathophysiologie du TDM. Du côté de la physiologie de l'intestin, dans une étude menée sur 15 000 australiens adultes, il est noté que plus le SES diminuait plus la prévalence de symptômes gastro-intestinaux augmentait⁶⁷. D'autre part, Sanna et al. montrent que le TDM et le trouble d'anxiété généralisés sont présents chez les hommes souffrant de reflux gastro-œsophagien, connu pour diminuer la qualité de vie, pointant vers une motilité accrue de l'estomac dans des contextes de stress chronique^{68,69}.

1.4.4 Exercice physique

L'exercice physique est une intervention tant physiologique que comportementale bénéfique sur plusieurs systèmes du corps (**fig. 3**). L'effort physique exercé par l'individu permet d'améliorer son bien-être et sa santé physique, cardiovasculaire et métabolique⁷⁰. Parmi les multiples avantages, on note des adaptations systémiques comme la réduction de masse grasse corporelle, une meilleure sensibilité à l'insuline, une augmentation de la durée de vie par l'amélioration des fonctions endothéliales qui favorise un meilleur contrôle de la perfusion et de la BHE, une réponse immunitaire améliorée et finalement une diminution des symptômes dépressifs⁷¹⁻⁷³. L'introduction de l'activité physique, d'au moins 150 minutes par semaine, permet de diminuer significativement les maladies contractées avec l'âge et l'inactivité physique telles que le diabète de type II, les maladies cardiovasculaires, l'obésité et les accidents vasculaires cérébraux⁷⁴. L'inactivité physique, provoquée par les symptômes dépressifs comme la perte de motivation, la lassitude psychomotrice et la perte d'énergie, montre la relation sédentaire qui existe au sein de la pathologie du TDM^{75,76}.

De manière générale, l'introduction ou l'augmentation de la fréquence de l'activité physique à un rôle protecteur contre la dépression et permet de réduire les symptômes dépressifs⁵⁵. En 1969, Morgan

observe chez des patients atteints de TDM internés en institut psychiatrique que ceux qui étaient inactifs présentaient plus de symptômes dépressifs que leurs homologues physiquement actifs⁷⁷. Ensuite, une étude comparant l'effet de l'exercice physique, de la sertraline, un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine, ou de la combinaison des deux, montre un effet thérapeutique similaire des traitements 4 mois après le début de l'étude. À 10 mois, le groupe ayant maintenu l'exercice physique présentait un plus faible taux de rechute que le groupe ayant seulement accès à la médication⁷⁸. En contrepartie, une méta-analyse menée par Krogh montre que l'exercice physique aurait un effet bénéfique à court terme sur les symptômes dépressifs, mais les évidences ne corroborent pas cette mesure une fois passé 10 semaines d'intervention. Ainsi, Krogh conserve une certaine réserve à la prescription de l'exercice physique pour mitiger les effets du TDM⁷⁹. Plus récemment, les conclusions de Josefsson pointent vers l'idée que l'exercice physique comme traitement du TDM aurait un effet modéré à large (**fig. 3**)¹⁴. En fait, selon la nature de l'individu à traiter, il est important d'adapter un programme d'exercice en fonction de ses limitations et de ses besoins, soulignant l'importance des facteurs interindividuels dans la prévention du TDM par l'exercice physique.

Au niveau physiologique, l'exercice représente un stresser (**fig. 3**). Il agit en perturbant l'équilibre homéostatique par l'induction d'une détresse respiratoire, un débalancement énergétique, la déshydratation, de la douleur viscérale et/ou somatique, de l'inflammation et une modulation des stimuli externes^{80,81}. Ces sensations sont captées par le système limbique, le tronc cérébral et l'hypothalamus qui sont les mêmes systèmes impliqués dans la réponse au stress chronique. En fonction de la durée de l'intensité de l'effort physique accompli, le corps cherchera à rétablir l'équilibre dynamique en adaptant une réponse appropriée⁸². Les GC produits par l'activation de l'axe HPA vont mobiliser les réserves de glucose pour permettre au corps de maintenir l'effort physique et limiter l'activation de l'inflammation par les mécanismes décrits récemment.

Au final, l'individu sait que l'activité est limitée dans le temps et qu'elle est gérable ce qui en fait une situation adaptative contrôlée qui permet le développement d'une charge allostatique tant physique que mentale. La conséquence bénéfique émotionnelle prend deux formes, soit l'euphorie induite par l'exercice (couramment nommée *runner's high*), qui est un sentiment intense et éphémère de sensation de bien-être, ou encore une amélioration de l'humeur à long terme (**fig. 3**)⁸³. L'effet thérapeutique de l'exercice physique est attribué aux endorphines, soit les catécholamines et aux opioïdes endogènes. Toutefois, plus récemment, des concentrations élevées d'anandamide ont été retrouvées chez les gens pratiquant l'activité physique régulière⁸⁴. Ce composé pourrait être le principal effecteur du système endocannabinoïde induisant la plasticité neuronale qui sera le

mécanisme qui expliquerait les bienfaits émotionnels associés l'exercice^{84,85}. Celle-ci est induite par l'augmentation de neurotrophines comme le *brain derived neurotrophic factor* (BDNF) qui régule la neurogenèse, renforce la différenciation et la survie neuronale et favorise une meilleure transmission synaptique et potentialisation à long terme. Plus concrètement, l'ajout d'activité physique chez des adultes permet l'augmentation du volume de l'hippocampe et confère l'intégrité de la matière blanche^{86,87}. Dans le contexte du PFC, la neuroplasticité permettrait de développer et de consolider des comportements adaptés aux situations et ainsi réduire les perceptions négatives⁸⁸.

L'exercice physique induit l'hyperthermie favorisant la dérégulation des protéines de jonctions serrées (**fig. 3**). Pour répondre à ce stress, les protéines chaperonnes de choc thermique (HSP) sont recrutées pour augmenter la tolérance physiologique d'une cellule pour subvenir à ce stress potentiellement létal. Par exemple, la production du *heat shock factor 1* (*Hsf1*) un facteur de transcription qui se lie au promoteur de *l'Olc*, permet l'augmentation de son expression afin de maintenir l'intégrité de la barrière intestinale⁸⁹. De plus, dans des cellules rénales (Madin-Darby canine kidney cells, MDCK) subissant un traitement thermique, la diminution de la concentration d'AGP2, une HSP, mène au délai du recrutement de ZO-1, ZO-2, ZO-3 et d'OCLN, ce qui entraîne un retard dans l'efficacité de la fonction barrière de l'intestin⁹⁰. L'exercice physique modéré permet de moduler la diversification du microbiote intestinal en augmentant la diversité de bactéries qui offre une protection contre la dysbiose⁹¹. D'autre part, le stress exercé par l'activité physique produit des neurotransmetteurs qui altèrent la motilité et la perméabilité intestinale^{92,93}. L'activité physique intense induit l'hyperactivité de l'axe HPA et la dysfonction vagale qui promeut l'hypoperfusion de la circulation splanchnique afin de redistribuer adéquatement le sang dans les muscles sollicités^{80,81,94}. D'autre part, elle peut mener à un bris de l'intégrité des protéines de jonctions serrées, ce qui entraîne l'augmentation de la perméabilité intestinale et l'infiltration subséquente d'endotoxines^{81,95}. La réduction du débit sanguin mène à la concentration des médiateurs inflammatoires. Ceux-ci vont agir sur la membrane basolatérale et activer le relâchement de cytokine pro-inflammatoire par les cellules immunitaires^{82,96}. Ainsi, l'activité physique doit être adaptée au contexte pour favoriser des améliorations positives sur l'intégrité de la barrière intestinale pour représenter une stratégie préventive.

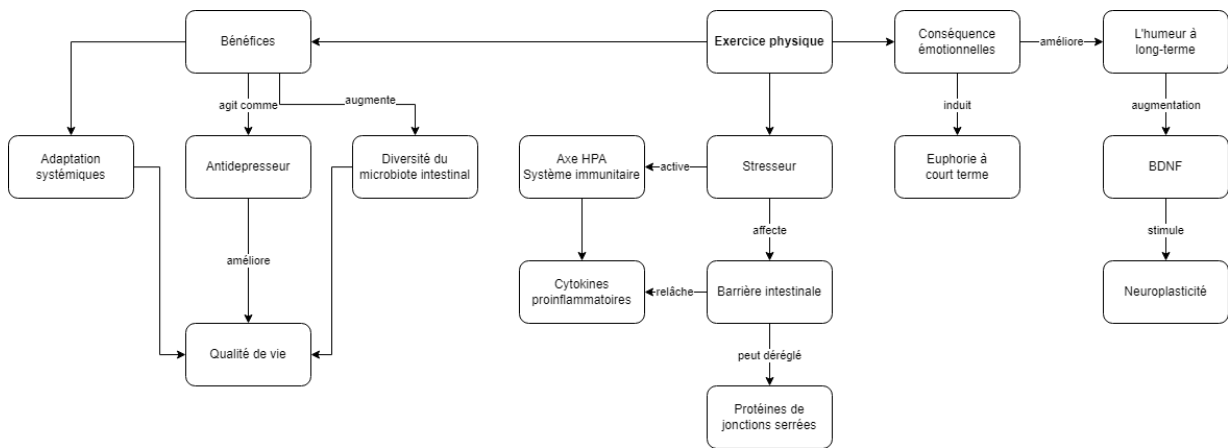


Figure 3. L'exercice physique permet des adaptations physiologiques qui ont un potentiel antidépresseur.

1.5 Barrière hématoencéphalique

1.5.1 Système limbique

Puisque les émotions négatives vécues sont au cœur de la symptomatologie dépressive, l'étude du système limbique et des régions impliquées dans la régulation des émotions est primordiale (**fig 4**). Dans les régions supérieures, le cortex préfrontal (PFC) module les comportements sociaux, les fonctions exécutives et la prise de décision. L'hippocampe (HIP) pour sa part sert à la formation de mémoire à long terme et le traitement de l'information spatiale. On leur associe les symptômes de la perte de concentration, le sentiment d'impuissance, de culpabilité et de l'idéation suicidaire⁹⁷. Dans le striatum, le noyau accumbens (NAc) coordonne les réponses associées à la récompense et l'amygdale (AMY) assiste la formation de mémoires associées aux stimuli aversifs⁹⁷. Les symptômes dépressifs associés à ces régions sont l'anhédonie, l'anxiété et la perte de motivation. Au niveau central, l'hypothalamus (HYP) est un rhéostat des fonctions basales comme la régulation du sommeil, de l'appétit et de l'énergie.

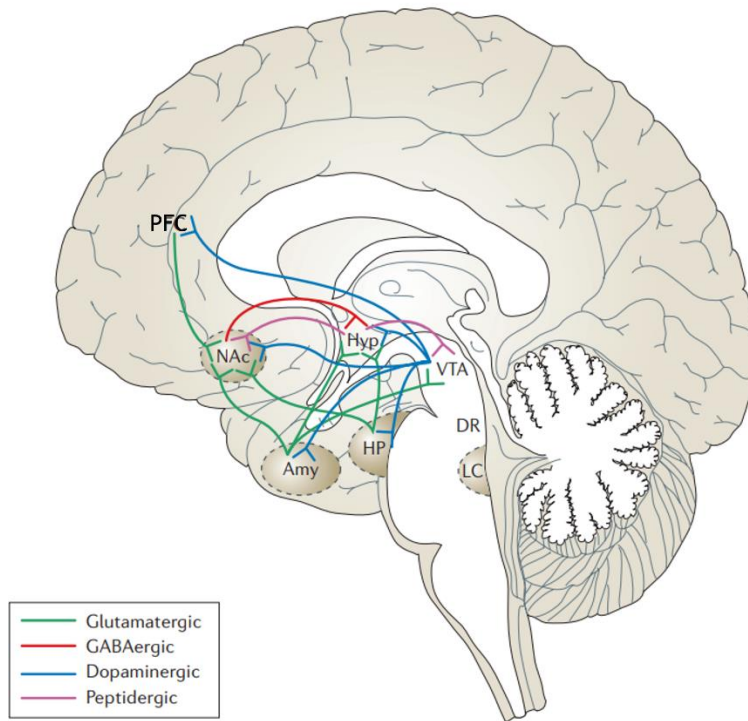


Figure 4. Système limbique et régions impliquées dans les comportements dépressifs.

PFC : cortex préfrontal; NAc : nucleus accumbens; Amy : amygdale; Hyp : hypothalamus; HP : hippocampe. Adapté de Berton et Nestler, 2006⁹⁸.

1.5.2 Fonctionnement et types cellulaires

La vascularisation de l'encéphale est cruciale au bon maintien des fonctions physiologiques. La barrière hématoencéphalique (BHE), constituée par les vaisseaux sanguins et autres types de cellules gliales, sépare le système nerveux central (SNC) des tissus périphériques⁹⁹. Sa fonction principale est de réguler les échanges moléculaires et ioniques entre le cerveau et le sang et inversement. Ce système dynamique permet le bon maintien de l'homéostasie du SNC et il limite le passage de médiateurs inflammatoire comme les pathogènes, les toxines et les cellules immunitaires⁹⁹. Sa structure complexe est composée des cellules endothéliales, des péricytes, des muscles lisses vasculaires, d'astrocytes, des microglies et des neurones^{99,100}. Les interactions entre ces composantes constituent l'unité neurovasculaire où chaque type cellulaire contribue au bon maintien de la BHE par un apport sanguin suffisant pour maintenir l'activation neuronale¹⁰¹. La fonction barrière associée à la BHE est due aux jonctions serrées des cellules endothéliales de l'unité neurovasculaire qui permettent l'homéostasie⁹⁹.

1.5.3 Effet de l'exposition au stress chronique sur la barrière hématoencéphalique

Le stress chronique influence profondément l'homéostasie de la BHE par l'axe HPA et l'inflammation. Ces systèmes affectent différemment les individus susceptibles ou résilients au stress chronique. Les GC présent dans la circulation systémique passent facilement la BHE et va se lier aux

récepteurs stéroïdiques qui ont fortement exprimées dans les régions limbiques du cerveau¹⁰². Ces récepteurs activent des facteurs de transcription qui modulent le réseau neuronal et les systèmes endocriniens qui permettent une adaptation au stress. Les cytokines pro-inflammatoires ont un effet sur la régulation des neurones et de la circuiterie du cerveau. Elles jouent un rôle d'inhibition de la synthèse de neurotransmetteurs ou le blocage de certains sites de liaison¹⁰³⁻¹⁰⁶. La communication étroite entre le cerveau et le système immunitaire se fait par l'entremise de la BHE. En fonction des signaux reçus, les cellules gliales responsables de l'immunité du cerveau, comme les astrocytes, les microglies et les oligodendrocytes, vont s'engager et nettoyer l'espace synaptique¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. Par exemple, l'hyperréactivité des astrocytes par les cytokines mène à des changements de morphologie qui affectent directement la fonction et la perméabilité de la BHE¹¹⁰⁻¹¹³. La perte d'étanchéité de la barrière hématoencéphalique via la diminution de l'expression de CLDN5 mène à l'infiltration accrue des signaux inflammatoires et cause une immunomodulation qui atteint le SNC, ce qui en retour active les cellules de l'unité neurovasculaire vers un profil proinflammatoire et induit des altérations dans l'environnement extracellulaire de l'encéphale ce qui module les connexions neuronales et favorise le développement des comportements menant aux désordres mentaux^{29,52,114-118}.

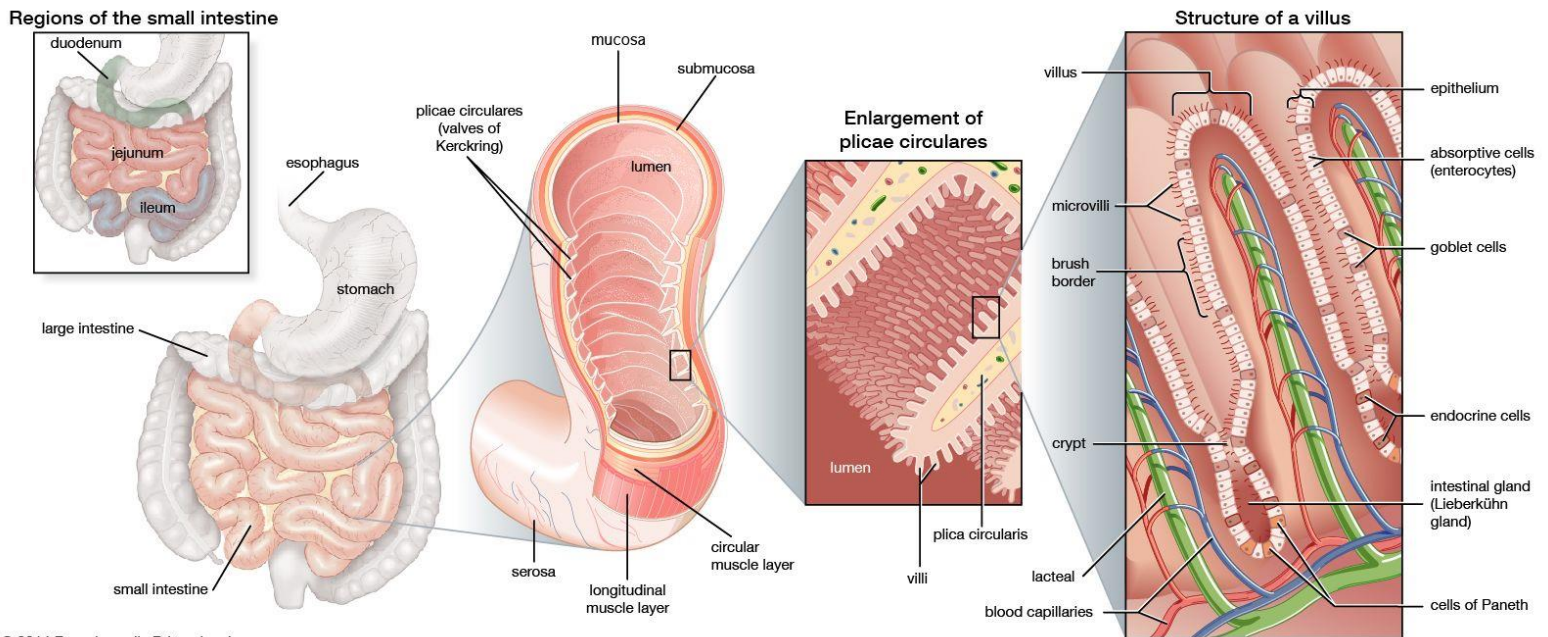
1.6 Barrière intestinale

La barrière intestinale est le point de convergence de la réponse immunitaire, du microbiote intestinal, des efférences neuronales, de la signalisation bidirectionnelle de l'axe intestin-cerveau. Le stress chronique peut donc moduler la motilité et la perméabilité intestinale ce qui influence l'homéostasie du corps¹¹⁹.

1.6.1 Organisation

La barrière intestinale se trouve au cœur de l'appareil digestif (**fig. 5**). Ce dernier se compose de divers organes successifs régulés par le système endocrinien qui ont pour fonction de digérer et d'assimiler les nutriments et de protéger l'organisme contre les envahisseurs. L'intestin grêle fait de 3 à 4 mètres de long et de 2 à 4 centimètres de diamètre ce qui équivaut à une surface anatomique de 0,5m²¹²⁰. Des replis, des villosités et des microvillosités augmentent la surface anatomique à environ 300m²¹²⁰. Il se décompose en trois sections, soit le duodénum, le jéjunum et l'iléon. Le duodénum neutralise le pH acide en provenance de l'estomac, mélange les enzymes pancréatiques et la bile, continue la digestion mécanique initiée par l'estomac et entame l'absorption de l'eau des électrolytes et des nutriments¹²⁰. Le jéjunum, hautement vascularisé, favorise l'absorption des divers macronutriments tels que les glucides, les gras, les protéines, les vitamines et minéraux¹²⁰. L'iléon continue l'absorption et renvoie les sels biliaires et la vitamine B12 dans la circulation¹²⁰.

L'organisation anatomique est constituée de quatre couches : la muqueuse, la sous-muqueuse, la musculuse et la séreuse. La muqueuse est composée d'une couche de cellules épithéliales, du tissu conjonctif (lamina propria) et de la couche musculuse (*muscularis mucosae*). La section apicale des replis de l'épithélium forme les villosités, tandis que les sections qui se renfoncent dans la section basale constituent les cryptes. La sous-muqueuse contient du tissu conjonctif fibroélastique qui contient les vaisseaux sanguins et lymphatiques, le lacis de fibres nerveuses formant le plexus de Meissner et les plaques de Peyer qui sont des agrégats de follicules lymphatiques qui contiennent les précurseurs des lymphocytes B/T. La musculuse joue un rôle capital dans la motilité et le mélange des aliments ingérés. Au niveau de la couche interne dans le plexus de Meissner, les muscles sont orientés en cercle et ils exécutent les fonctions de sécrétion et d'absorption. Dans la couche externe, au sein du plexus myentérique de Auerbach, les muscles lisses sont orientés en longitudinal et facilitent la contraction péristaltique. Le système nerveux entérique module l'activité contractile des deux plexus en fonction des afférences viscérales. La séreuse, la section la plus externe, est une couche de cellules mésoépithéliales qui entoure le jéjunum et l'iléon et permet un attachement solide au péritoine viscéral.



© 2014 Encyclopædia Britannica, Inc.

Figure 5. Organisation anatomique de l'intestin grêle.

Tiré de l'encyclopédie Britannica (lien consulté le 12 décembre 2022 : <https://www.britannica.com/science/ulcerative-colitis#/media/1/549336/107046>)

1.6.2 Composition cellulaire

Une variété de cellules occupe la monocouche de cellules épithéliales intestinales (IEC). Elles peuvent être classées entre les cellules absorbantes et les cellules sécrétrices¹²¹. Le premier groupe est constitué des entérocytes, le type cellulaire le plus abondant, qui possède des microvillosités à son

apex pour faciliter le transport des nutriments jusqu'à l'épithélium basal pour la circulation. Le second groupe est constitué de cellules entéroendocrines qui sécrètent des hormones qui coordonnent la digestion. Les cellules caliciformes (Goblet) sécrètent du mucus, un polymère hautement glycosylé, qui permet de retenir le contenu luminal. Les cellules Paneth se trouvent à la base des cryptes et sécrètent des peptides antimicrobiens comme les α -défensines qui ont un effet additif à l'immunité. Les cellules en brosse (Tuft), possèdent des microvillosités plus longues et servent de senseur mécanique aux envahisseurs de type parasitique. Les mastocytes sont retrouvés dans les follicules associés à l'épithélium qui surplombe les plaques de Peyer et les tissus gastro-intestinaux associés aux lymphoïdes. Cette structure membranaire facilite la présentation d'antigènes aux cellules dendritiques, macrophages et lymphocytes qui font partie du système immunitaire. D'autre part, les mastocytes sont à proximité de l'environnement externe et possèdent des GR, qui suite à leur activation sécrètent des médiateurs inflammatoires comme l'histamine et la prostaglandine qui ont pour effet d'augmenter la perméabilité intestinale¹²².

1.6.3 Fonctions

L'intestin joue donc le rôle de quatre barrières fonctionnelles. D'une part, les microorganismes commensaux présents dans le mucus constituent la barrière microbiologique³⁷. La monocouche de cellules épithéliales liées entre elles par les protéines de jonctions serrées constitue la barrière physique³⁷. L'ensemble des cellules du système immunitaire et la présence de sites d'induction, les follicules, permettent d'établir une barrière immunologique³⁷. Le faible pH (entre 1-2), des enzymes pancréatiques et des peptides antimicrobiens produits par les cellules épithéliales constituent la barrière chimique³⁷.

L'axe intestin-cerveau est constitué du système nerveux central (SNC), des systèmes neuroendocrines et immunitaires, des voies sympathiques et parasympathiques du système nerveux autonome (SNA), du système nerveux entérique et du microbiote intestinal¹²³. Des neurones senseurs vagues et spinaux parsèment la paroi intestinale jusque dans la musculature et l'épithélium pour faciliter le transfert d'information entre le SNC et le SNA. Les fibres vagues innervent le plexus myentérique du tube digestif¹²⁰. Les fibres vagues adrénériques et cholinériques au sein de l'épithélium forment un réseau dense composé de neurones efférents, de neurones afférents et de cellules gliales entériques¹²⁰. Le SNA se sous-divise en trois sections; le système nerveux sympathique (SNS), parasympathique (SNPS) et entérique (SNÉ). Le SNS est constitué de neurones noradrénériques et le SNPS est constitué de neurones cholinériques. Le SNÉ se ramifie dans les plexus de Meissner et d'Auerbach pour faciliter leurs activités contractiles respectives. Les ganglions neuronaux s'anastomosent en plexus qui au sein de la muqueuse forment des réseaux neuronaux qui entrent en contact avec les

cellules présentatrices d'antigène (APC)¹²⁴. Ceci permet la transmission de l'information environnementale comme la présence d'envahisseurs, des changements dans le débit sanguin ou d'eau et la quantité d'électrolytes. Finalement, un réseau important de cellules gliales entériques permet la maintenance du tractus gastro-intestinale par l'expression et le traitement spécifique de neurotransmetteurs ou de neuropeptides comme l'acétylcholine (ACh), l'épinéphrine, l'adénosine triphosphate (ATP), l'oxyde nitreux (NO), le peptide vasoactif intestinal (VIP), le neuropeptide Y et la substance P^{125,126}.

Deux voies de communication forment le réseau de signalisation bidirectionnel entre le SNC et l'intestin. On dénote la voie sanguine/humorale et la voie neuronale. La voie humorale utilise la circulation systémique pour favoriser l'échange d'hormones, de facteurs, de métabolites et de médiateur inflammatoires provenant de l'intestin. Ceux-ci peuvent se retrouver dans la périphérie et peuvent affecter les cellules gliales entériques et celles du SNC¹²⁷. Par exemple, via la stimulation par les LPS, les cellules gliales entériques adoptent un profil pro-inflammatoire caractérisé par l'expression accrue de l'IL-1 β , IL-6 et l'IFN- γ ¹²⁸. En addition, l'activation de l'axe HPA par le stress tend à l'augmentation des GC dans la circulation et favorise la modulation de la fonction intestinale¹²⁹. En conséquence, les GC augmentent l'apoptose des cellules lymphoïdes, ce qui réduit le nombre de plasmocytes qui produisent des IgA neutralisants¹³⁰. De plus, les GC vont modifier l'expression des protéines de jonctions serrées, ce qui augmente la perméabilité intestinale et tend vers la translocation bactérienne. Cette dernière est reconnue pour favoriser une réponse pro-inflammatoire¹³¹. Ensuite, la voie neuronale est médiée par les afférences vagues et les ganglions dorsaux de la base et active les neurones du SNC reliées à l'axe HPA dans le but de favoriser les réflexes de digestion comme la contraction et la motilité, percevoir les stimuli aversifs et stimuler les cellules enteroendocrines qui sécrètent des facteurs essentiels à la digestion¹²⁰. La signalisation des neurones efférents vers les cellules immunitaires permet de réduire la réactivité du programme inflammatoire des macrophages, réguler les mastocytes pour limiter la pénétration des antigènes et favoriser la colonisation du microbiote vers une abondance de bactéries filamenteuses pour limiter la colonisation d'espèces opportunistes¹²⁴.

1.6.4 Microbiote

Le microbiote intestinal est constitué de 10¹³ microorganismes variants entre les bactéries, les archées, les virus, des mycètes et des protozoaires qui occupent la surface interne du lumen intestinal. Maintenant considéré comme un organe à part entière, il favorise la santé gastro-intestinale, le développement et le maintien des fonctions physiologiques de base. Le microbiote intestinal communique avec le cerveau, par l'axe microbiote-intestin-cerveau, qui est constitué du nerf vague

et des métabolites comme les acides gras à chaîne courte (SCFA), les cytokines et les acides aminés, qui peuvent agir comme neurotransmetteurs¹³². Dès la naissance, un des rôles du microbiote est l'induction du système immunitaire par la présentation d'antigènes¹³³. Le bon maintien du microbiote est primordial dans le développement d'une réponse immunitaire juste et intégrée. De plus, les études sur les animaux ont permis de déceler que la diversification du microbiote et une colonisation adéquate permettaient aux cellules gliales d'atteindre la maturation, une morphologie et une réponse immunitaire suffisante^{110,134-136}. Le microbiote intestinal est influencé par l'environnement, la diète et les stressseurs. Ceux-ci ont pour effet de moduler la production de neurotransmetteurs ou les voies de signalisation reliées à l'immunité qui, par effet, influence le SNC¹³⁷.

L'absence d'induction du système immunitaire par le microbiote commensal instaurerait une régulation dite déficiente du système immunitaire, ce qui favorisait la dysbiose, soit la perte de diversité ou le déséquilibre du microbiote intestinal (**fig. 7**)¹³⁸. Les patients dépressifs présentent une concentration élevée chez les patients dépressifs une concentration élevée de l'ARNr 16s plasmatique qui est indicatrice de la translocation bactérienne, donc du passage du lumen vers la circulation sanguine¹³⁹. Les lipopolysaccharides (LPS) relâchés par les bactéries dans la périphérie se lient aux récepteurs *toll-like 4* (TLR4), qui mène à la signalisation intracellulaire de NF- κ B. Dans cette même étude, une augmentation de l'expression transcriptionnelle de TLR-4 et NF- κ B et une expression protéique accrue de TLR-4 et de l'IL-6 est observée ce qui démontrerait l'implication du microbiote dans le développement de la pathologie dépressive¹⁴⁰. La surexpression de TLR-4 diminue l'efficacité du système immunitaire dans les cas d'infections^{141,142}. Dans une autre étude, l'application de la psychothérapie par l'approche cognitivo-comportementale pendant 16 semaines mène à une diminution des formes protéiques de TLR-4, une réduction de la transcription de NF- κ B et une diminution de la concentration de l'ARNr 16s; montrant que la psychothérapie aurait un effet tant sur la réduction de la perméabilité intestinale que la réduction de la réponse inflammatoire¹³⁹.

Dans le modèle de la défaite sociale, il a été montré que les souris susceptibles au stress chronique ont subi des changements dans l'expression transcriptionnelle de IL-1B et de l'IL-6 au sein du cortex préfrontal et que ces valeurs sont associées à une augmentation de l'abondance en *Bacteroidetes* et une diminution de l'abondance des *Firmicutes*¹⁴³. Ces observations ont amené à l'investigation de la volatilité du microbiote intestinal, soit la mesure de la variance des espèces bactériennes d'un échantillon dans le temps. Suite à l'exposition au stress chronique, la volatilité du microbiote intestinal corrélait négativement avec le ratio d'interaction social, et corrélait positivement avec le niveau d'expression de la corticostérone chez les souris mâles¹⁴⁴. La valeur translationnelle de ces

résultats a été étudiée chez des étudiants volontaires qui passaient un examen académique et ils ont trouvé que la diversité du microbiote intestinal répondait de manière similaire chez l'humain¹⁴⁴.

1.6.5 Protéines jonctions serrées

La barrière intestinale se trouve au cœur de la signalisation bidirectionnelle et elle s'adapte aux stimuli physiologiques de l'organisme. Formée de la monocouche de cellules épithéliales, le tissu conjonctif et la musculature, elle permet de séparer et filtrer le contenu luminal de la circulation systémique et lymphatique. Les IECs prolifèrent et se renouvellent aux 3 à 5 jours. Pour parvenir à réguler ce remplacement constant et maintenir l'homéostasie, elles sont régulées par les jonctions serrées (*tight junctions*, TJ). Les TJ sont des complexes protéiques localisées à l'apex des entérocytes, formant une ceinture d'adhésion moléculaire, qui permet de maintenir une connexion intercellulaire étanche. Les complexes jonctionnels sont formés par les TJ qui travaillent de concert avec les jonctions adhérentes, les jonctions lacunaires (*gap junctions*) et les desmosomes. Les TJ permettent l'intégrité structurelle des tissus et créent des barrières polarisées avec pour fonction la perméabilité paracellulaire aux ions, à l'eau et aux molécules ayant entre 10 et 15 Å¹⁴⁵. Plusieurs rôles ont été attribués aux TJ soit dans la différenciation, prolifération, migration, transduction de signaux et l'induction de la transcription. L'architecture moléculaire des TJ est constituée des protéines cytoplasmiques d'échafaudage, les *zonula occludens* (ZO1/TJP1, ZO2/TJP2, ZO3/TJP3), qui possèdent un site de liaison au cytosquelette d'actine et divers domaines PDZ et GUK, des domaines de la famille de protéines MAGUK (*membrane-associated guanylate kinase*), qui facilitent l'ancrage des récepteurs cellulaires au cytosquelette. Les claudines (CLDN), les occludines (OCLN) et les molécules d'adhésion jonctionnelle (JAMs) sont des protéines transmembranaires qui s'attachent aux domaines PDZ et GUK des ZO et permettent la liaison cellule-cellule¹⁴⁶⁻¹⁴⁸.

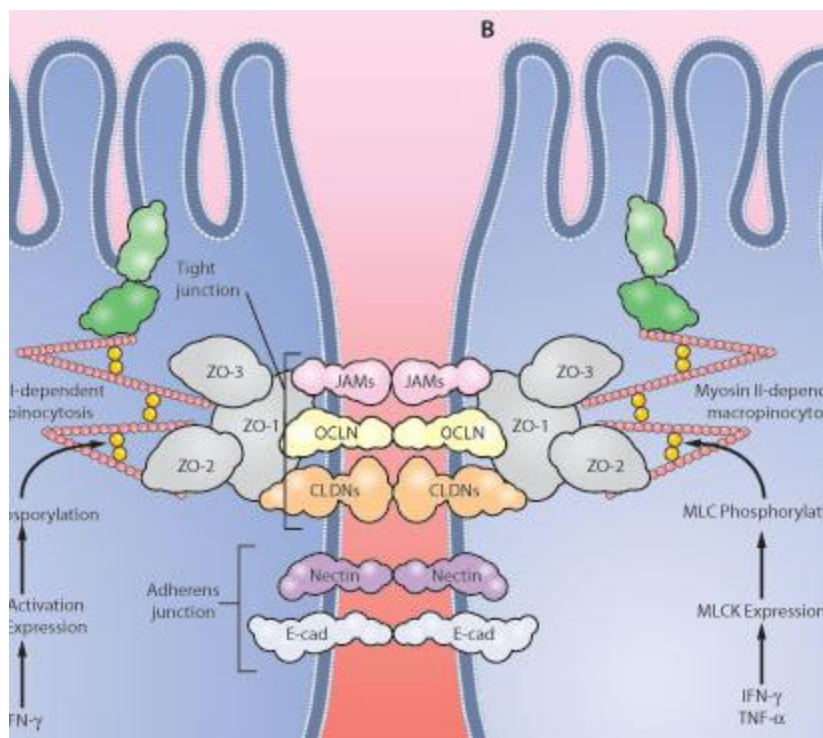


Figure 6. Les jonctions serrées permettent le bon maintien de la barrière intestinale.

Selon les demandes du milieu, les TJ répondent aux signaux environnementaux en modulant la perméabilité. Tiré de Chiba, 2006¹⁴⁹.

Les claudines sont les protéines cruciales à la formation de la fonction de barrière. À ce jour, 24 claudines ont été caractérisées, les fonctions des vingt premières sont conservées chez les mammifères¹⁵⁰. Deux de leurs quatre domaines transmembranaires confèrent une sélectivité de charge électrique qui permet d'échanger les ions d'un milieu extracellulaire à l'autre¹⁵¹. La perméabilité d'un tissu sera déterminée selon la diversité et l'attachement de d'autres claudines provenant de la même cellule (dite cis) et celles provenant d'autres cellules (dite trans)¹⁴⁸. Ainsi deux familles des claudines ont été caractérisées: les claudines scellantes et les claudines perméables. Le premier groupe, constitué des claudines-1, -3, -4, -5, -6, -8, -11, -12, -16, -18 et -19, augmente la résistance transépithéliale (TEER) ce qui réduit la perméabilité totale de la barrière¹⁵². Le second groupe, constitué des claudines-2, -10 et -15 permet la formation de pores qui permettent le passage d'ions spécifiques et favoriser la sélectivité de la barrière¹⁵³. D'autre part, certaines claudines servent plutôt à la signalisation et la modulation des programmes cellulaires. Par exemple, les claudines -2, -3, -7 et -15 sont recrutées aux jonctions serrées par des molécules d'adhésion des cellules de l'épithélium, EpCam (ou CD326), qui servent à réguler l'adhésion entre les cellules épithéliales et initier la prolifération, la différenciation et la migration¹⁵⁴.

La localisation des claudines varie en fonction des tissus, du stade développemental et des besoins physiologiques. Dans le tractus gastro-intestinal (GIT), les claudines-2, -3, -7, et 15 sont les plus exprimées^{153,155,156}. Pour parvenir à saisir le rôle qu'elles occupent, la délétion de gène a été réalisée dans des modèles *in vitro* et dans des modèles animaux. La claudine-2 est localisée au sein des cryptes et forme des canaux ioniques favorisant le passage de cations¹⁵⁷. Dans la lignée cellulaire Caco-2, dérivée du colon humain, la privation de nutriment induit l'autophagie, qui en retour réduit la perméabilité paracellulaire en ciblant la CLDN2 pour la dégradation lysosomale¹⁵⁸. Sur la même lignée cellulaire, l'introduction de TNF- α augmente l'expression de *CLDN2*, ce qui augmente la perméabilité intestinale dans un contexte inflammatoire¹⁵⁹. Chez des souris mutantes pour le récepteur de la vitamine D, l'expression transcriptionnelle et protéique de la claudine-2 et -12 est diminuée. De plus, une réduction de la prise de Ca^{2+} du milieu est dénotée ce qui confère à ces claudines un rôle clé dans régulation de l'homéostasie calcique¹⁶⁰. La claudine-3 (CLDN3) se localise aux jonctions serrées ainsi que sur la membrane latérale des IECs. Sa fonction barrière permet de réduire la perméabilité de la barrière intestinale. Chez la souris, l'expression de *Cldn3* atteint son maximum 28 jours après la naissance. Ainsi, le microbiote commensal interagit très tôt avec la claudine pour induire la fonction de barrière^{153,161}. En relation à l'inflammation, les souris *knock-out* (KO) pour *Cldn3*, présentent une fonction barrière dysfonctionnelle qui serait reliée à la voie de signalisation IL-6/gp130/STAT3 via la signalisation de la voie Wnt/ β -catenin¹⁶². La claudine-7 (CLDN7) possède un rôle de signalisation. Elle est exprimée à l'apex et à la surface basolatérale des IECs. En termes de perméabilité, sa première boucle extracellulaire affecte la perméabilité des anions, plus précisément des ions Cl^- ¹⁶³. Les souris KO pour *Cldn7* présentent une augmentation de l'inflammation de la muqueuse intestinale, de la prolifération cellulaire et de l'apoptose. Plus précisément, cette délétion mène à une augmentation de l'ARNm de la métalloprotéinase-3 (MMP3) qui induit la dégradation de la matrice extracellulaire et induit une réponse pro-inflammatoire des muqueuses¹⁶⁴. Au sein d'une autre étude, la délétion de *Cldn7* induit une augmentation de la taille de l'espace paracellulaire permettant à des molécules jusqu'à 4000 Da de traverser la muqueuse intestinale¹⁶⁵. La claudine-12 (CLDN12) se situe de part en part du GIT, elle est localisée à l'apex des membranes latérales des IECs et elle ne possède pas de domaine PDZ¹⁵³. Ceci lui confère donc un rôle qui ne relève pas de l'ancrage à la membrane et pourrait être une piste intéressante. De manière similaire à la *Cldn2*, elle contribue à l'absorption du Ca^{2+} et son expression est accrue par la forme active de la vitamine D. La claudine-15 (CLDN15) est localisée dans la membrane apicale des IECs. Dans une souris KO pour *Cldn15*, l'expression des autres claudines n'est pas altérée, toutefois la morphologie de l'intestin grêle est doublée dans la longueur et dans le diamètre¹⁶⁶. Dans le double KO pour *Cldn2* et *Cldn15*, la CLDN15 réduit le flux

paracellulaire de Na⁺ de la sous-muqueuse vers le lumen, ce qui réduit l'absorption de nutriment et conduit au décès en quelques semaines des souris¹⁶⁷.

Les occludines contribuent à la stabilisation des jonctions serrées en se liant aux domaines GUK des ZO ce qui permet le maintien optimal de la fonction de barrière. Elles présentent un motif MARVEL, qui est un domaine qui favorise l'attachement aux protéines de trafic des vésicules et la liaison aux protéines membranaires, ce qui permet le recrutement et l'attachement subséquent de la tricelluline (Marveld2)¹⁴⁷. La surexpression d'occludine dans les cellules rénales augmente la résistance transépithéliale¹⁶⁸. D'autre part, des souris KO (occludin^{-/-}) présentent des TJ intactes du point de vue morphologique, mais l'étude histologique révèle des caractéristiques de l'inflammation chronique et une mauvaise intégrité des tissus épithéliaux¹⁶⁹. La tricelluline scelle la jonction où trois cellules se rencontrent et permet d'établir l'étanchéité à ce point de contact. Toutefois, son rôle précis dans la fonction barrière est encore débattu. Dans un contexte de barrière perméable, les TJ bicellulaires vont former la majorité de la perméabilité paracellulaire, tandis que dans un contexte d'un épithélium étanche comme les reins, la TJ tricellulaire aura un grand impact sur la résistance transépithéliale du tissu¹⁷⁰. D'autre part, un double KO *Ocln/Marveld2* dans des cellules MDCK montre que ces deux protéines sont requises pour former le lacis de jonctions serrées et contribuer à la bonne maintenance de la fonction barrière¹⁷¹. Les zonula occludens sont des protéines d'échafaudage qui lient le cytosquelette d'actine et de myosine aux protéines présentes dans la membrane. L'importance de ce groupe repose sur la présence des domaines PDZ qui permettent de reconnaître les motifs C terminaux des claudines, des occludines et d'autres ZO et de les recruter adéquatement¹⁴⁵. L'amalgame de ces protéines forme un treillis qui organise les protéines intracellulaires.

1.6.6 Effet de l'exposition au stress chronique sur la barrière intestinale

L'effet du stress chronique mène à la surproduction de CRH ce qui suractive le système immunitaire, via les GC, et prolonge la réponse inflammatoire sans la résoudre efficacement. Dans une étude menée au début des années 2000, des patients atteints du côlon irritable ont été traités avec un antagoniste de la CRH. Leurs résultats montrent une amélioration significative du transit intestinal, une réduction de la perception de douleur abdominal et une atténuation des comportements négatifs tel que l'anxiété, le stress perçu et le niveau de fatigue¹⁷². Dans le contexte du stress chronique, Vanuytsel et al., démontrent que la prise de parole en public induit une augmentation de la perméabilité paracellulaire, mesurée par le ratio des niveaux de lactulose sur mannitol, de l'intestin suite à une activation significative de l'axe HPA. D'autre part, l'administration de CRH exogène dans la périphérie induit la même augmentation de perméabilité, qui repose sur la dégranulation des mastocytes¹⁷³. Le stress chronique est associé à des comorbidités comme le reflux gastro-intestinal,

la dyspepsie fonctionnelle, les ulcères, la maladie inflammatoire de l'intestin comme la colite ulcéreuse ou la maladie de Crohn¹⁷⁴. Des symptômes du stress chronique sont l'augmentation du transit du colon, une augmentation des sécrétions en eau, d'électrolytes et de sécrétion de mucus et des médiateurs inflammatoires par les mastocytes (**fig. 7**)^{126,175}. Les maladies inflammatoires de l'intestin touchent 15% de la population adulte, de cette population 33% des individus présentent des symptômes dépressifs¹⁷⁶. Une composante caractéristique de ces deux pathologies est la présence d'inflammation de bas grade^{177,178}. Ces conditions inflammatoires pourraient donc prédisposer l'individu atteint d'un trouble intestinal à développer une dépression ou encore un individu dépressif à développer des problèmes intestinaux.

Dans une autre étude menée chez des adolescentes non médicamenteuses pour le TDM, le ratio lactulose-mannitol sert d'indicateur de perméabilité intestinale due à leur nature non fermentescible. Les auteurs notent une association positive entre la perméabilité intestinale et la sévérité des symptômes neurovégétatifs typiques chez les patients dépressifs (sommeil, appétit et concentration dérégulés) médiés par l'activation du système immunitaire inné. L'augmentation de la perméabilité intestinale semble médier l'association entre la suractivation du SNS et la sévérité des symptômes dépressifs¹⁷⁹.

Des chercheurs ont montré un lien entre la forte augmentation de la perméabilité intestinale chez les patients dépressifs, ce qui contribuerait à maintenir l'inflammation de bas grade. Les premières évidences de ce phénomène sont attribuées au chercheur Michael Maes. Il a montré que chez des patients atteints de TDM, ont une concentration sérique élevée d'immunoglobuline A et M (IgA, IgM) contre les lipopolysaccharides (LPS) des bactéries commensales entériques¹⁸⁰. De plus, des patients atteints de TDM chronique ont une réponse d'IgM plus sévère que les patients dépressifs sans récurrence⁹⁶. D'autre part, une augmentation de la translocation bactérienne du lumen vers la circulation mène à une expression accrue de la réponse inflammatoire, du stress oxydatif et nitrosatif et de la réponse auto-immune. Ces réponses génèrent des néoépitopes, des épitopes ayant subi des modifications post-traductionnelles, qui génèrent l'activation des lymphocytes T due à la non-reconnaissance du soi et donc une hyperréactivité immunitaire observée chez les patients dépressif¹⁸¹. Plus récemment, Stevens et al., ont montré que des patients atteints de symptômes dépressifs et anxieux présentaient une augmentation de la concentration plasmatique de LPS, de zonuline et de *fatty acid-binding-protein* (FABP2)¹⁸². La zonuline est un régulateur de la perméabilité intestinale tandis que FABP2 est marqueur d'une barrière défectueuse. Une augmentation de la zonuline plasmatique est retrouvée dans les maladies inflammatoires et auto-immunes qui présentent des comorbidités dans la pathologie dépressive¹⁸³. De plus, le groupe présentant les symptômes anxieux

et dépressifs présente un microbiote intestinal altéré qui corrèle avec les trois marqueurs précédents, ce qui indique que la dysbiose pourrait être un acteur clé dans le maintien de la perméabilité intestinale élevée chez les patients atteints de TDM¹⁸².

Lorsque la barrière intestinale est compromise, la réponse inflammatoire et le passage de molécules pro-inflammatoires comme les métabolites bactériens mènent au développement ou à l'accentuation de maladies inflammatoires, métaboliques et systémiques (**fig. 7**)¹⁸⁴. L'inflammation de bas grade a pour effet d'activer une boucle de rétroaction positive sur l'augmentation de la perméabilité qui empêche la résolution de l'inflammation¹⁸⁵. Les cytokines pro-inflammatoires vont avoir un effet direct sur la régulation des effecteurs de la barrière intestinale. Par exemple, TNF- α est reconnu pour recruter les caveolin-1 dans le but d'internaliser l'OCLN¹⁸⁶. Ceci a pour effet d'augmenter la perméabilité intestinale. De plus, TNF- α agit sur l'induction de la voie NF- κ B. Dans le modèle murin, lorsque des inhibiteurs de NF- κ B sont administrés, une rétention des fluides et la prévention des diarrhées sont observées¹⁸⁷. D'autre part, dans les cas de traitements avec l'interféron gamma (IFN- γ), une diminution de l'expression de ZO1 et d'OCLN via la voie dépendante de l'AMPK est observée¹⁸⁸. Ainsi ces médiateurs inflammatoires possèdent un rôle prévalent sur la dissociation des protéines de jonction serrées et peuvent avoir un effet néfaste sur le maintien de l'intégrité intestinale. La *Myosin light-chain kinase* (MLCK) est aussi affectée par les cytokines. Son rôle est de défaire l'interaction entre les protéines de jonctions serrées et le cytosquelette d'actine-myosine, ce qui endommage l'échafaudage de la jonction serrée qui est cruciale pour la bonne maintenance de la barrière intestinale¹⁸⁹. À l'état pathologique, le milieu pro-inflammatoire ou la présence accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) mènent à l'altération du motif de phosphorylation de la protéine kinase C (PKC) qui phosphoryle les occludines¹⁹⁰. Ceci a pour effet de provoquer des changements sur l'interaction protéine-protéine entre l'OCLN et les ZO et moduler l'intégrité la barrière intestinale dans une configuration relâchée plutôt que soutenue¹⁹¹. Par contre, ces mécanismes de modulation ne sont pas totalement clairs. Il est reconnu qu'une multitude de protéines de signalisation sont impliquées dans des signaux de transduction comme par exemple, les protéines G et les tyrosines kinases. Les cytokines ont aussi un effet important dans la modulation des TJs.

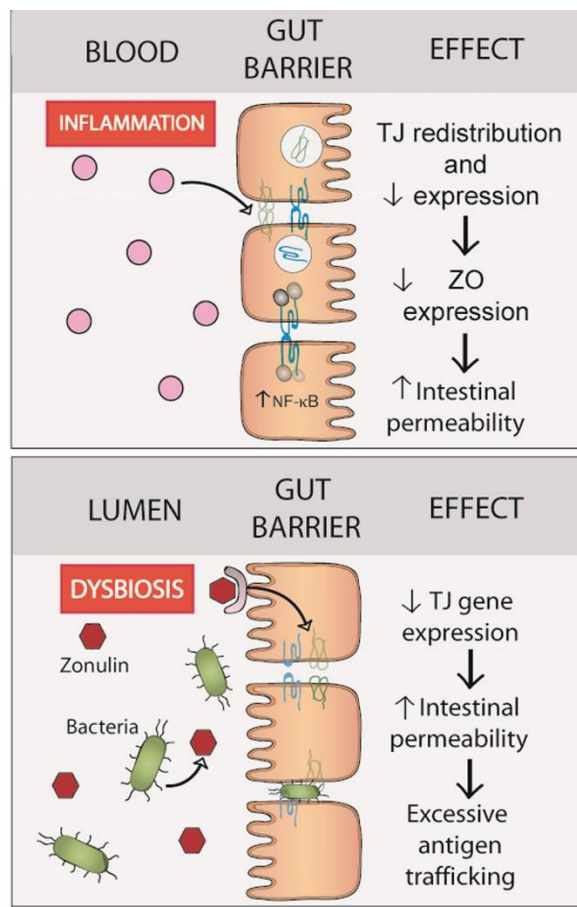


Figure 7. Effet du stress chronique sur la barrière intestinale

Dans un contexte d'inflammation circulante soutenue due au stress chronique les protéines de jonctions sont redistribuées et leur expression est diminuée menant à la perte de protéines d'échafaudage ZO ce qui augmente considérablement la perméabilité intestinale. Dans le contexte de la perte de diversité du microbiote intestinal, la dysbiose, une diminution des protéines de jonctions serrées est observée, ce qui augmente la perméabilité intestinale. De ce fait, cela permet l'augmentation des antigènes qui peuvent travers la barrière intestinale et se rendre dans la périphérie ce qui fait perdurer la boucle inflammatoire. Adapté de Doney et al., 2021¹⁹².

1.7 Modèle animal de la dépression

1.7.1 Modèle de la défaite sociale

Les troubles psychiatriques de l'humeur sont des maladies de plus en plus fréquentes et qui ont un grand impact sur le fonctionnement des individus. Ainsi, malgré les multiples études et méta-analyses sur le lien entre la dépression et la relation à l'environnement, les mécanismes moléculaires et la circuiterie neuronale reliés aux troubles dépressifs restent méconnus et peu caractérisés. L'utilisation de modèles animaux a permis de contrer ces difficultés pratiques et d'étudier les adaptations fonctionnelles, neurologiques et moléculaires sous-jacentes aux pathologies dans le but d'obtenir des évidences qui pourraient soutenir des interventions thérapeutiques adaptées et plus efficaces chez l'humain.

Les modèles de stress reposent sur l'introduction d'un stimulus aversif ou nociceptif qui est soit psychologique ou physique à l'animal. Le modèle de la défaite sociale (CSDS), induit du stress chronique, sous la forme d'intimidation par les pairs. Plusieurs équipes de recherche ont façonné ce protocole pour qu'il soit standardisé de nos jours. Kudryavsteva et al ont établi les premières bases du modèle de contact sensoriel en observant que les souris de souche C57BL6 subordonnées présentaient des mécanismes de défense qui passaient de la défense active jusqu'à l'expression de la soumission¹⁹³. Berton et al., au sein d'une étude montrant l'implication de BDNF dans le développement de comportements dépressifs, ont proposé un modèle standardisé où pendant dix jours, des souris mâles C57BL6 sont mises en contact avec un agresseur résident CD-1. Ensuite, les contacts olfactifs, visuels et auditifs sont conservés en plaçant la C57BL6 d'un côté du compartiment séparé par un séparateur translucide perforé et la CD-1 est logée de l'autre côté¹⁹⁴. Golden et al., proposent un protocole standardisé de la défaite sociale en analysant divers paramètres d'importance qui permettent d'initier la défaite et il offre des pistes de dépannage¹⁹⁵. À la fin du protocole, les animaux passent le test d'interaction sociale où un ratio SI leur est attribuée. Si le ratio SI est en dessous de 1, c'est-à-dire passant moins de temps dans la zone d'interactions sociales en présence de l'agresseur, ils sont considérés susceptibles au stress (SS) tandis que ceux avec un score au-dessus de 1, donc passant autant ou plus de temps dans la zone d'interactions sociales en présence de l'agresseur, sont considérés comme résilients au stress (RES).

La CSDS se base sur quatre formes de validité : de construit, de contenu, discriminante et de valeur prédictive du modèle¹⁹⁶. Premièrement, la validité de *construit* est respectée puisque l'intimidation répétée par les pairs représente du stress chronique et mène au développement subséquent de comportements dépressifs¹⁹⁷. Deuxièmement, la validité de *contenu* est soutenue par la neuropathologie et les comportements dépressifs similairement retrouvés chez les humains dépressifs⁶¹. Par exemple, l'anxiété, l'isolement, l'anhédonie, les troubles de sommeil, la fatigue, la fluctuation du poids, l'agressivité et la perte de mémoire, sont des facteurs mesurables dans un modèle murin. Troisièmement, la validité *discriminante* provient du fait qu'il est possible d'obtenir deux sous-populations de souris⁶¹. Les souris dites susceptibles au stress présentent des comportements dépressifs distincts de ceux des souris résilientes comme la perte de plaisir (anhédonie), l'anxiété et des comportements d'évitement. Quatrièmement, la validité prédictive du modèle repose sur l'aspect pharmacologique. Lorsqu'un humain est traité avec des antidépresseurs, ceux-ci ont pour but de réduire la fréquence et l'intensité des périodes dépressives. Dans le cas de la CSDS, seule l'administration chronique d'antidépresseur réduit les comportements dépressifs¹⁹⁴. Il est important de noter que la plupart des études animales retrouvées dans la présente introduction ont eu recours à ce paradigme.

1.7.2 Environnement enrichi

Pour recréer des conditions socio-économiques élevées ou l'introduction de l'exercice physique chez l'animal, il est nécessaire d'adapter ces stratégies préventives à l'espèce d'intérêt pour augmenter la valeur translationnelle du modèle de la défaite sociale. Les éthologues et les techniciens en santé animale ont noté que les mammifères captifs placés dans des environnements privés d'enrichissement développaient des comportements répétitifs, nommés stéréotypies, qui s'apparentent à la rumination chez l'humain¹⁹⁸. Ces comportements sont délétères à long terme et causent de la souffrance. L'introduction d'un environnement enrichi (EE) a permis de pallier à ces déficits et de favoriser un développement sensoriel, cognitif et moteur et d'octroyer des bénéfices sur le métabolisme, l'immunité et le comportement des animaux¹⁹⁹. L'environnement enrichi se définit comme un modèle d'hébergement animal, ne nécessitant ni intervention chirurgicale ou médication, qui cherche à bonifier l'environnement standard par l'ajout de structures de nidification, de partenaires sociaux et d'exercice physique, afin de recréer des conditions équivalentes à l'état sauvage⁵⁶.

En 1964, Diamond et al. réalisent une expérience où de l'enrichissement structurel est introduit dans les cages de rats expérimentaux. D'une part, les rats ayant accès à l'enrichissement montrent une meilleure capacité d'apprentissage et de mémorisation. D'autre part, elle note une augmentation de la masse cérébrale, du nombre de connexions neuronales, de la taille de corps cellulaire des neurones et du nombre de cellules gliales^{200,201}. Cette démonstration représente la première évidence scientifique que l'environnement enrichi favorise la plasticité neuroanatomique, soit la capacité de modifier et remodeler les connexions neuronales en fonction de l'environnement moléculaire, cellulaire et fonctionnel. Selon les situations, le cerveau s'adapte aux nouvelles informations qui s'ajoutent à la mémoire, modifie les comportements et permet ainsi de rejeter l'idée que celui-ci est un organe fixe une fois à l'âge adulte. La construction d'un réseau neuronal dans des contextes positifs a un effet immunomodulateur puisque les signaux reçus du SNA et de l'axe HPA permettent de diminuer les impulsions nerveuses signalant la présence de danger et donc du développement de comportements adaptés²⁰². Par exemple, la stimulation cognitive apportée par l'EE promouvait une réponse immunitaire anti-inflammatoire autant au niveau de la BHE que de la BI²⁰³. En addition, Morano et al. ont montré que des rats femelles retirés de leur environnement enrichi imitaient le sentiment de perte, ce qui menait à des comportements d'adaptation comme l'hyperphagie, l'immobilité dans le test de nage forcée et une diminution de l'activité de l'axe HPA comparativement aux contrôles ayant accès à de l'enrichissement²⁰⁴.

L'EE modifie aussi le microbiote intestinal. Par exemple, Lupori et al. ont montré que l'addition de l'exercice physique altérait le microbiote intestinal en plus d'augmenter la plasticité synaptique et

l'arborisation des microglie dans le cortex visuel par les SCFA comme le butyrate chez la souris²⁰⁵. Dans un modèle de la maladie d'Huntington, les souris hébergées en EE, présentent un microbiote intestinal distinct des souris hébergées dans un environnement standard en plus de présenté une atténuation des symptômes de la maladie²⁰⁶. Finalement, dans un modèle du Parkinson, induit par modification génétiques, l'EE affecte le microbiote intestinal en augmentant la composition en *Lactobacillus*, capable de digérer les fibres prébiotiques, et ils ont observé une diminution des médiateurs inflammatoire comme IL-8 et NF-kB²⁰⁷.

1.7.3 Activité physique

Comme mentionné précédemment, une problématique émergente reliée à l'activité physique est le manque de connaissance quant aux mécanismes physiologiques qui sont en cause dans l'aspect préventif des comportements dépressifs¹⁴. Ainsi, l'utilisation de l'exercice physique volontaire sur roue (VWR), permet de répliquer l'introduction de l'activité physique aérobie chez l'humain, qui se comporte comme un stresser physiologique et une composante motivationnelle²⁰⁸. Grâce au VWR, plusieurs groupes de recherche ont pu corroborer tant l'adaptation immunitaire et l'amélioration des comportements dépressifs induits par le stress chronique et l'efficacité en comparaison à l'utilisation de composés pharmaceutiques. Dans le contexte de la CSDS, l'utilisation de l'exercice physique est plus efficace pour renverser les comportements d'évitement plutôt que l'utilisation de la fluoxétine, un antidépresseur courant²⁰⁹. La défaite sociale réduit les interactions dopaminergiques du NAc et l'introduction de l'activité physique permet l'activation de Δ FosB, un facteur de transcription nécessaire au maintien et au rétablissement de ce circuit dopaminergique, ce qui permet de réduire les comportements dépressifs et favoriser la résilience au stress chronique^{52,210,211}.

Dans un modèle murin du cancer du côlon, quand la VWR est combiné à l'EE, la présence de médiateurs de réparation de l'épithélium intestinal augmente et permet de prévenir la migration des tumeurs²¹². L'exercice physique permet d'influencer les processus inflammatoire par la diminution de l'activité transcriptionnelle des lymphocytes présents dans les tissus épithélial de l'intestin par la diminution des cytokines proinflammatoires, une augmentation des cytokines antiinflammatoires et une augmentation des enzyme antioxydantes^{213,214}. Ces résultats ont pu être répliqué chez les humains suivant un exercice à haute intensité. En mesurant l'expression des TLR et du LPS, l'exercice physique serait responsable de la modulation du système immunitaire innée et permettrait de modifier l'inflammation de bas grade, et par effet, enrayer la progression des maladies chroniques reliée à l'inflammation^{215,216}.

Dans les dernières années, Clarke et al. ont menée une des premières études où ils ont établis que l'augmentation de la fréquence de l'activité physique menait à une augmentation dans la diversité du microbiote intestinal, une diminution de l'indice de masse corporelle et l'augmentation de *Akkermansia muciniphila*, une espèce responsable de la dégradation du mucus²¹⁷. Cet effet pourrait être médié par la branche innée du système immunitaire, qui conditionnent le microbiote intestinal vers une diversité optimale composées d'espèce bactérienne produisant la sérotonine et les SCFA^{91,218}. Dans une étude sur des souris obèses et diabétiques, une corrélation inverse est observée entre l'intensité des maladies et l'abondance d'*Akkermansia*²¹⁹. Au sein d'un essai contrôle randomisé avec des enfants obèses, l'exercice physique permet de renverser la dysbioses et de diminuer le profil proinflammatoire aux niveaux présent chez des enfants en santé²²⁰. De plus, six semaines d'exercice chez des adultes obese permet de modifier la diversité du microbiote vers une abondance de bactéries produisant du butyrate, ce qui en retour permet d'augmenter les concentrations fécales de butyrate²²¹. En support à ces résultats, une étude préclinique sur des rats montre que 5 semaine d'entraîne sur roue d'exercice permet d'augmenter la propension de bactérie produisant le butyrate et une augmentation subséquente du butyrate²²². En lien avec la barrière intestinale dans des cellules Caco2, le butyrate s'est montré responsable de l'assemblage et de la maintenance des protéines de jonctions serrées²²³. Ceci suggère que l'exercice physique pourrait moduler la production de butyrate, et par effet, être un mécanisme qui favorise une BI en santé.

Chapitre 1 – Recherche

2.1 Contexte

Un changement de paradigme s'opère dans l'étiologie de la dépression en passant du point de vue neurocentrique vers une explication fondée, du moins en partie, sur le rôle interrelié des différents systèmes physiologiques et la réponse inflammatoire. L'inflammation chronique de bas grade renforce la présence de cytokines pro-inflammatoires provenant d'un état de stress chronique non résolu qui affecte la périphérie. Récemment, un lien clair a été suggéré entre la perturbation du microbiote intestinal, la communication intestin-cerveau et la dysfonction du système endocrinien menant à des perturbations de l'intégrité de la barrière intestinale permettant le passage d'antigènes de molécules pro-inflammatoires²²⁴. Ceci a pour effet d'accentuer la boucle de l'inflammation de bas grade plutôt que d'offrir une résolution adéquate. Pour limiter les effets délétères, agir en amont des variables qui induisent le stress chronique représente une stratégie préventive intéressante qui pourrait par conséquent prévenir l'apparition de symptômes dépressifs chez les gens vulnérables. Notamment, chez l'humain on considère que l'accès à un statut socio-économique élevée et l'introduction ou l'augmentation de l'activité physique permettrait de diminuer significativement la présence de l'inflammation de bas grade en affectant divers systèmes biologiques²²⁵⁻²²⁷. Ainsi, ces stratégies préventives pourraient s'inscrire dans de nouvelles modalités thérapeutiques permettant de prévenir la dépression.

2.2 Hypothèses et objectifs

La première hypothèse est que l'introduction d'un environnement enrichi mitigerait l'impact du stress chronique induit par la défaite sociale en diminuant la présence de comportement dépressifs et en augmentant la proportion de souris résilientes au stress. Le premier objectif sera de valider l'implication de l'enrichissement du milieu de vie ou de l'activité physique volontaire et leurs effets dans la prévention de l'établissement des comportements dépressifs induits par la défaite sociale chronique.

La deuxième hypothèse repose sur l'idée que la barrière intestinale à l'image de la barrière hématoencéphalique deviendrait également plus perméable à la suite d'un stress par la perte d'étanchéité via la diminution de l'expression des protéines de jonctions serrées. Le second objectif sera d'étudier, dans le contexte du stress chronique, la réponse des jonctions serrées de la barrière intestinale sera évaluée par l'expression de la transcription et de l'immunofluorescence afin de déterminer leur influence sur l'intégrité de la barrière intestinale et d'évaluer l'effet du milieu enrichi et de l'exercice physique volontaire sur ces processus.

2.3 Matériel et méthodes

2.3.1 Animaux

L'utilisation d'un modèle murin permet une approche translationnelle inversée pour étudier la réponse au stress dans un contexte social. Des souris mâles C57BL/6 (B6, Charles River) âgées de 6-7 semaines sont acclimatées une semaine avant la défaite sociale. Des mâles reproducteurs retraités âgés d'au moins 4 mois (CD-1, Charles River) servent d'agresseurs. Les souris sont hébergées en groupe à leur arrivée puis individuellement par la suite, et sont maintenues dans un cycle jour/nuit de 12 heures, à une température de 22°C et avec un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. Les expériences sont réalisées en conformité avec les lignes directrices émises par le Conseil Canadien de Protection des Animaux ainsi que celles du Conseil de Protection des Animaux de l'Université Laval (ref : 2018-052).

2.3.2 Modèle de la défaite sociale

La CSDS est modifiée à partir du protocole standardisé par Golden et al ¹⁹⁵. Avant d'entamer la défaite, la latence d'attaque agonistique de la souris agresseur (CD1) est évaluée pendant trois jours. Une souris B6 est placée pendant 180 secondes avec une souris CD-1. Dès la première marque d'agression par la CD-1, la B6 est retirée et le temps est noté. Une souris CD-1 sera considérée très agressive si elle attaque trois jours sur trois en dessous de 10 secondes. Elle sera considérée agressive si elle attaque trois jours sur trois au-dessus de 10 secondes. Une CD-1 sera considérée variable si elle attaque deux jours sur trois. Si une CD-1 n'attaque pas ou montre des comportements sexuels, elle ne sera pas utilisée dans la CSDS. Les CD-1 sont réparties selon leur niveau d'agressivité au travers de la défaite pour balancer le niveau d'agression des souris soumises à la CSDS. Les agresseurs sont placés dans une cage spécialement utilisée pour la défaite sociale (26.7cm x 48.3cm x 15.2cm, Allentown Inc) avec un séparateur transparent et perforé (0.6cm x 45.7cm x 15.2cm) 24h avant le début de la défaite (j0) et n'ont pas accès au matériel d'enrichissement.

Les souris B6 sont soumises à la CSDS pendant 10 jours (**fig. 9**). Chaque jour, elles sont mises en contact avec la souris CD-1 pendant 5 minutes, puis elles sont séparées par le diviseur perforé pour conserver un contact sensoriel jusqu'au lendemain. Dans le cas où une résidente attaque trop sévèrement ou encore démontre des comportements d'accouplement sur une souris B6, la ronde d'agression est arrêtée sur-le-champ. Chaque jour, les souris B6 rencontrent une souris CD-1 différente. Les souris contrôles, qui ne subissent pas la CSDS, sont placées deux par cage et séparées par le séparateur perforé et sont manipulées de la même façon que les souris B6 sans toutefois être mises en présence d'un agresseur. Après la dernière journée d'agression, les souris stressées et contrôles sont hébergées individuellement dans des cages standards et elles seront soumises au test

d'interactions sociales 24h plus tard. Avant le sacrifice, le nombre de blessures est comptabilisé, par le décompte de morsures sur la queue, les pattes, le haut du dos et la taille des plaies présentes sur le bas du dos et le ventre.

2.3.3 Test d'interactions sociales

Le test d'interactions sociales sert à déterminer la sensibilité au stress en évaluant le ratio d'interactions sociales (Ratio SI) et permet de classer l'animal comme susceptible ou résilient au stress social tel que décrit par Golden et al¹⁹⁵ (**fig. 9**). Au 11^e jour, les souris sont acclimatées une heure au local du test d'interactions sociales. Le test est effectué sous lumière rouge. L'évaluation se fait en deux essais d'exploration en dans une boîte en champ ouvert (42cm x 42cm x 50cm, Nationwide Plastics) avec une petite cage en grillage, servant à accueillir l'agresseur, au milieu d'un côté. Lors du premier essai, le logiciel (AnyMaze™ 6.1, Stoelting Co) mesure la locomotion et la localisation de l'animal (B6) pendant 150 secondes en absence d'agresseur dans la cage en grillage. L'animal est retiré de la boîte après le temps imparti et l'équipement est nettoyé. Une CD-1 qui n'a pas participé à la défaite sociale, et donc inconnue de la souris B6 est introduite dans la cage en grillage. La souris B6 est alors placée dans l'arène et fait le second essai exploratoire pendant 150 secondes. Les mesures du temps passé dans la zone d'interaction, c'est-à-dire autour de la cage en grillage, dans les coins de l'arène ainsi que la distance parcourue sont enregistrées. Le ratio d'interactions sociales (SI ratio) est obtenu en divisant le temps passé dans la zone d'interaction en présence de l'agresseur par celui sans l'agresseur lors du test. Les animaux présentant un ratio SI en dessous de 1, c'est-à-dire passant moins de temps dans la zone d'interactions sociales en présence de l'agresseur, sont considérés susceptibles au stress (SS) tandis que ceux avec un score au-dessus de 1, donc passant autant ou plus de temps dans la zone d'interactions sociales en présence de l'agresseur, sont considérés comme résilients au stress (RES). De manière générale, environ 60% des souris présentent un comportement SS qui se traduit par de l'évitement social et une anxiété accrue. Le 40% restant présente plutôt de la résilience RES, soit la présentation d'un comportement prosocial et une réduction de l'évitement des pairs (**fig. 9**)¹⁹⁵. Ces résultats serviront de barème pour comparer les résultats de la présente étude puisqu'ils proviennent d'un modèle standardisé.

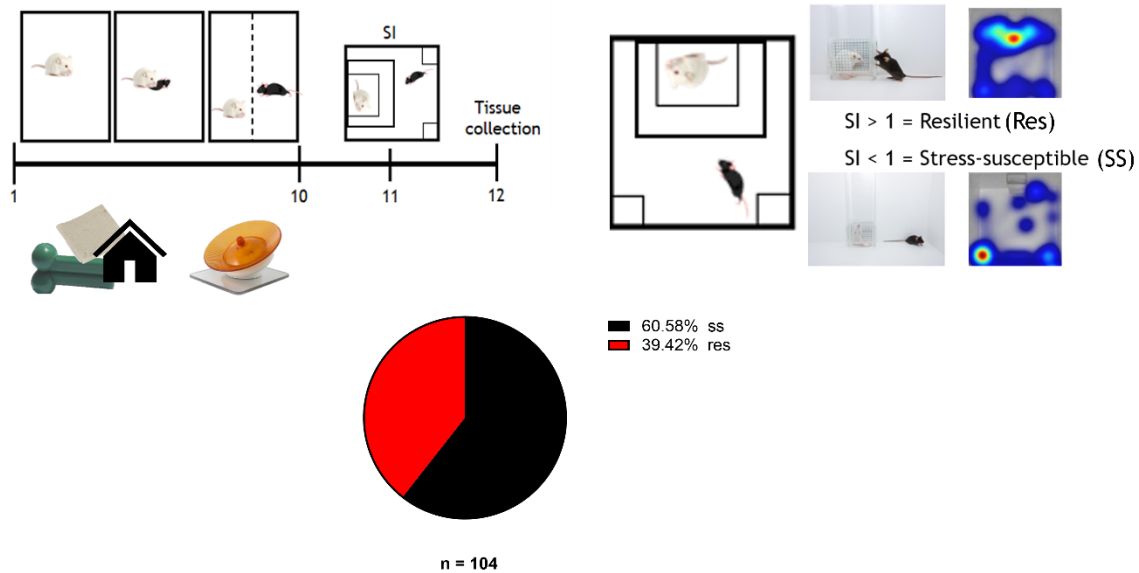


Figure 8. Modèle de la défaite sociale et test d'interactions sociales.

Pendant 10 jours, les souris B6 sont soumises à une ronde d'agression physique de 5 minutes par une souris CD-1 différente chaque jour, présentant un comportement agonistique. Les animaux sont par la suite gardés en contact sensoriel pendant 24h. Durant cette phase, les animaux ont accès aux stratégies préventives sous forme d'enrichissement structurel ou d'accès libre à une roue d'exercice physique. Au 11^e jour, les souris subissent le test d'interactions sociales pour déterminer le phénotype comportemental. Environ 60% des souris présentent un comportement de susceptibilité au stress (SS) qui se traduit par de l'évitement social et une anxiété accrue. Le 40% restant présente plutôt de la résilience (RES), soit la présentation d'un comportement prosocial et une réduction de l'évitement des pairs. Les données proviennent d'une représentation des résultats obtenus par Golden et al.¹⁹⁵

2.3.4 Environnement enrichi

De manière générale dans un paradigme de défaite sociale régulière, aucun enrichissement n'est présent dans la cage de la souris B6. Pour introduire une des stratégies préventives dans le protocole de recherche, l'enrichissement du milieu mimant un meilleur statut socio-économique nous avons ajouté de l'enrichissement structurel pendant la phase sensorielle. L'enrichissement structurel comprend l'ajout d'une maisonnette, du matériel de nidification ainsi qu'un jouet à gruger (nylabone)^{228,229}. Le matériel d'enrichissement est assigné à un même animal pendant les 10 jours du protocole de défaite sociale. Après la dernière séance de CSDS, les souris sont hébergées individuellement dans une cage standard uniquement avec le matériel de nidification jusqu'au test d'interactions sociales. Les détails concernant la standardisation de l'enrichissement structurel sont disponibles à l'annexe 2.

2.3.5 Exercice physique

L'activité physique volontaire (VWR), quant à elle, est introduite avec l'accès libre à une roue d'exercice physique (ENV-047, Med Associates Inc, 6.0198 cm de diamètre, 37.82 cm par révolution). Cinq jours avant le début de la défaite, les souris ont été acclimatées à la cage de défaite

sociale contenant une roue d'exercice. Pour étudier l'aspect préventif, toutes les souris B6 ont accès à l'exercice physique pendant la phase sensorielle de la CSDS. Les souris résidentes CD-1 et B6, qui ne subissent pas la rotation, n'ont pas accès à une roue d'activité physique. Chaque souris à une roue assignée pour toute la durée du protocole de la CSDS. Après la dernière séance de CSDS, les souris sont hébergées individuellement dans une cage standard jusqu'au test d'interactions sociales, sans la roue d'activité physique due à la contrainte d'espace. La distance parcourue est enregistrée pendant toute la durée du paradigme de la CSDS par un compteur électronique (Wireless Device USB Hub DIG-807, Med Associates Inc) connecté à un ordinateur qui possède un logiciel de comptage (Running Wheel Data Analysis SOF-860, Med Associates Inc). Ces données sont exprimées en kilomètres parcourus. Les détails concernant la standardisation de l'exercice physique volontaire sont disponibles à l'annexe 3.

2.3.6 Collecte de tissus

Lors de la collecte des tissus, les animaux sont euthanasiés par décapitation. Les intestins sont sortis de la cavité abdominale et conservés sur glace. Le colon est retiré et le petit intestin est sectionné en trois parties équidistantes : proximale, médiale et distale. Ces parties représentent respectivement le duodénum, le jéjunum et l'iléon. Deux poinçons de 2 mm de diamètre dans la partie médiale et distale sont réalisés et placés dans un tube sur glace sèche puis à -80°C jusqu'à utilisation. Les segments médial et distal restants après le poinçonnage sont maintenus dans une solution de PBS sur glace et sont préparés avec la méthode du rouleau suisse^{230,231}. Les segments sont nettoyés avec une solution de PBS 1X. Une coupure longitudinale du cylindre est effectuée puis le tissu est ouvert. La séreuse est étalée sur un cure-dent avec la muqueuse faisant face à l'extérieur et le tissu est roulé pour former un rouleau. Le tissu roulé est retiré du cure-dent et placé dans un moule et recouvert *d'optimal cutting temperature compound* (OCT, Thermo Fisher Scientific). Le tissu enduit est congelé rapidement dans l'isopentane et conservé sur glace sèche puis entreposé à -80°C jusqu'à son utilisation.

2.3.7 Analyse transcriptionnelle de l'intestin chez la souris soumise à la CSDS

L'ARN est extrait avec la méthode de séparation de phase phénol/chloroforme. Le poinçon de tissu est homogénéisé avec le TRIzol (Invitrogen) pour extraire les composés organiques et ensuite le chloroforme est ajouté pour retirer les protéines de la phase organique. L'isolation de l'ARN du surnageant est faite en utilisant le PureLink RNA mini kit (Invitrogen/Life technologies) et en suivant le protocole du fabricant. La quantité d'acide nucléique finale est mesurée avec la plaque Take3 et l'appareil Epoch (Biotek). Le logiciel Gene5 (Biotek) effectue la mesure de la concentration. L'ARN est transformé en ADN complémentaire en utilisant le Maxima-H-minus cDNA synthesis kit (Fisher Scientific) et est normalisé à une concentration de 500ng/ μl . La PCR quantitative est réalisée

par le Quantstudio 5 Real-Time PCR System (Applied biosystems) et en utilisant une plaque 384 puits dont chacun contient 3µl d'échantillon de cDNA, 5µl de Power Up SYBR green (Fisher Scientific), 1µl d'amorce PrimeTime (voir Annexe 1 pour la liste des amorces utilisées) et 1µl d'eau distillée stérile. Les échantillons sont chauffés à 50°C pendant 2 minutes et 95°C pendant 2 minutes, puis pour 40 cycles d'amplification de 95°C pendant 15 secondes, 60°C pendant 15 secondes, 72°C pendant 1 minute. L'analyse a été réalisée par la méthode de Livak, permettant d'exprimer l'expression relative de gène, où la β actine sert de gène de référence conservé au travers de l'évolution. L'expression relative des gènes des souris subissant le stress est exprimée en fonction des souris contrôles qui ne sont pas stressés et en relation avec la β actine.

2.3.8 Immunohistochimie

Le tissu intestinal est coupé au cryostat, en section de 6µm d'épaisseur à -16°C et monté sur des lames (Superfrost Plus, Fisherbrand). Les tranches sont perméabilisées pendant 15 minutes dans du PBS 1X + 0.1% Tween 20 (PBST). Elles sont ensuite incubées pendant 1h dans la solution de blocage qui contient 5% de Normal Donkey Serum (NDS) dans du PBST. Ensuite, les coupes sont incubées pendant la nuit avec la solution d'anticorps primaire, diluée dans du PBST (Rabbit anti-Cldn3, 1:250, Thermofisher, 34-1700; Rat anti-CD326, 1:250, 14579181, Invitrogen). Trois lavages dans du PBS pendant 5 minutes sont réalisés. Les tissus sont incubés avec la solution d'anticorps secondaires diluée dans du PBS (Phalloïdine, 1:250, 30972, Millipore Sigma; Cy3 anti-Rabbit, 1:400, 711165152, Jackson Laboratories; Cy2 anti-Rabbit, 1:400, 712225153, Jackson Laboratories) pendant 2 heures. Les tissus sont rincés trois fois dans le PBS. Ensuite, les tissus sont incubés une minute dans le 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) et rincés pendant 5 minutes. Finalement, les lames sont enduites de ProLong Diamond Antifade Mountant (Invitrogen) et recouvertes d'une lamelle. En microscopie, l'acquisition de 16 images de tranche intestinale d'une profondeur de 0.25µm pour un total de 4µm a été réalisée à l'aide du microscope Axio Observer M2 avec un objectif de 40x (Carl Zeiss).

2.3.9 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel GraphPad version 9.3.1 (GraphpadSoftware Inc.). Les données ont été vérifiées pour leur normalité et l'homogénéité des variance par le test de Shapiro-Wilk et de Levene respectivement. Le test-t faisait intervenir le test Mann-Whitney U. Toutes les analyses ont été fait avec un $p < 0.05$. Les ANOVAs utilisaient des t-test avec la correction de Bonferroni avec un $\alpha = 0.01$. Le type de test utilisé est indiqué sous chacune des figures. Les analyses de corrélation ont faire intervenir le test de Pearson. Les valeurs de p obtenu suivent ce format : ns : $P > 0.05$; * $P \leq 0.05$, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$.

2.4 Résultats

2.4.1 L'environnement enrichi augmente la résilience dans le contexte d'un stress social chronique chez la souris

Pour établir l'effet des stratégies préventives dans le contexte du stress chronique, nous avons tout d'abord eu recours à l'environnement enrichi, un paradigme animal mimant un milieu socio-économique amélioré chez l'humain. Les souris B6 sont soumises à l'agression par une nouvelle souris CD1 agresseur, 5 minutes par jour pendant 10 jours consécutifs. Lors de la phase sensorielle, c'est-à-dire pendant le reste du temps après la CSDS, l'accès à de l'enrichissement structurel a été offert sous la forme de matériel de nidification, d'une maisonnette et d'un jouet à gruger en nylon. À la fin de la dernière de CSDS, les souris sont hébergées individuellement dans une cage standard uniquement avec le matériel de nidification. Au 11^e jour, les souris sont soumises au test d'interactions sociales qui permet de déterminer le phénotype comportemental au stress social, soit la susceptibilité où la souris démontre de l'évitement social ou encore la résilience où l'animal ne démontre pas d'évitement social. Les souris susceptibles au stress (SS) évitent plus souvent la zone d'interaction et évitent de se retrouver à proximité de l'agresseur, qu'elles peuvent apercevoir dans la cage en grillage, en restant dans les coins (**fig. 9c**). Les souris résilientes, au contraire, vont passer plus de temps dans la zone d'interaction, délimitée autour de la cage de grillage où se trouve l'agresseur, et seront moins portées à rester dans les coins. Le test d'interactions sociales des souris ayant eu accès au milieu enrichi lors de la CSDS révèle que 66% (n =24) des souris sont résilientes suite à la défaite sociale comparativement à 33% (n=12) de souris susceptibles au stress (**fig. 9a, b**). Ce ratio est calculé en divisant le temps dans la zone d'interaction en présence de l'agresseur par le temps dans la zone d'interaction en absence de l'agresseur (**fig. 9d, e**). En comparaison à une défaite sociale régulière où aucun matériel d'enrichissement n'est présent, on obtient habituellement un ratio de 40% de souris résilientes et de 60% susceptibles au stress²³². Ainsi, l'enrichissement structurel pourrait diminuer le phénotype de la susceptibilité induite par des conditions de stress chronique. Le temps passé dans les coins en présence de l'agresseur est un indicateur du comportement d'évitement social associé aux comportements anxieux²³³. Nous avons observé que le groupe de souris susceptibles au stress démontre une différence significative du temps passé dans les coins en présence de l'agresseur en comparaison au groupe résilient au stress. Toutefois, cette différence n'est pas observée lorsque l'agresseur n'est pas présent lors du test de SI (**fig. 9f, g**). La mesure locomotion lors du test SI est utilisée afin de vérifier si les attaques de l'agresseur lors de la CSDS ont engendré des blessures ou des troubles moteurs qui pourraient biaiser les résultats du SI. Ici, nous voyons qu'il n'y a pas de différences significatives entre les groupes pour la distance parcourue dans l'arène (open field) (**fig. 9h**). Ceci indique que les souris n'ont pas de problèmes de mobilité et qu'aucune cause

externe n'a biaisé le résultat du SI. Ainsi nous pouvons affirmer que l'introduction de l'enrichissement structurel comme stratégie préventive permet d'augmenter la résilience au stress en comparaison aux conditions normales du modèle de la CSDS.

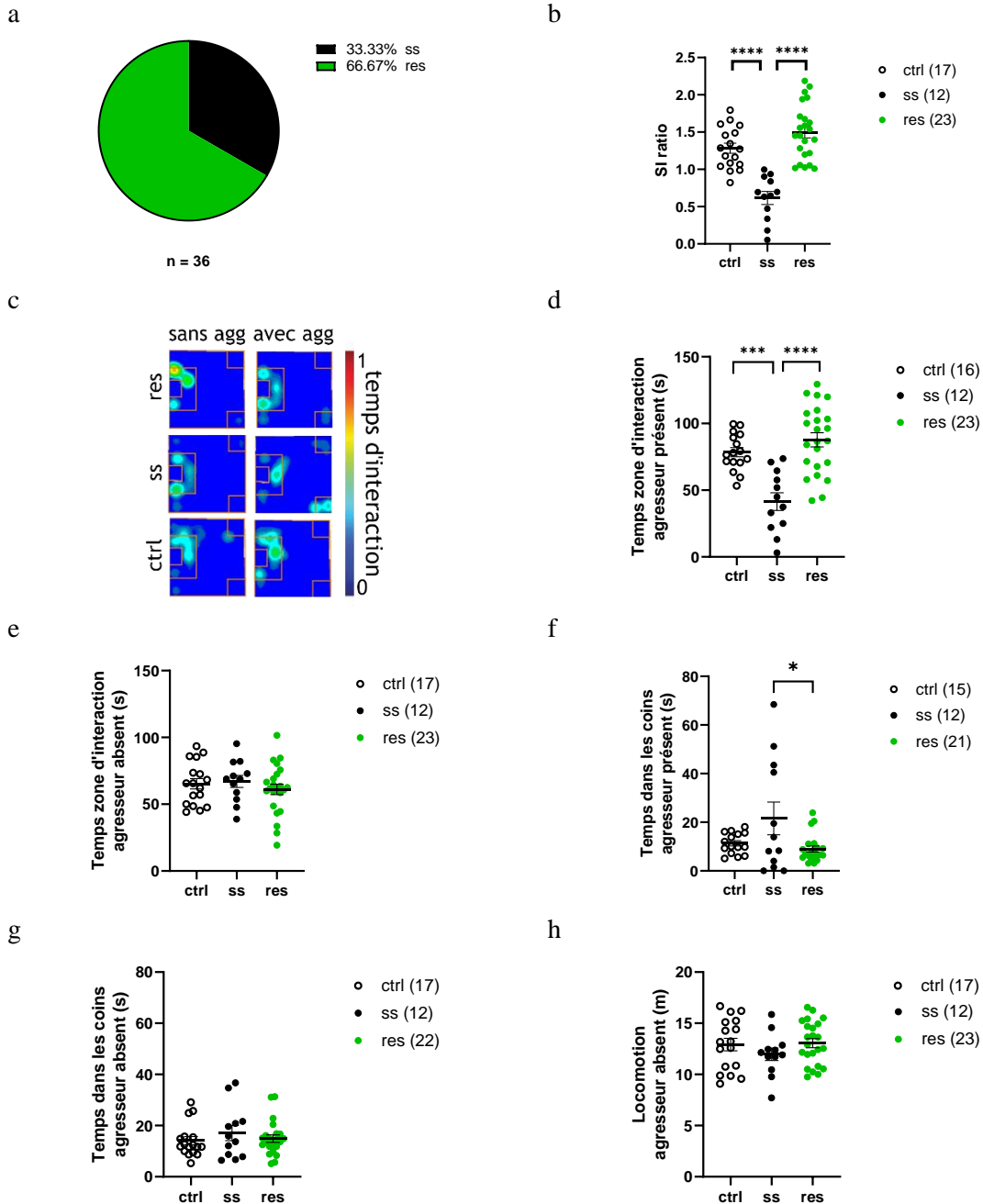


Figure 9. L'enrichissement structurel promeut la résilience au stress chronique

a. Proportion des souris susceptibles ou résilientes au stress après la CSDS avec enrichissement structurel (EE) suite au test d'interactions sociales. **b.** Ratio d'interactions sociales (SI ratio) où le groupe contrôle non stressé (CTRL) sert de comparaison aux animaux stressés susceptibles (présentant un SI ratio < 1 (SS)) et résilients (présentant un SI ratio > 1 (RES)) (one-way ANOVA, $F(2, 49) = 29.23$; Bonferroni **** $P < 0.0001$; $n = 17$ ctrl, 12 ss, 23 res). **c.** Carte thermique représentant le temps d'interaction normalisé pendant le test SI. **d-e.** Les souris SS passent moins de temps dans la zone d'interaction quand l'agresseur est présent comparé aux souris RES et CTRL (c) (one-way ANOVA, $F(2, 48) = 18.24$; Bonferroni *** $P < 0.0002$, < 0.0001 , $n = 16$ ctrl, 12 ss, 23 res) qu'en absence de l'agresseur (d). **f-g.** Temps passé dans les coins de l'arène en présence (e) ou en absence (f) de l'agresseur (one-way ANOVA: $F(2, 45) = 4.109$; Bonferroni * $P < 0.0230$; $n = 15$ ctrl, 12 ss, 21 res). **h.** Aucune différence significative dans la locomotion (one-way ANOVA: $F(2, 49) = 0.9812$; $P = 0.3821$; $n = 17$ ctrl, 12 ss, 23 res). La barre d'erreur représente la moyenne \pm SEM. Chaque point représente une souris.

2.4.2 L'habitation à l'activité physique est nécessaire à la standardisation inter-groupe

L'introduction d'un paradigme comme l'exercice physique volontaire nécessite plus de préparation que l'enrichissement structurel. L'animal a besoin d'une phase d'adaptation qui lui permet de s'habituer à la présence d'une roue d'exercice ainsi qu'à son utilisation. N'ayant tout d'abord pas considéré cet aspect important, nous avons mené une étude pilote de CSDS sur une petite cohorte de souris où nous avons introduit la roue d'activité physique au premier jour de la CSDS. Suite au paradigme, nous avons remarqué que les souris subissant le stress (STR) présentaient une diminution significative de la distance moyenne parcourue dans les 5 premiers jours de CSDS en comparaison aux souris contrôle (CTRL) (**fig. 10a**). Suite au test SI, nous avons remarqué une diminution significative de la distance moyenne totale parcourue entre les souris susceptibles (SS) en comparaison au groupe contrôle (CTRL) (**fig. 10b**). De plus, le haut taux de souris susceptibles montre que le manque d'habitation pointe vers un effet négatif ce qui nous laisse croire que le développement du phénotype de susceptibilité au stress a un lien avec la distance parcourue par les souris. Toutefois, cette observation n'est pas confirmée par la mesure corrélationnelle, car la distance parcourue en fonction du ratio SI est expliquée uniquement par 21% (**fig. 10c**). Une composante supplémentaire qui pouvait influencer les résultats obtenus était l'orientation des roues d'exercice physique. Lors de l'étude pilote, les souris CD-1 avaient la possibilité d'essayer d'attaquer les souris B6 au travers du diviseur perforé pendant l'activité physique, ce qui pouvait influencer le temps d'utilisation des roues, la distance parcourue et le fort pourcentage de souris SS tel que soulevé. Ainsi nous avons apporté les changements suivants au protocole de CSDS. Tout d'abord, nous avons introduit la roue d'exercice pendant la période d'acclimatation des souris avant le début de la CSDS et ce afin de les familiariser avec l'équipement. Ensuite, nous avons orienté la roue d'exercice afin d'éviter les morsures de la souris B6 par la souris CD-1 lors de l'exercice physique. Grâce à ces ajouts, nous avons remarqué une nette amélioration dans la distance parcourue par le groupe subissant le stress en plus de diminuer la différence de la distance parcourue entre les groupes (**fig. 10d**). On observe que le groupe contrôle et les sous-groupes SS et RES parcourent une distance similaire en plus d'être augmentés de façon considérable à environ 15km/jour après une période d'habitation (**fig. 10e**). Finalement, l'analyse corrélationnelle entre la distance moyenne parcourue et le ratio SI montrent qu'il n'y a pas d'effet du ratio social sur la distance parcourue (**fig. 10f**). Ceci indique donc que la distance parcourue chez les souris CTRL et STR est comparable suite à l'habitation avec les roues d'exercice et donc qu'elle n'est pas en relation directe avec le phénotype comportemental développé suite à la CSDS.

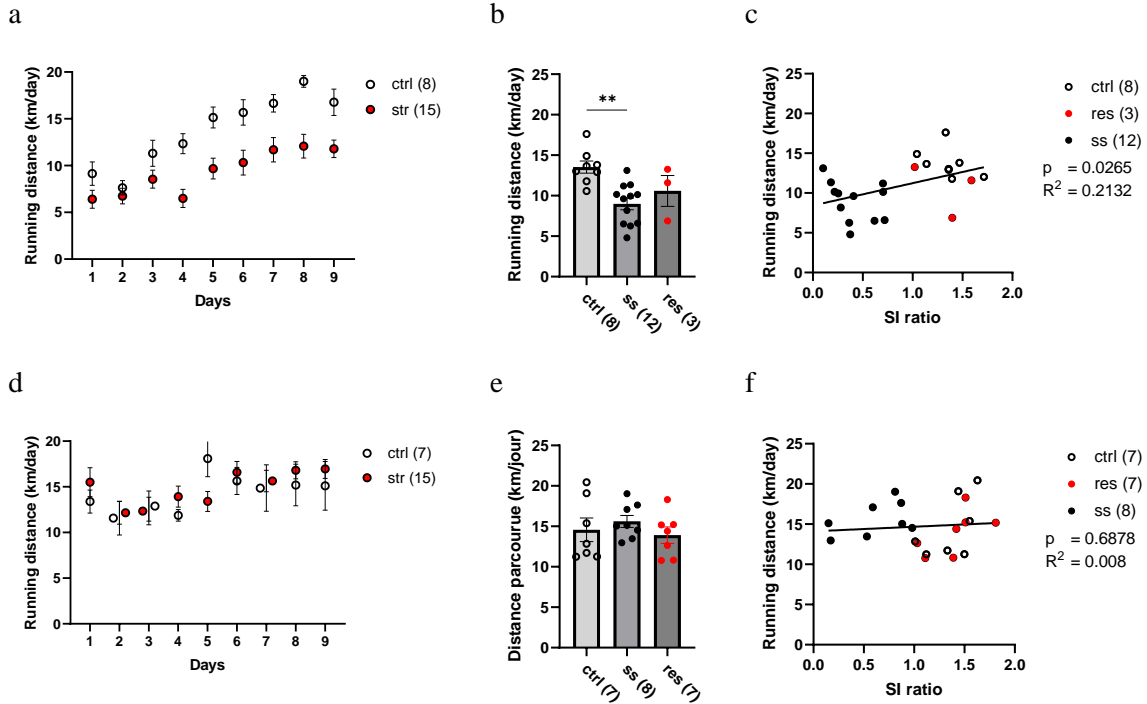


Figure 10. L'habitation à la roue d'exercice physique diminue la disparité des résultats inter-groupe.

a. Mesure de la distance parcourue sur les roues d'exercice en fonction du jour de la défaite sociale sans habitude à la roue d'exercice entre les souris non stressées (ctrl) et stressées (str) (two-way ANOVA : $F(1,189) = 60.82$; Groupes $p < 0.0001$). **b.** Distance moyenne parcourue en fonction des souris non stressées (ctrl), et les souris susceptibles au stress (ss) et les souris résilientes (res) sans habitude à la roue d'exercice (one-way ANOVA: $F(2, 20) = 8.155$; Bonferroni $**p < 0.002$; $n = 8, 12, 3$). **c.** Corrélation du ratio SI en fonction de la distance moyenne parcourue entre le groupe ctrl, ss et res sans habitude à la roue d'exercice ($p < 0.0265$, Pearson $R^2 = 0.2135$). **d.** Mesure de la distance parcourue sur les roues d'exercice en fonction du jour de la défaite sociale avec habitude à la roue d'exercice (two-way ANOVA ($F(8, 172) = 0.8842$; Groupes $p = 0.5311$). **e.** Distance moyenne parcourue en fonction des souris non stressées (ctrl), et les souris susceptibles au stress (ss) et les souris résilientes (res) avec habitude à la roue d'exercice (one-way ANOVA : $F(2, 19) = 0.6413$, Bonferroni $p = 0.5377$). **f.** Corrélation du ratio SI en fonction de la distance moyenne parcourue entre le groupe ctrl, ss et res avec habitude à la roue d'exercice ($p = 0.6878$, Pearson $R^2 = 0.008$). La barre d'erreur représente la moyenne \pm SEM.

2.4.3 L'activité physique est efficace afin de prévenir l'apparition des comportements de type dépressifs chez la souris ayant subi une défaite sociale chronique

Pour caractériser le développement de la résilience au stress par l'accès à l'activité physique volontaire (VWR) dans le contexte du stress chronique, nous avons introduit une roue d'exercice avec compteur dans la cage de la souris B6 lors de la phase sensorielle. Nous avons pris soin de procéder à une phase d'habituation des souris à la roue d'exercice, 5 jours avant le début de la CSDS. Tous les jours, les souris B6 ont eu accès aux roues d'exercice lorsqu'elles n'étaient pas en période de CSDS et chaque souris a conservé sa propre roue tout au long de l'expérience. Au terme des 10 jours de CSDS, les souris ont été hébergées individuellement dans des cages standards sans leur roue d'exercice due à une contrainte spatiale. Le test d'interactions sociales a été réalisé au 11^e jour tel que décrit dans la section méthode. Le test d'interactions sociales révèle que l'accès à l'activité physique permet d'obtenir un nombre équivalent de souris résilientes (50%, n = 15) que de souris susceptibles au stress (50%, n = 15) (**fig. 11a**). Ainsi, l'activité physique volontaire permettrait de prévenir du moins en partie le phénotype de susceptibilité induit par le stress chronique et d'obtenir une différence significative dans le ratio SI des souris SS par rapport aux souris RES et CTRL (**fig. 11b**). Le ratio SI est calculé en divisant le temps dans la zone d'interaction en présence de l'agresseur par le temps dans la zone d'interaction en absence de l'agresseur (**fig. 11d, e**). En comparaison à une CSDS standard, ne contenant pas de matériel d'exercice physique et où l'on obtient habituellement un ratio de 40% de souris résiliente et de 60% de souris susceptibles au stress, l'exercice physique pourrait être efficace dans la diminution du phénotype de la susceptibilité induite par des conditions de stress chronique¹⁹⁵. Le temps passé dans les coins en présence de l'agresseur est un indicateur du comportement d'évitement social associé aux comportements anxieux. Nous avons observé que le groupe des souris susceptibles au stress démontre une différence significative du temps passé dans les coins en présence de l'agresseur en comparaison au groupe résilient au stress (**fig. 11c**). Cependant, cette différence n'est pas observée lorsque l'agresseur est absent lors du test de SI (**fig. 11f, g**). La mesure de locomotion lors du test SI est utilisée afin de vérifier si les attaques de l'agresseur pendant la CSDS a engendré des troubles moteurs et par le fait même diminué la fiabilité du test d'interactions sociales. Quand l'agresseur est absent, il n'y a pas de différences significatives entre les groupes ce qui n'indique aucun trouble moteur (**fig. 11h**). Ainsi, nous pouvons confirmer que l'introduction de l'activité physique volontaire comme stratégie préventive par l'augmentation du phénotype résilient au stress dans le modèle de la CSDS.

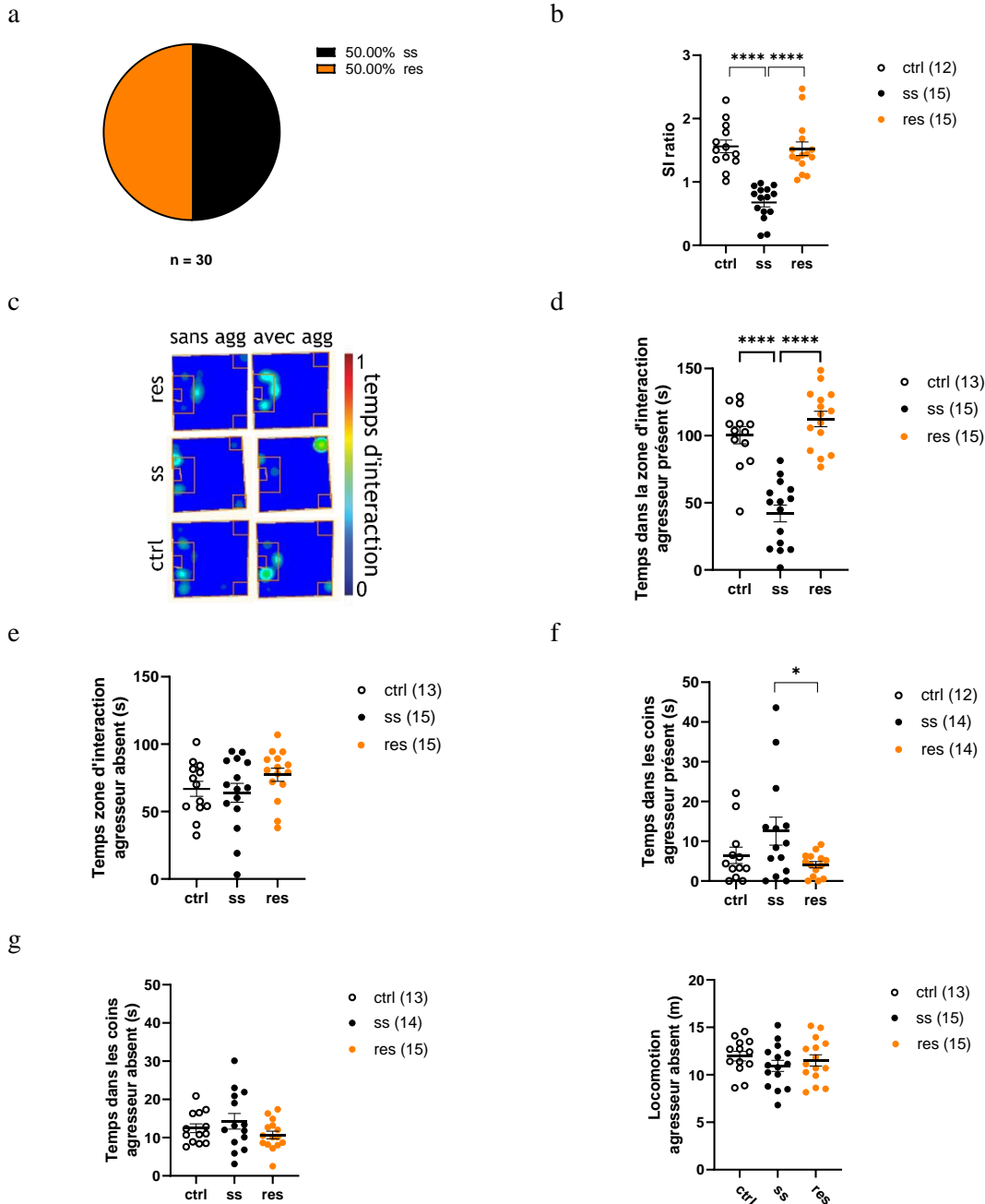


Figure 11. L'activité physique volontaire promeut la résilience au stress chronique.

a. Proportion des souris susceptibles ou résilientes au stress après la CSDS avec exercice physique volontaire (VWR) suite au test d'interactions sociales. **b.** Ratio d'interactions sociales (SI ratio) où le groupe contrôle non stressé (CTRL) sert de comparaison aux animaux stressés susceptibles (présentant un SI ratio < 1 (SS)) et résilients (présentant un SI ratio > 1 (RES)) (one-way ANOVA, $F(2, 40) = 29.52$; Bonferroni $****P < 0.0001$; $n = 12$ ctrl, 15 ss, 15 res). **c.** Carte thermique représentant le temps d'interaction normalisé pendant le test SI. **d-e.** Les souris SS passent moins de temps dans la zone d'interaction quand l'agresseur est présent comparé aux souris RES et CTRL (c) (one-way ANOVA: $F(2, 37) = 3.335$; Bonferroni $*P < 0.0428$; $n = 12$ ctrl, 14 ss, 14 res) qu'en absence de l'agresseur (d). **f-g.** Temps passé dans les coins de l'arène en présence (e) ou en absence (f) de l'agresseur (one-way ANOVA, $F(2, 40) = 38.93$; Bonferroni $****P < 0.0001$, $n = 13$ ctrl, 15 ss, 15 res). **h.** Aucune différence significative dans la locomotion (one-way ANOVA : $F(2, 39) = 0.9842$; Bonferroni $P = 0.3828$, $n = 13$ ctrl, 15 ss, 14 res). La barre d'erreur représente la moyenne \pm SEM. Chaque point représente une souris.

2.4.4 La distance parcourue sur les roues d'exercice ne permet pas de prédire la susceptibilité ou la résilience au stress chronique

Après avoir démontré que l'exercice physique pouvait modifier le phénotype comportemental dans le contexte de la CSDS, nous nous sommes intéressés à savoir si le niveau d'exercice physique pouvait prédire la susceptibilité ou la résilience au stress. En effet, selon une étude de Zhang et al., il serait possible de déterminer le phénotype comportemental d'un animal dans le contexte de la CSDS en fonction de la quantité d'exercice physique de base qu'ils réalisent²³⁴. En analysant les données de distances parcourues pour chacun des groupes, nous avons pu établir que les souris susceptibles et résilientes n'avaient pas de différence significative entre la distance parcourue (**fig. 12a**). Ceci nous indique que la distance minimale journalière parcourue se normalise au travers d'un paradigme de défaite sociale. Ensuite, grâce à la corrélation des données comportementales (ratio SI) avec la distance moyenne parcourue, nous pouvons voir que l'effet de l'exercice physique sur le phénotype comportemental permet d'expliquer 2% du phénomène que l'on observe (**fig. 12b**). Ceci indique donc que la quantité d'activité physique ne corrèle pas avec le phénotype comportemental obtenu lors du SI. Le temps passé dans les coins en présence de l'agresseur est une mesure couramment utilisée pour mesurer l'anxiété des souris. En mesurant la corrélation entre le temps passé dans les coins en présence de l'agresseur et la distance moyenne parcourue, nous observons un coefficient de 0.1412 permettant donc d'expliquer 14% du phénotype (**fig. 12c**). Ainsi, la quantité d'exercice physique aurait plutôt un effet sur le comportement anxieux, comme le temps passé dans les coins, plutôt que le développement d'un comportement prosocial dans le contexte de la défaite sociale. En bref, la distance moyenne parcourue ne pourrait pas nécessaire prédire le phénotype comportemental dans le contexte de la CSDS.

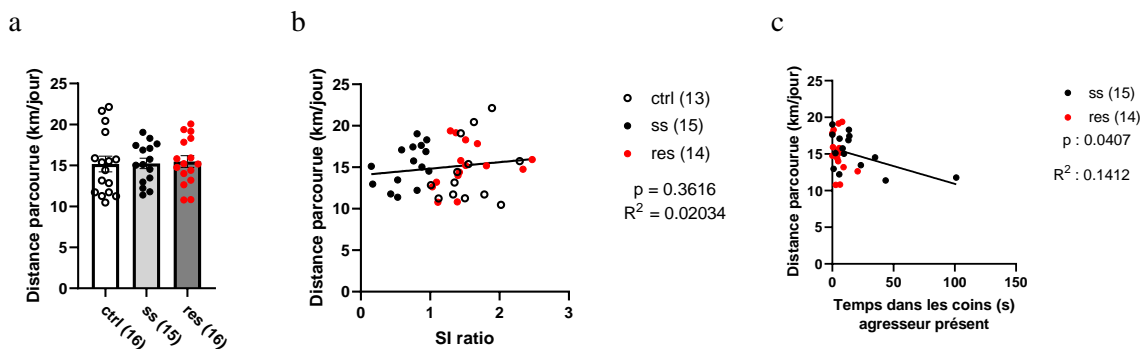


Figure 12. La distance moyenne parcourue ne prédit pas le phénotype comportemental dans la CSDS
a. Distance moyenne parcourue en fonction des souris non stressées (CTRL), et les souris susceptibles au stress (ss) et les souris résilientes (res) pendant la CSDS avec roue d'exercice (one-way ANOVA: $F(2, 44) = 0.03962$; Bonferroni $P = 0.9612$; $n = 16$ ctrl, 15 ss, 16 res). **b.** Corrélation du ratio SI en fonction de la distance moyenne parcourue entre les groupes ctrl, ss et res ($p < 0.3616$, $R^2 = 0.02034$). **c.** Corrélation du temps dans les coins quand l'agresseur est présent en fonction de la distance moyenne parcourue entre les souris susceptibles et résiliente au stress ($p = 0.0407$, $R^2 = 0.1412$).

2.4.5 Le stress chronique induit par la CSDS module l'expression transcriptionnelle des protéines de jonctions serrées de la barrière intestinale du jéjunum

Afin d'évaluer l'impact du stress chronique sur l'intégrité de la barrière intestinale et de déterminer son implication possible dans la pathophysiologie de la dépression, nous avons procédé à l'analyse transcriptionnelle des gènes constituant la barrière intestinale. L'application du stress chronique sur un organisme entraîne des changements fonctionnels par l'activation de systèmes tels que l'axe HPA ou modifie le comportement de cellules constituant un organe comme l'intestin^{110,235}. Une meilleure compréhension des mécanismes d'adaptation aux stressseurs pourrait permettre d'inférer les mécanismes sous-jacents qui expliquent la régulation et la maintenance de l'homéostasie. Pour comprendre le comportement physiologique de l'intestin, nous nous sommes attardées à la composition des protéines de jonction serrées du jéjunum, car elle est une région hautement vascularisée qui est centrale dans l'absorption de nutriment et ainsi le bon maintien de l'homéostasie. Ces protéines régulent directement l'intégrité et la perméabilité de la barrière intestinale. Les gènes d'intérêt que nous avons ciblés sont les claudines-2, -3, -7, -12 et -15 ainsi que les trois isoformes des ZO, l'occludine et la tricelluline. Vingt-quatre heures après le test d'interactions sociales, nous avons collecté les poinçons du jéjunum afin d'y mesurer les changements transcriptionnels. L'ARNm des tissus a été extrait et transformé en ADNc et ensuite l'expression des gènes cibles a été mesurée en PCR quantitative. Comme détaillé dans la section précédente, la méthode de Livak a été utilisée pour déterminer l'expression de gènes dans l'intestin des différents groupes de souris. Le groupe de souris contrôle (CTRL) qui n'était pas stressé servait de référence et le gène de l'Actine β (*Actb*) servait de contrôle endogène.

En comparant entre les groupes susceptibles au stress (SS) et résilients (RES) au groupe contrôle non-stressé au sein d'une même condition (EE ou VWR), il est possible d'observer des différences dans l'expression transcriptionnelle des protéines de jonctions serrées (**fig. 13**). Dans la CSDS régulière, l'expression de la *Cldn2* est diminuée chez les souris SS et elle augmente chez les souris RES (**fig. 13a**). D'autre part, on note une augmentation significative de la *Cldn3* chez les souris RES (**fig. 13a**). Puis, une tendance vers la diminution est observée chez les souris SS et une tendance vers l'augmentation chez les souris RES pour *Zo3* en comparaison avec le groupe contrôle (**fig. 13a**). Dans la CSDS avec l'enrichissement structurel (CSDS + EE), on note une augmentation significative de la *Cldn12* et de *Zo3* chez les souris SS (**fig. 13b**). Quant aux souris RES remarque une tendance à l'augmentation de l'expression de *Marveld2* (**fig. 13b**). Dans la CSDS avec accès à l'exercice volontaire (CSDS + VWR), seul le groupe RES voit une augmentation de l'expression transcriptionnelle de *Cldn2* (**fig. 13c**).

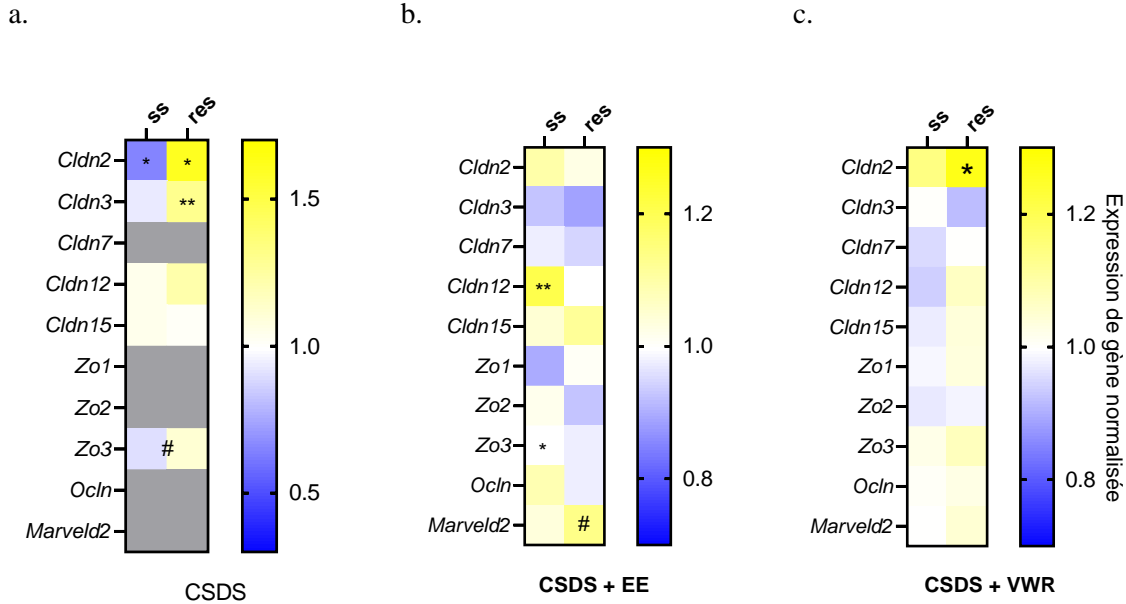


Figure 13. Le stress chronique induit par la CSDS module l'expression transcriptionnelle des protéines de jonctions serrées de la barrière intestinale du jéjunum.

a. Changements transcriptionnels en PCR quantitative au niveau du jéjunum selon les paradigmes de la défaite sociale (CSDS) en fonction de la susceptibilité au stress (ss) ou de la résilience (res) **b.** Changements transcriptionnels en PCR quantitative au niveau du jéjunum de la défaite sociale avec enrichissement structurel (CSDS + EE) **c.** Changements transcriptionnels en PCR quantitative au niveau du jéjunum de la défaite sociale avec accès libre à la roue d'exercice (CSDS + VWR). Le niveau d'expression transcriptionnelle augmentée est représenté par la couleur jaune tandis qu'une expression diminuée est représentée par la couleur bleue. Ces niveaux d'expression sont normalisés par rapport au gène conservé de *l'Actb* et du groupe de souris contrôle qui n'a pas subi le stress. Les segments en gris n'ont pas été mesurés. (t-test; #: $0.05 > P > 0.1$, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$; $n = 12-15$).

2.4.6 Le stress chronique module l'intégrité des protéines de jonctions serrées de la barrière intestinale

En complément au deuxième objectif, il est nécessaire d'évaluer l'expression protéique en immunohistochimie puisqu'elle n'est pas toujours garante de la direction de l'expression transcriptionnelle. Pour caractériser l'intégrité de la barrière intestinale, nous avons eu recours à la préparation du jéjunum par la méthode du rouleau suisse (*swiss roll*) qui permet une visualisation complète et détaillée du segment de l'intestin.

Tel que décrit précédemment, le segment a été traité en immunofluorescence pour évaluer la force d'expression de la *Cldn3* et de son interaction avec le cytosquelette d'actine. Dans cette partie de l'étude, nous avons optimisé le protocole de récolte des intestins pour observer l'expression des protéines de jonctions serrées intestinales. Pour y parvenir, nous avons uniquement imagé l'intestin dans le contexte de l'exercice physique sans avoir fait de comparaison entre les groupes contrôle et stress.

En se basant sur les résultats obtenus au niveau transcriptionnel, la transcription de *Cldn3* était significativement augmentée chez les souris résilientes par rapport aux souris non stressées dans la CSDS régulière. Ce qui nous a mené à croire que la réponse dans le jéjunum pourrait favoriser la résilience par l'augmentation de l'expression d'une claudine étanche, la *Cldn3*, ce qui aurait pour effet de diminuer la perméabilité intestinale et ainsi prévenir la propagation de la réponse inflammatoire induite par le stress chronique. Ensuite en immunohistochimie, nous avons ciblé l'étude organisationnelle de la *Cldn3* en relation avec l'actine- β marquée à la phalloïdine, une toxine qui provient de l'amanite phalloïde se liant au cytosquelette d'actine, et nous avons marqué les noyaux cellulaires avec le DAPI. L'image présentée à la figure 14 montre une crypte de jéjunum. Il est possible de voir que l'expression de la *Cldn3* prend une forme linéaire (**pointes de flèches blanches, fig. 14**). Selon une étude récente, la forme que prennent les jonctions serrées pourrait déterminer la perméabilité paracellulaire intestinale²³⁶. D'une part, la forme linéaire indique une perméabilité réduite, voire étanche. En contrepartie, si l'agencement des claudines sont ondulées ou hérissées, ceci indiquerait une perte d'intégrité et donc une augmentation de la perméabilité paracellulaire. Malheureusement, dans notre cas, nous n'avons pas pu arriver à terme avec la compilation des données. Ne nous pouvons donc pas prononcer de verdict quant à la modulation occasionnée par l'introduction de l'environnement enrichi.

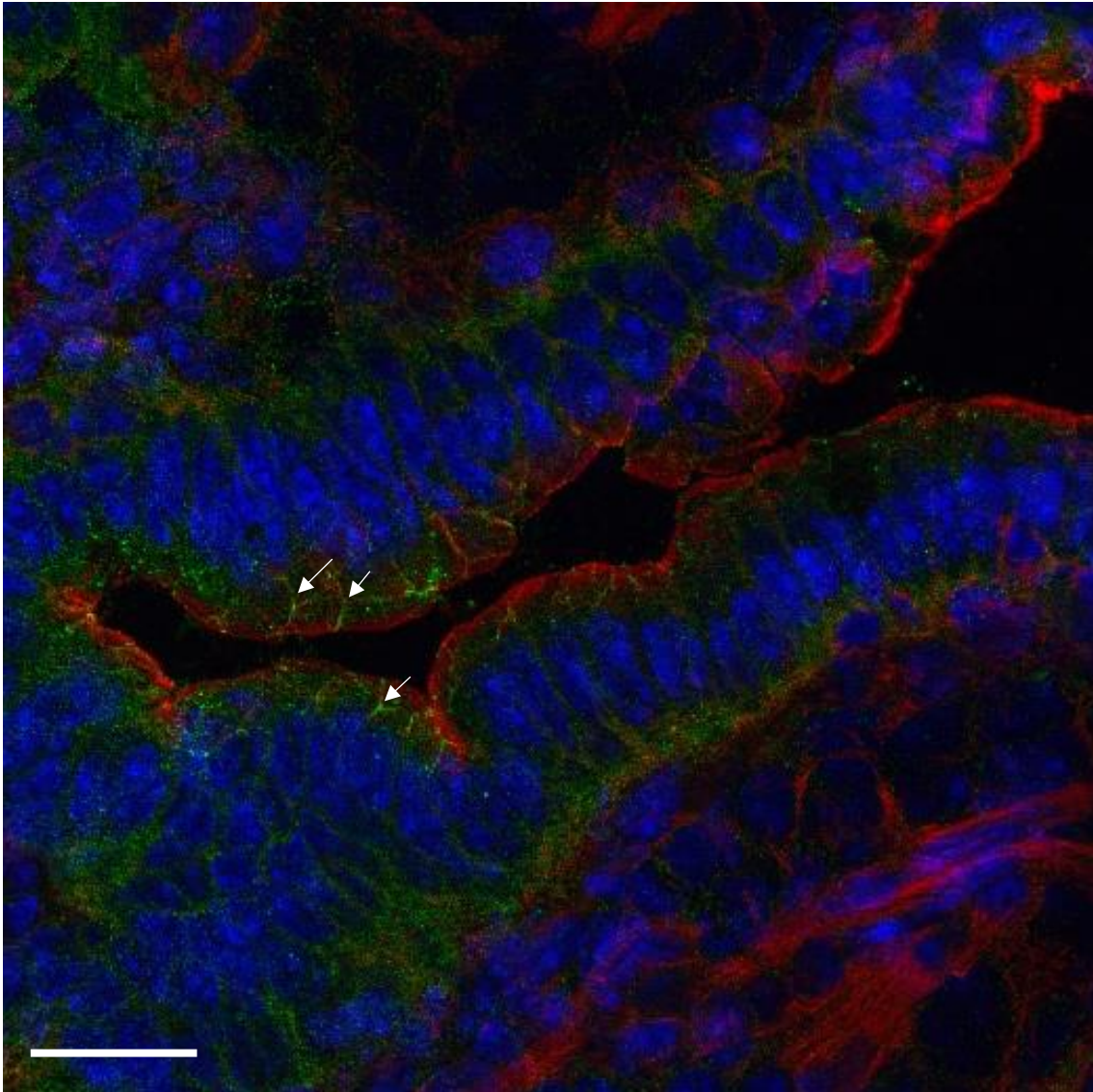


Figure 14. Protéines de jonction serrées en immunofluorescence dans une crypte du jéjunum d'une souris ayant reçu de l'enrichissement structurel.

La coloration bleue représente les noyaux cellulaires (DAPI), la coloration verte représente la CLDN3 (Cy3) et la coloration rouge représente les filaments d'actine (Cy5). Objectif 40x. Barre de mesure = 50µm.

Chapitre 2 – Discussion

Au sein de mon mémoire, il a été question d'évaluer la mitigation du stress chronique via les stratégies préventives dans le modèle de la défaite sociale. Puis au sein du même contexte d'étudier l'intégrité de la barrière intestinale. Le premier objectif a permis de démontrer que l'introduction de stratégies préventives, sous la forme d'enrichissement structurel et d'activité physique volontaire, pourrait réduire les comportements dépressifs développés dans le modèle de la défaite sociale. De manière générale, ce modèle induit de l'anhédonie, de l'évitement social et de l'anxiété^{61,233}. Ces comportements sont mesurés par le test d'interactions sociales qui permet d'obtenir deux sous-populations dites susceptibles au stress ou résilientes. Sans les stratégies préventives, ce modèle nous permet d'obtenir un ratio de 60% de souris susceptibles et 40% de souris résilientes. Lorsque nous introduisons de l'enrichissement structurel, ce ratio est renversé en passant de 30% susceptibles pour 70% résilient. Dans le cas de l'exercice physique, ce ratio se trouve à 50% pour les deux groupes. Ces résultats sont validés par l'absence de trouble de locomotion, et une différence significative du temps passé dans les coins entre les souris résilientes et les souris susceptibles. Cependant, nos résultats indiquent que la quantité d'exercice physique n'a pas d'influence sur le phénotype comportemental. Ainsi nous pouvons affirmer que les stratégies préventives sont pertinentes dans la mitigation de la susceptibilité au stress chronique et le développement de la résilience. Comme second objectif, grâce au modèle de la CSDS, il a été possible d'évaluer les implications physiologiques et moléculaires de la barrière intestinale au niveau transcriptionnel dans le contexte du stress chronique. Plus précisément, nous avons ciblé l'expression transcriptionnelle et protéique des protéines de jonctions serrées qui servent à relier les cellules composant un tissu biologique. Selon les stimuli physiologiques leur expression variera et la barrière intestinale sera plus perméable ou plus étanche pour s'adapter au stress. Nos résultats indiquent que l'expression transcriptionnelle est modulée dans le contexte du stress chronique et que l'introduction de stratégies préventives pour mitiger les effets du stress chronique permet de moduler cette expression. Par exemple, la *Cldn3* est exprimée chez les souris résilientes dans le contexte du stress chronique, mais dans les stratégies préventives celle-ci est diminuée. Par la suite, pour valider l'expression protéique nous avons établi un protocole d'immunohistochimie, sans toutefois arriver à établir une analyse de corrélation d'expression. Pour y parvenir, il aurait fallu acquérir une grande quantité d'image en immunofluorescence des jonctions serrées et ce sur une grande profondeur. L'acquisition des images pouvait prendre des heures et ne pas être fonctionnelles pour le logiciel d'analyse d'image. Par contre, une nouvelle stratégie par l'apprentissage machine serait envisageable pour analyser un grand nombre de données²³¹.

Il est donc possible d'affirmer que les stratégies préventives pourraient être efficaces dans la mitigation des comportements dépressifs dans le modèle de la CSDS. Cependant, il est important d'investiguer d'autres mécanismes qui permettraient de comprendre les implications physiologiques sous-jacentes et ainsi permettre le développement de solutions novatrices dans la mitigation et la prévention du trouble dépressif majeur. Les sections subséquentes traiteront des résultats obtenus et présenteront des pistes d'interprétation des résultats concernant l'enrichissement structurel, l'activité physique volontaire, les problématiques liées à la standardisation de l'enrichissement, l'étude de la barrière intestinale et finalement la considération de différences sexuelles dans d'éventuelles études.

3.1 Enrichissement structurel augmente la résilience dans la CSDS

De façon générale, la modification d'un modèle animal nécessite de valider les comportements pour s'assurer que les mesures comportementales sont légitimes. Par exemple, l'anhédonie est mesurée par le test de la préférence au sucrose ou le désespoir est mesuré par le test de nage forcée ou la suspension par la queue^{237,238}. Puisque l'environnement enrichi et l'exercice physique ne sont pas des modifications chirurgicales ou génétiques et que nous voulions étudier l'impact physiologique direct du stress chronique sur les animaux, nous n'avons pas ajouté de mesures comportementales puisque plus longtemps dure un protocole, plus il y a de modifications physiologiques qui s'opèrent. Des études subséquentes seront poursuivies par le laboratoire pour mieux saisir les impacts des stratégies préventives sur la BHE. Ceux-ci nécessiteront plusieurs tests comportementaux pour valider les effets positifs.

De manière générale, nous nous attendions à ce que l'enrichissement structurel permette de diminuer l'anxiété chez les animaux. D'une part, nos données corroborent que l'enrichissement structurel par la présence de matériel de nidification permet de diminuer les comportements anxieux. Selon Otabi et al., dans un modèle modifié de la CSDS, ils notent qu'un délai dans la construction du nid dans les vingt-quatre premières heures peut prédire la susceptibilité au stress chronique²³⁹. Toutefois, dans notre propre étude, les animaux parvenaient à mettre en place le matériel de nidification dès le premier jour de la CSDS. Il est donc difficile de prédire la susceptibilité au stress chronique uniquement sur un aspect de construction. D'autre part, selon Delanogare et al. dans le contexte d'injection chronique de glucocorticoïdes, imitant le stress chronique, l'introduction de l'EE permet d'atténuer les comportements anxieux²⁴⁰. Il aurait été intéressant de mesurer les niveaux de glucocorticoïdes avant et après la défaite sociale pour vérifier l'impact physiologique du stress chronique par l'entremise d'un essai immuno-enzymatique (ELISA). Finalement, Lehmann et al. a introduit de l'environnement enrichi, constitué de cages de dimensions supérieures, de matériel de nidification, de roues d'exercices ainsi que des tubes de plastique, avant de faire subir la CSDS à des souris²⁴¹. Leur résultats

montrent que les souris ayant accès à l'EE présente une diminution du temps immobile dans le test de nage forcée et du test de suspension par la queue ainsi qu'une augmentation du temps passé en présence d'un nouvel agresseur CD-1 dans le test d'interactions sociales, indiquant que l'enrichissement structurel a un effet dans le développement de la résilience au stress chronique²⁴¹.

3.2 L'exercice physique augmente la résilience dans la CSDS

Dans le contexte de l'activité physique, il est important de considérer que l'animal a besoin d'un temps d'adaptation pour parvenir à accomplir la tâche. En introduisant l'exercice physique directement pendant la défaite, les animaux stressés présentaient une diminution significative de la distance parcourue en comparaison aux animaux non stressés^{209,234}. En contraste avec les études de l'exercice physique avec la CSDS, nous avons introduit l'exercice physique avant et pendant le stress chronique. Nous avons observé que suivant la ronde d'agression, les souris B6 montaient rapidement sur la roue d'exercice physique, montrant l'aspect motivationnel de la récompense associée avec l'activité physique.

En comparant nos résultats avec Zhang et al., nous avons aperçu que la distance moyenne parcourue ne pouvait pas prédire la susceptibilité au stress chronique ou résilience. En comparant nos protocoles, leurs 104 animaux étaient sujets à 3 jours d'activité physique volontaire pour mesurer l'activité de base, 3 jours où les roues étaient barrées et 3 jours où l'activité physique était mesurée pour déterminer deux sous-groupes, soit une haute activité basale ou une faible activité basale. Ensuite, ils ont pris 24 souris de chaque groupe et leur ont fait subir la CSDS. Selon leurs résultats, le groupe avec la faible activité basale en CSDS présentait 11 animaux susceptibles au stress chronique sur 12²³⁴. Une limitation de leur étude est qu'ils ne justifient pas la sélection des animaux qui subissent la défaite, pouvant causer un biais dans leurs résultats. Ceci se répercute sur la force réelle de l'affirmation que la susceptibilité au stress peut être prédite en fonction de la distance basale.

Dans l'aspect translationnel de l'exercice physique comme stratégie préventive, la distance moyenne parcourue de nos souris est de 15km/jour tandis que la littérature mentionne un maximum de 8km/jour²⁰⁸. En comparant cette distance à l'humain, il est évident que peu d'individus parcourent cette distance de façon journalière montrant que la translation du modèle animal à l'humain pour établir une ligne directrice claire pour mitiger les effets des comportements dépressifs est plutôt limitée, voire difficile^{242,243}. Toutefois, dans une revue de littérature menée par Wendy Suzuki, il est possible d'observer que l'introduction d'activité physique, comme le cyclisme, l'exercice aérobique et les entraînements par intervalle, d'environ une vingtaine de minutes permet d'apporter des adaptations physiologiques protectrices comme des changements cognitifs dans le PFC, une augmentation de l'état d'esprit positif (bien-être) et une diminution du stress perçu⁸⁸.

3.3 Standardisation de l'environnement enrichi

Dans un autre ordre d'idée, la standardisation de l'environnement devient une problématique qui demande des actions concrètes. Pendant plusieurs années, les détracteurs de l'environnement enrichi (EE) mentionnaient que cet ajout venait perturber la standardisation de l'environnement et par conséquent des standards déjà établis²⁴⁴. Cela se décline en deux rôles : d'une part, la standardisation a pour effet de réduire la variation intraexpérimentale, soit d'augmenter la sensibilité et ainsi réduire le nombre d'animaux nécessaire à l'expérience pour obtenir un effet. D'autre part, cela réduit la variation interexpérimentale qui permet d'augmenter la reproductibilité de l'expérience. Une étude menée par Wolfer en 2004 montre que trois groupes d'animaux dans trois laboratoires différents qui ont accès à l'environnement enrichi n'augmentaient pas la variation des résultats comportementaux¹⁹⁸. Une étude plus récente par Bailoo, répétant ces mesures, mais chez le modèle murin femelle, montre que les mesures d'anxiété, de croissance, de stress physiologique et les fonctions cérébrales ne sont pas significativement différentes des résultats obtenus par le groupe contrôle en fonction de coefficients de variation²⁴⁵.

De nos jours, plusieurs équipes de recherche ont recouru à l'environnement enrichi, sans toutefois offrir une description complète de leur matériel¹⁹⁹. La reproductibilité des expériences et le partage des méthodes scientifiques sont donc entravés parce qu'il n'est pas possible de répliquer fidèlement les conditions d'enrichissement. Des conditions comme l'accès à l'exercice physique, l'âge des animaux, la durée de l'enrichissement, les structures sociales et les conditions contrôles sont des métriques importantes à divulguer dans l'optique de partager la connaissance scientifique. De ce fait, Amanda Kentner propose dans sa revue de littérature un document pour décrire les conditions environnementales et permettre une meilleure réplification des conditions d'enrichissement au sein des expériences animales¹⁹⁹. Plus récemment, Kemperman propose qu'un phénotype moléculaire, physiologique ou comportemental s'explique en partie par la génétique et l'environnement. Quand la génétique est fixée, il est possible de contrôler l'environnement et de moduler les composantes changeantes spécifiques pour étudier leur implication dans la modulation des phénotypes²⁴⁶. En ayant, un EE caractérisé et de multiples groupes de recherche générant des données probantes sur des systèmes spécifiques, il sera possible d'élargir les opportunités translationnelles des modèles animaux à l'être humain.

3.4 Étude de la barrière intestinale

L'implication de l'axe intestin-cerveau dans les pathologies mentales, métaboliques et neurodégénératives est de mieux en mieux caractérisée^{110,184,247}. Toutefois, la plupart des études s'arrêtent à comprendre le microbiote intestinal, le système nerveux entérique ou encore le système

immunitaire. Ainsi, pour pallier ce manque, nous avons ciblé la barrière intestinale qui est centrale à ces systèmes et qui mérite une meilleure caractérisation¹¹⁹. Dans le contexte du stress chronique, il est reconnu que l'intestin devient plus perméable, les molécules délétères traversent la barrière intestinale favorisant une réponse immunitaire pro-inflammatoire^{110,173,192}. Malheureusement, notre analyse de ces cibles ne s'est pas avérée significative pour répondre à la question de recherche. D'une part, l'analyse corrélationnelle entre les comportements et l'expression transcriptionnelle ne permettaient pas déceler des résultats significatifs. D'autre part, l'analyse en immunohistochimie n'a pas pu être approfondie à cause de la nature complexe du système à l'étude et la difficulté à caractériser les protéines de jonction serrées. Une piste intéressante relevée dans la littérature est l'organisation des claudines. Lynn et al., ont soulevé que plus les claudines sont linéaires, plus la barrière intestinale est étanche. En contrepartie, quand les claudines sont ondulées ou hérissées, elle montre une perméabilité accrue ou une tendance vers la modulation par des mécanismes comme l'endocytose²³⁶. Une autre piste intéressante aurait été d'imager le comportement des protéines d'échafaudage ZO, qui permettrait de mieux saisir la modulation intracellulaire de la membrane des entérocytes.

Dans la barrière intestinale, les protéines de jonctions serrées jouent un rôle d'importance puisqu'elles se situent à l'apex de la monocouche de cellules épithéliales intestinales. Ainsi, en fonction de signaux de l'environnement, le cytosquelette d'actine se contracte et affecte les protéines d'échafaudage des jonctions serrées, les ZO, ainsi que les claudines et les occludines. Ces protéines sont exprimées par les entérocytes de la barrière intestinale via l'ARNm qui codent pour les protéines de jonctions serrées. Dans le contexte du stress chronique, l'intestin devient perméable ce qui serait expliqué par l'augmentation de l'expression de claudines perméables comme la CLDN2 et la CLDN12. Dans l'iléon de patients atteints de la colite ulcéreuse (UC), la quantité de CLDN12 est diminuée²⁴⁸. Puisque son rôle réside dans la formation de canaux Ca^{2+} ceci a donc un effet sur l'absorption de la vitamine D, et ainsi favoriser un environnement pro-inflammatoire (voir la revue de littérature de Sun et Zhang, sur l'implication de la vitamine D sur la barrière intestinale²⁴⁹). Une autre voie d'explication serait l'expression accrue de la CLDN3 permettrait de produire plus de protéines étanches et ainsi d'améliorer la fonction barrière de la monocouche épithéliale dans le contexte de la CSDS. En interpolant les résultats de la présente étude, il serait possible de croire que l'augmentation de la CLDN3 au sein de la CSDS régulière serait une mesure adaptative qui permettrait de diminuer la perméabilité intestinale. Par effet, les antigènes pro-inflammatoires ne seraient pas en mesure d'aller dans les tissus conjonctifs et ceci annulerait la boucle inflammatoire permettant de mitiger les effets du stress chronique. Dans le contexte de l'EE et du VWR, l'expression de la CLDN3 tend vers une diminution qui n'est pas significative, mais qui indique que les mécanismes activant l'expression de

la CLDN3 ne sont pas sollicités. Il serait donc possible de croire que l'inflammation périphérique serait en cause et supprimerait son effet avant même d'être en contact avec la BI.

Toutefois, il est important de noter que l'expression transcriptionnelle seule ne permet pas d'expliquer la modulation de la barrière intestinale. Il faut avoir recours à la quantification de l'expression protéique puisque celle-ci pourrait être modulée par des mécanismes de compensation. Par exemple, il est reconnu que ces mécanismes peuvent moduler l'expression des protéines de jonctions serrées par l'internalisation dans des endosomes de recyclage, par la régulation épigénétique ou encore des mécanismes d'apoptose reliés au stress du réticulum endoplasmique^{162,250,251}. Une autre limitation est l'utilisation de tissus post-mortem. Il est difficile d'évaluer l'intégrité et la perméabilité d'un tissu dynamique qui n'est plus dans son environnement d'origine. Pour remédier à ce problème, il serait possible d'évaluer la perméabilité intestinale via l'utilisation d'un test de lactulose-mannitol ou encore par l'administration d'un marqueur fluorescent²⁵². Dans un contexte où seul le comportement de la barrière nous intéresse, il serait possible d'utiliser la chambre d'Ussein, qui permet d'obtenir une mesure de résistance transépithéliale (TEER), sur l'intestin fraîchement récolté ou encore concevoir une barrière intestinale en culture. Ensuite, de manière indirecte, il serait possible de mesurer la quantité de LPS circulant dans la périphérie, de zonuline ou encore de FABP2 qui sont des marqueurs de l'intégrité de la barrière intestinale^{182,183}. En somme, il existe une panoplie de méthode pour évaluer la barrière intestinale qui mériterait d'être intégrée au sein d'études comportementales dans le but de faire avancer la compréhension de l'interrelation des systèmes biologiques.

3.5 Différences sexuelles

Comme mentionné dans l'introduction, les femmes sont 3x plus à risque de souffrir du TDM au cours de leur vie²⁵³. De manière générale, il existe un dimorphisme sexuel dans les symptômes du TDM. Chez les femmes, on note de l'anxiété accrue, de la tristesse, de l'isolement des pairs¹⁰. Chez les hommes, on retrouve plutôt de l'excès de colère, une faible estime de soi et un comportement d'abus de substances¹⁰. De manière historique, les femmes ont été sous-représentées dans les études sur la dépression principalement par le biais du rejet des données dues à une variation des hormones reliées au cycle menstruel (ou dioestrus chez les animaux)²⁵⁴. Toutefois, une prise en main de la communauté scientifique s'opère et cherche à rattraper l'écart entre les hommes et les femmes. Plus récemment, Labonté et al. a montré des différences sexuelles entre les profils transcriptionnels des régions clés impliquées dans la dépression comme le PFC, le NAC et l'HIPP chez la souris et chez l'humain²⁵⁵. Ces différences transcriptionnelles révèlent donc la dépression serait une maladie complètement différente d'un sexe à l'autre et renforce l'importance d'introduire les deux sexes au sein des études. Plus récemment, les travaux menés par Dion-Albert et al., ont permis d'avancer la compréhension des

implications neurovasculaires dans la pathophysiologie dépressive chez les souris femelles et des tissus de femmes dépressives²⁵⁶. D'une part, le PFC serait impliqué dans le développement des comportements dépressif, que la BHE devient perméable dans la CSDS et que des marqueurs plasmatiques pourraient servir de biomarqueur potentiel dans la détection du TDM¹¹⁵. D'autre part, l'étude des différences sexuelles au sein du microbiote intestinal dans le contexte du TDM serait une avenue pertinente. Récemment, une étude s'est penchée sur la question et à montrer que le microbiote entre les hommes et les femmes divergeaient sur le plan du ratio firmicute/bacteroides²⁵⁷. Une connaissance de la volatilité du microbiote intestinal et la mise en place d'études cliniques et pré-cliniques visant à comprendre les différences sexuelles permettront de développer des traitements appropriés en relation au TDM ou encore d'autre maladie reliés aux humeurs^{143,144,192,258}.

Conclusion

En bref, nous avons évalué l'effet des stratégies préventives, introduites sous la forme d'enrichissement structurel et de roue d'exercice physique, dans le modèle murin de la défaite sociale. De plus, nous avons évalué l'expression des protéines de jonctions serrées du jéjunum, le segment central de l'intestin, pour étudier l'impact de la physiologie de la barrière intestinale. D'une part, les stratégies préventives augmentant la proportion de souris résilientes, présentant des comportements prosociaux, et en diminuant la proportion de souris susceptibles au stress, présentant des comportements d'évitement et d'anxiété. D'autre part, l'expression transcriptionnelle et protéique des protéines de jonctions serrées présente des adaptations moléculaires, suggérant que les stratégies préventives ont un effet sur l'intégrité de la barrière intestinale, et donc un rôle à jouer au sein de la pathophysiologie dépressive. Une piste d'étude intéressante serait de voir comment l'utilisation d'antidépresseur chez les patients dépressifs affecte la perméabilité intestinale et la composition du microbiote intestinal^{110,259-262}. En somme, la forte prévalence du trouble dépressif majeur et les traitements pharmacologiques actuels permettront l'étude approfondie de nouvelles approches thérapeutiques et l'élargissement de notre compréhension des systèmes biologiques pour agir en amont du stress chronique et ainsi prévenir l'apparition des symptômes dépressifs.

Références

1. Radden, J. Is This Dame Melancholy?: Equating Today's Depression and Past Melancholia. *Philos. Psychiatry Psychol.* **10**, 37–52 (2003).
2. Sakai, A. Phrenitis: inflammation of the mind and the body. *Hist. Psychiatry* **2**, 193–205 (1991).
3. Parent, A. *Histoire du cerveau: de l'Antiquité aux neurosciences*. (PRESSES DE L'UNIVERSITÉ LAVAL (PUL), 2019).
4. Kristeva, J. *Soleil Noir. Dépression et Mélancolie*. (Gallimard coll. folio essai, 1987).
5. Lewis, A. J. Melancholia: A Historical Review: Part I. *J. Ment. Sci.* **80**, 1–42 (1934).
6. Kessler, R. C., Chiu, W. T., Demler, O., Merikangas, K. R. & Walters, E. E. Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch. Gen. Psychiatry* **62**, 617–627 (2005).
7. Dobson, K. G., Vigod, S. N., Mustard, C. & Smith, P. M. *Health Reports : Trends in the prevalence of depression and anxiety disorders among working-age Canadian adults between 2000 and 2016*. (2020) doi:<https://www.doi.org/10.25318/82-003-x202001200002-eng>.
8. Ménard, C., Pfau, M. L., Hodes, G. E. & Russo, S. J. Immune and neuroendocrine mechanisms of stress vulnerability and resilience. *Neuropsychopharmacology* **42**, 62–80 (2017).
9. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders*. (American Psychiatric Association Publishing, 2013).
10. Krishnan, V. & Nestler, E. The molecular neurobiology of depression. *Nat. Neurosci.* **455**, 894–902 (2008).
11. Fuhr, K., Reitenbach, I., Kraemer, J., Hautzinger, M. & Meyer, T. D. Attachment, dysfunctional attitudes, self-esteem, and association to depressive symptoms in patients with mood disorders. *J. Affect. Disord.* **212**, 110–116 (2017).
12. MÉNARD, C., HODES, G. E. & RUSSO, S. J. Pathogenesis of depression: insights from human and rodent studies. *Neuroscience* **321**, 138–162 (2016).

13. Hauge, L. J., Skogstad, A. & Einarsen, S. The relative impact of workplace bullying as a social stressor at work. *Scand. J. Psychol.* (2010) doi:10.1111/j.1467-9450.2010.00813.x.
14. Josefsson, T., Lindwall, M. & Archer, T. Physical exercise intervention in depressive disorders: Meta-analysis and systematic review. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **24**, 259–272 (2014).
15. Zou, L. *et al.* Effects of Meditative Movements on Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J. Clin. Med.* **7**, 195 (2018).
16. Hofmann, S. G. & Gómez, A. F. Mindfulness-Based Interventions for Anxiety and Depression. *Psychiatr. Clin.* **40**, 739–749 (2017).
17. van Praag, H. M. Neuroendocrine disorders in depressions and their significance for the monoamine hypothesis of depression. *Acta Psychiatr. Scand.* **57**, 389–404 (1978).
18. Gold, P. W. & Chrousos, G. P. The Endocrinology of Melancholic and Atypical Depression: Relation to Neurocircuitry and Somatic Consequences. *Proc. Assoc. Am. Physicians* **111**, 22–34 (1999).
19. Koob, G. F. Hedonic valence, dopamine and motivation. *Mol. Psychiatry* **1**, 186–189 (1996).
20. Nestler, E. J. & Carlezon, W. A. The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. *Biol. Psychiatry* **59**, 1151–1159 (2006).
21. Robinson, O. J. *et al.* The role of serotonin in the neurocircuitry of negative affective bias: Serotonergic modulation of the dorsal medial prefrontal-amygdala ‘aversive amplification’ circuit. *NeuroImage* **78**, 217–223 (2013).
22. Berton, O. & Nestler, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 137–151 (2006).
23. Cascade, E., Kalali, A. H. & Kennedy, S. H. Real-World Data on SSRI Antidepressant Side Effects. *Psychiatry Edgmont* **6**, 16–18 (2009).
24. Akil, H. *et al.* Treatment resistant depression: A multi-scale, systems biology approach. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **84**, 272–288 (2018).

25. Hodes, G. E., Kana, V., Menard, C., Merad, M. & Russo, S. J. Neuroimmune mechanisms of depression. *Nat. Neurosci.* **18**, 1386–1393 (2015).
26. Slavich, G. M. & Irwin, M. R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychol. Bull.* **140**, 774–815 (2014).
27. Liu, Y., Zhao, J. & Guo, W. Emotional Roles of Mono-Aminergic Neurotransmitters in Major Depressive Disorder and Anxiety Disorders. *Front. Psychol.* **9**, 2201 (2018).
28. Powell, N. D. *et al.* Social stress up-regulates inflammatory gene expression in the leukocyte transcriptome via β -adrenergic induction of myelopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **110**, 16574–16579 (2013).
29. Pfau, M. L., Ménard, C. & Russo, S. J. Inflammatory Mediators in Mood Disorders: Therapeutic Opportunities. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **58**, 411–428 (2018).
30. Menard, C. *et al.* Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. *Nat. Neurosci.* **20**, 1752–1760 (2017).
31. Morais, L. H., Schreiber, H. L. 4th & Mazmanian, S. K. The gut microbiota-brain axis in behaviour and brain disorders. *Nat. Rev. Microbiol.* **19**, 241–255 (2021).
32. Del Rey, A., Chrousos, G. P. & Besedovsky, H. O. *The hypothalamus-pituitary-adrenal axis.* (Elsevier, 2008).
33. McEwen, B. S. Stressed or stressed out: What is the difference? *J. Psychiatry Neurosci.* **30**, 315–318 (2005).
34. Smoak, K. A. & Cidlowski, J. A. Mechanisms of glucocorticoid receptor signaling during inflammation. *Mech. Ageing Dev.* **125**, 697–706 (2004).
35. Slavich, G. M. & Irwin, M. R. From stress to inflammation and major depressive disorder: a social signal transduction theory of depression. *Psychol. Bull.* **140**, 774–815 (2014).
36. Pace, T. W. W., Hu, F. & Miller, A. H. Cytokine-effects on glucocorticoid receptor function: relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression. *Brain. Behav. Immun.* **21**, 9–19 (2007).

37. *Mucosal immunology*. (Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier, 2015).
38. Dudek, K. A. *et al.* Neurobiology of resilience in depression: immune and vascular insights from human and animal studies. *Eur. J. Neurosci.* *ejn.14547* (2019) doi:10.1111/ejn.14547.
39. Woody, A., Figueroa, W. S., Benencia, F. & Zoccola, P. M. Stress-Induced Parasympathetic Control and Its Association With Inflammatory Reactivity. *Psychosom. Med.* **79**, 306–310 (2017).
40. Camba-Gómez, M., Gualillo, O. & Conde-Aranda, J. New Perspectives in the Study of Intestinal Inflammation: Focus on the Resolution of Inflammation. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, (2021).
41. van Praag, H. M., de Kloet, E. R. & van Os, J. *Stress, the brain and depression. Stress, the brain and depression*. (Cambridge University Press, 2004). doi:10.1017/CBO9780511544422.
42. Miller, G. E. *et al.* Greater inflammatory activity and blunted glucocorticoid signaling in monocytes of chronically stressed caregivers. *Brain. Behav. Immun.* **41**, 191–199 (2014).
43. Schleimer, R. P. An overview of glucocorticoid anti-inflammatory actions. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **45 Suppl 1**, S3-7; discussion S43-4 (1993).
44. Ginhoux, F. & Jung, S. Monocytes and macrophages: developmental pathways and tissue homeostasis. *Nat. Rev. Immunol.* **14**, 392–404 (2014).
45. Smith, R. S. The macrophage theory of depression. *Med. Hypotheses* **35**, 298–306 (1991).
46. Maes, M. *et al.* Leukocytosis, monocytosis and neutrophilia: hallmarks of severe depression. *J. Psychiatr. Res.* **26**, 125–134 (1992).
47. Köhler, C. A. *et al.* Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: a meta-analysis of 82 studies. *Acta Psychiatr. Scand.* **135**, 373–387 (2017).
48. Hodes, G. E., Ménard, C. & Russo, S. J. Integrating Interleukin-6 into depression diagnosis and treatment. *Neurobiol. Stress* **4**, 15–22 (2016).
49. Halper-Stromberg, A. & Jabri, B. Maladaptive consequences of inflammatory events shape individual immune identity. *Nat. Immunol.* 1–12 (2022) doi:10.1038/s41590-022-01342-8.

50. Hodes, G. E. *et al.* Individual differences in the peripheral immune system promote resilience versus susceptibility to social stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **111**, 16136–16141 (2014).
51. Menard, C. *et al.* Social stress induces neurovascular pathology promoting depression. *Nat. Neurosci.* **20**, 1752–1760 (2017).
52. Dudek, K. A. *et al.* Molecular adaptations of the blood–brain barrier promote stress resilience vs. Depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **117**, 3326–3336 (2020).
53. McEwen, B. S. & Gianaros, P. J. Central role of the brain in stress and adaptation: links to socioeconomic status, health, and disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1186**, 190–222 (2010).
54. Lin, T.-W. & Kuo, Y.-M. Exercise benefits brain function: the monoamine connection. *Brain Sci.* **3**, 39–53 (2013).
55. Mammen, G. & Faulkner, G. Physical activity and the prevention of depression: A systematic review of prospective studies. *Am. J. Prev. Med.* **45**, 649–657 (2013).
56. Queen, N. J., Hassan, Q. N. & Cao, L. Improvements to Healthspan Through Environmental Enrichment and Lifestyle Interventions: Where Are We Now? *Front. Neurosci.* **14**, 605 (2020).
57. Mortimer, J. T. & Staff, J. Early work as a source of developmental discontinuity during the transition to adulthood. *Dev. Psychopathol.* **16**, 1047–1070 (2004).
58. Crofton, E. J., Zhang, Y. & Green, T. A. Inoculation stress hypothesis of environmental enrichment. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **49**, 19–31 (2015).
59. McEwen, B. S. & Wingfield, J. C. The concept of allostasis in biology and biomedicine. *Horm. Behav.* **43**, 2–15 (2003).
60. Southwick, S. M., Bonanno, G. A., Masten, A. S., Panter-Brick, C. & Yehuda, R. Resilience definitions, theory, and challenges: interdisciplinary perspectives. *Eur. J. Psychotraumatology* **5**, 10.3402/ejpt.v5.25338 (2014).
61. Krishnan, V. *et al.* Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell* **131**, 391–404 (2007).
62. Bhatnagar, S. Rethinking stress resilience. *Trends Neurosci.* **44**, 936–945 (2021).

63. Boyce, W. F. *Conditions socio-économiques - Canada.ca. Des cadres sains pour les jeunes du Canada* (2006).
64. Lopez, A. D., Mathers, C. D., Ezzati, M., Jamison, D. T. & Murray, C. J. L. Global and regional burden of disease and risk factors, 2001: systematic analysis of population health data. *Lancet Lond. Engl.* **367**, 1747–1757 (2006).
65. Rai, D., Zitko, P., Jones, K., Lynch, J. & Araya, R. Country- and individual-level socioeconomic determinants of depression: multilevel cross-national comparison. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* **202**, 195–203 (2013).
66. Powell, N. D. *et al.* Social stress up-regulates inflammatory gene expression in the leukocyte transcriptome via β -adrenergic induction of myelopoiesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 16574–16579 (2013).
67. Bytzer, P. *et al.* Low socioeconomic class is a risk factor for upper and lower gastrointestinal symptoms: a population based study in 15 000 Australian adults. *Gut* **49**, 66 LP – 72 (2001).
68. Sanna, L. *et al.* Physical comorbidities in men with mood and anxiety disorders: a population-based study. *BMC Med.* **11**, 110 (2013).
69. Irvine, E. J. Quality of life assessment in gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* **53 Suppl 4**, iv35-39 (2004).
70. Petersen, A. M. W. & Pedersen, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. *J. Appl. Physiol.* **98**, 1154–1162 (2005).
71. Spielman, L. J., Little, J. P. & Klegeris, A. Physical activity and exercise attenuate neuroinflammation in neurological diseases. *Brain Res. Bull.* **125**, 19–29 (2016).
72. Josefsson, T., Lindwall, M. & Archer, T. Physical exercise intervention in depressive disorders: Meta-analysis and systematic review. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **24**, 259–272 (2014).
73. Piercy, K. L. *et al.* The Physical Activity Guidelines for Americans. *JAMA* **320**, 2020–2028 (2018).

74. Piercy, K. L. *et al.* The Physical Activity Guidelines for Americans. *JAMA* **320**, 2020–2028 (2018).
75. Małkiewicz, M. A. *et al.* Blood-brain barrier permeability and physical exercise. *J. Neuroinflammation* **16**, 15 (2019).
76. Pearce, M. *et al.* Association Between Physical Activity and Risk of Depression: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Psychiatry* **79**, 550–559 (2022).
77. Morgan, W. P. A pilot investigation of physical working capacity in depressed and nondepressed psychiatric males. *Res. Q.* **40**, 859–861 (1969).
78. Babyak, M. *et al.* Exercise treatment for major depression: Maintenance of therapeutic benefit at 10 months. *Psychosom. Med.* **62**, 633–638 (2000).
79. Krogh, J., Nordentoft, M., Sterne, J. A. C. & Lawlor, D. A. The effect of exercise in clinically depressed adults: Systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *The Journal of Clinical Psychiatry* vol. 72 529–538 Preprint at <https://doi.org/10.4088/JCP.08r04913blu> (2011).
80. van Wijck, K. *et al.* Exercise-Induced Splanchnic Hypoperfusion Results in Gut Dysfunction in Healthy Men. *PLoS ONE* **6**, e22366 (2011).
81. Walter, E. *et al.* Exercise hyperthermia induces greater changes in gastrointestinal permeability than equivalent passive hyperthermia. *Physiol. Rep.* **9**, e14945 (2021).
82. Van Houten, J. M., Wessells, R. J., Lujan, H. L. & DiCarlo, S. E. My gut feeling says rest: Increased intestinal permeability contributes to chronic diseases in high-intensity exercisers. *Med. Hypotheses* **85**, 882–886 (2015).
83. Dietrich, A. & McDaniel, W. F. Endocannabinoids and exercise. *Br. J. Sports Med.* **38**, 536–541 (2004).
84. Marin Bosch, B. *et al.* A single session of moderate intensity exercise influences memory, endocannabinoids and brain derived neurotrophic factor levels in men. *Sci. Rep.* **11**, 14371 (2021).

85. Heyman, E. *et al.* Intense exercise increases circulating endocannabinoid and BDNF levels in humans--possible implications for reward and depression. *Psychoneuroendocrinology* **37**, 844–851 (2012).
86. Erickson, Kirk. I. *et al.* Exercise training increases size of hippocampus and improves memory. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **108**, 3017–3022 (2011).
87. Colcombe, S. J. *et al.* Aerobic Exercise Training Increases Brain Volume in Aging Humans. *J. Gerontol. Ser. A* **61**, 1166–1170 (2006).
88. Basso, J. C., Shang, A., Elman, M., Karmouta, R. & Suzuki, W. A. Acute Exercise Improves Prefrontal Cortex but not Hippocampal Function in Healthy Adults. *J. Int. Neuropsychol. Soc. JINS* **21**, 791–801 (2015).
89. Dokladny, K., Ye, D., Kennedy, J. C., Moseley, P. L. & Ma, T. Y. Cellular and molecular mechanisms of heat stress-induced up-regulation of occludin protein expression: regulatory role of heat shock factor-1. *Am. J. Pathol.* **172**, 659–670 (2008).
90. Aijaz, S., Sanchez-Heras, E., Balda, M. S. & Matter, K. Regulation of tight junction assembly and epithelial morphogenesis by the heat shock protein Apg-2. *BMC Cell Biol.* **8**, 49 (2007).
91. Mailing, L. J., Allen, J. M., Buford, T. W., Fields, C. J. & Woods, J. A. Exercise and the Gut Microbiome: A Review of the Evidence, Potential Mechanisms, and Implications for Human Health. *Exerc. Sport Sci. Rev.* **47**, 75–85 (2019).
92. Kim, Y. S., Song, B. K., Oh, J. S. & Woo, S. S. Aerobic exercise improves gastrointestinal motility in psychiatric inpatients. *World J. Gastroenterol. WJG* **20**, 10577–10584 (2014).
93. Li, Z. S., Schmauss, C., Cuenca, A., Ratcliffe, E. & Gershon, M. D. Physiological modulation of intestinal motility by enteric dopaminergic neurons and the D2 receptor: analysis of dopamine receptor expression, location, development, and function in wild-type and knock-out mice. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **26**, 2798–2807 (2006).
94. Vancini, R. L. *et al.* Quality of Life, Depression, Anxiety Symptoms and Mood State of Wheelchair Athletes and Non-athletes: A Preliminary Study. *Front. Psychol.* **10**, 1848 (2019).

95. Zuhl, M. *et al.* Exercise regulation of intestinal tight junction proteins. *Br. J. Sports Med.* **48**, 980–986 (2014).
96. Maes, M., Kubera, M. & Leunis, J.-C. The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. *Neuro Endocrinol. Lett.* **29**, 117–124 (2008).
97. Russo, S. J. & Nestler, E. J. The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat. Rev. Neurosci.* **14**, 609–625 (2013).
98. Berton, O. & Nestler, E. J. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 137–151 (2006).
99. Abbott, N. J., Patabendige, A. A. K., Dolman, D. E. M., Yusof, S. R. & Begley, D. J. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol. Dis.* **37**, 13–25 (2010).
100. Dudek, K. A. *et al.* Neurobiology of resilience in depression: immune and vascular insights from human and animal studies. *Eur. J. Neurosci.* **53**, 183–221 (2021).
101. Muoio, V., Persson, P. B. & Sendeski, M. M. The neurovascular unit – concept review. *Acta Physiol.* **210**, 790–798 (2014).
102. Joëls, M., Krugers, H. J., Lucassen, P. J. & Karst, H. Corticosteroid effects on cellular physiology of limbic cells. *Brain Res.* **1293**, 91–100 (2009).
103. Vitkovic, L. *et al.* Cytokine signals propagate through the brain. *Mol. Psychiatry* **5**, 604–615 (2000).
104. Hein, A. M. *et al.* Sustained hippocampal IL-1 β overexpression impairs contextual and spatial memory in transgenic mice. *Brain. Behav. Immun.* **24**, 243–253 (2010).
105. Friedman, W. J. Cytokines regulate expression of the type 1 interleukin-1 receptor in rat hippocampal neurons and glia. *Exp. Neurol.* **168**, 23–31 (2001).
106. Docagne, F. *et al.* Differential regulation of type I and type II interleukin-1 receptors in focal brain inflammation. *Eur. J. Neurosci.* **21**, 1205–1214 (2005).

107. Schafer, D. P. *et al.* Microglia sculpt postnatal neural circuits in an activity and complement-dependent manner. *Neuron* **74**, 691–705 (2012).
108. Abbott, N. J., Rönnbäck, L. & Hansson, E. Astrocyte–endothelial interactions at the blood–brain barrier. *Nat. Rev. Neurosci.* **7**, 41–53 (2006).
109. Mathiisen, T. M., Lehre, K. P., Danbolt, N. C. & Ottersen, O. P. The perivascular astroglial sheath provides a complete covering of the brain microvessels: an electron microscopic 3D reconstruction. *Glia* **58**, 1094–1103 (2010).
110. Rudzki, L. & Maes, M. From ‘Leaky Gut’ to Impaired Glia-Neuron Communication in Depression. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1305**, 129–155 (2021).
111. Cho, H. J., Eisenberger, N. I., Olmstead, R., Breen, E. C. & Irwin, M. R. Preexisting mild sleep disturbance as a vulnerability factor for inflammation-induced depressed mood: a human experimental study. *Transl. Psychiatry* **6**, e750 (2016).
112. Torres-Platas, S. G. *et al.* Astrocytic hypertrophy in anterior cingulate white matter of depressed suicides. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* **36**, 2650–2658 (2011).
113. Cotter, D. R., Pariante, C. M. & Everall, I. P. Glial cell abnormalities in major psychiatric disorders: the evidence and implications. *Brain Res. Bull.* **55**, 585–595 (2001).
114. Ménard, C., Hodes, G. E. & Russo, S. J. Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies. *Neuroscience* **321**, 138–162 (2016).
115. Dion-Albert, L. *et al.* Sex differences in the blood–brain barrier: Implications for mental health. *Front. Neuroendocrinol.* **65**, 100989 (2022).
116. Cai, H. Q. *et al.* Increased macrophages and changed brain endothelial cell gene expression in the frontal cortex of people with schizophrenia displaying inflammation. *Mol. Psychiatry* **25**, 761–775 (2020).
117. Kamintsky, L. *et al.* Blood-brain barrier imaging as a potential biomarker for bipolar disorder progression. *NeuroImage Clin.* **26**, 102049 (2020).

118. Morris, G. *et al.* Leaky brain in neurological and psychiatric disorders: Drivers and consequences. *Aust. N. Z. J. Psychiatry* **52**, 924–948 (2018).
119. Margolis, K. G., Cryan, J. F. & Mayer, E. A. The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology* **160**, 1486–1501 (2021).
120. Poitras, P. *L'appareil digestif*. (Les Presses de l'Université de Montréal, 2020).
121. Noah, T. K., Donahue, B. & Shroyer, N. F. Intestinal development and differentiation. *Exp. Cell Res.* **317**, 2702–2710 (2011).
122. Esposito, I. *et al.* Mast cell distribution and activation in chronic pancreatitis. *Hum. Pathol.* **32**, 1174–1183 (2001).
123. Grenham, S., Clarke, G., Cryan, J. F. & Dinan, T. G. Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front. Physiol.* **2 DEC**, (2011).
124. Lai, N. Y. *et al.* Gut-Innervating Nociceptor Neurons Regulate Peyer's Patch Microfold Cells and SFB Levels to Mediate Salmonella Host Defense. *Cell* **180**, 33-49.e22 (2020).
125. Seguella, L. & Gulbransen, B. D. Enteric glial biology, intercellular signalling and roles in gastrointestinal disease. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* **18**, 571–587 (2021).
126. Meira de-Faria, F. *et al.* Altered interaction between enteric glial cells and mast cells in the colon of women with irritable bowel syndrome. *Neurogastroenterol. Motil. Off. J. Eur. Gastrointest. Motil. Soc.* **33**, e14130 (2021).
127. Gulistan, A., B., Y. K. & Y., H. E. Signaling inflammation across the gut-brain axis. *Science* **374**, 1087–1092 (2021).
128. Rosenbaum, C. *et al.* Activation of Myenteric Glia during Acute Inflammation In Vitro and In Vivo. *PLoS ONE* **11**, e0151335 (2016).
129. Guzmán-Mejía, F., Godínez-Victoria, M., Vega-Bautista, A., Pacheco-Yépez, J. & Drago-Serrano, M. E. Intestinal Homeostasis under Stress Siege. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, (2021).

130. Liu, Y. *et al.* Increased Ileal Immunoglobulin A Production and Immunoglobulin A-Coated Bacteria in Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Clin. Transl. Gastroenterol.* **11**, e00146 (2020).
131. Caso, J. R. *et al.* Colonic bacterial translocation as a possible factor in stress-worsening experimental stroke outcome. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* **296**, R979–R985 (2009).
132. Kelly, J. R. *et al.* Breaking down the barriers: The gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Frontiers in Cellular Neuroscience* vol. 9 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00392> (2015).
133. Sanidad, K. Z. & Zeng, M. Y. Neonatal gut microbiome and immunity. *Curr. Opin. Microbiol.* **56**, 30–37 (2020).
134. Borre, Y. E. *et al.* Microbiota and neurodevelopmental windows: implications for brain disorders. *Trends Mol. Med.* **20**, 509–518 (2014).
135. Erny, D. *et al.* Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. *Nat. Neurosci.* **18**, 965–977 (2015).
136. Erny, D. *et al.* Microbiota-derived acetate enables the metabolic fitness of the brain innate immune system during health and disease. *Cell Metab.* **33**, 2260-2276.e7 (2021).
137. Wang, Y. & Kasper, L. H. The role of microbiome in central nervous system disorders. *Brain. Behav. Immun.* **38**, 1–12 (2014).
138. Levy, M., Kolodziejczyk, A. A., Thaïss, C. A. & Elinav, E. Dysbiosis and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* **17**, 219–232 (2017).
139. Kéri, S., Szabó, C. & Kelemen, O. Expression of Toll-Like Receptors in peripheral blood mononuclear cells and response to cognitive-behavioral therapy in major depressive disorder. *Brain. Behav. Immun.* **40**, 235–243 (2014).
140. Georgel, P. *et al.* Vesicular stomatitis virus glycoprotein G activates a specific antiviral Toll-like receptor 4-dependent pathway. *Virology* **362**, 304–313 (2007).

141. Mai, C. W., Kang, Y. B. & Pichika, M. R. Should a Toll-like receptor 4 (TLR-4) agonist or antagonist be designed to treat cancer? TLR-4: its expression and effects in the ten most common cancers. *OncoTargets Ther.* **6**, 1573–1587 (2013).
142. Gao, W., Xiong, Y., Li, Q. & Yang, H. Inhibition of Toll-Like Receptor Signaling as a Promising Therapy for Inflammatory Diseases: A Journey from Molecular to Nano Therapeutics. *Front. Physiol.* **8**, 508 (2017).
143. Szyszkowicz, J. K., Wong, A., Anisman, H., Merali, Z. & Audet, M.-C. Implications of the gut microbiota in vulnerability to the social avoidance effects of chronic social defeat in male mice. *Brain. Behav. Immun.* **66**, 45–55 (2017).
144. Bastiaanssen, T. F. S. *et al.* Volatility as a Concept to Understand the Impact of Stress on the Microbiome. *Psychoneuroendocrinology* **124**, 105047 (2021).
145. Shen, L., Weber, C. R., Raleigh, D. R., Yu, D. & Turner, J. R. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo. *Annu. Rev. Physiol.* **73**, 283–309 (2011).
146. Alberts, B. *et al.* *Molecular biology of the cell.* (Garland Science, 2015).
147. Cummins, P. M. Occludin: one protein, many forms. *Mol. Cell. Biol.* **32**, 242–250 (2012).
148. Günzel, D. & Yu, A. S. L. Claudins and the modulation of tight junction permeability. *Physiol. Rev.* **93**, 525–569 (2013).
149. Chiba, H., Kojima, T., Osanai, M. & Sawada, N. The significance of interferon-gamma-triggered internalization of tight-junction proteins in inflammatory bowel disease. *Sci. STKE Signal Transduct. Knowl. Environ.* **2006**, pe1 (2006).
150. Mineta, K. *et al.* Predicted expansion of the claudin multigene family. *FEBS Lett.* **585**, 606–612 (2011).
151. Morita, K., Furuse, M., Fujimoto, K. & Tsukita, S. Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 511–516 (1999).

152. Shen, L., Weber, C. R., Raleigh, D. R., Yu, D. & Turner, J. R. Tight junction pore and leak pathways: a dynamic duo. *Annu. Rev. Physiol.* **73**, 283–309 (2011).
153. Lu, Z., Ding, L., Lu, Q. & Chen, Y.-H. Claudins in intestines: Distribution and functional significance in health and diseases. *Tissue Barriers* **1**, e24978 (2013).
154. Wu, C.-J., Mannan, P., Lu, M. & Udey, M. C. Epithelial Cell Adhesion Molecule (EPCAM) Regulates Claudin Dynamics and Tight Junctions. *J. Biol. Chem.* **288**, 12253–12268 (2013).
155. Holmes, J. L., Van Itallie, C. M., Rasmussen, J. E. & Anderson, J. M. Claudin profiling in the mouse during postnatal intestinal development and along the gastrointestinal tract reveals complex expression patterns. *Gene Expr. Patterns* **6**, 581–588 (2006).
156. Garcia-Hernandez, V., Quiros, M. & Nusrat, A. Intestinal epithelial claudins: expression and regulation in homeostasis and inflammation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1397**, 66–79 (2017).
157. Amasheh, S. *et al.* Claudin-2 expression induces cation-selective channels in tight junctions of epithelial cells. *J. Cell Sci.* **115**, 4969–4976 (2002).
158. Nighot, P. K., Hu, C.-A. A. & Ma, T. Y. Autophagy enhances intestinal epithelial tight junction barrier function by targeting claudin-2 protein degradation. *J. Biol. Chem.* **290**, 7234–7246 (2015).
159. Zhang, C. *et al.* Inhibition of Autophagic Degradation Process Contributes to Claudin-2 Expression Increase and Epithelial Tight Junction Dysfunction in TNF- α Treated Cell Monolayers. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 157 (2017).
160. Fujita, H. *et al.* Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D-dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. *Mol. Biol. Cell* **19**, 1912–1921 (2008).
161. Patel, R. M. *et al.* Probiotic bacteria induce maturation of intestinal claudin 3 expression and barrier function. *Am. J. Pathol.* **180**, 626–635 (2012).
162. Ahmad, R. *et al.* Loss of claudin-3 expression induces IL6/gp130/Stat3 signaling to promote colon cancer malignancy by hyperactivating Wnt/ β -catenin signaling. *Oncogene* **36**, 6592–6604 (2017).

163. Alexandre, M. D., Jeansonne, B. G., Renegar, R. H., Tatum, R. & Chen, Y.-H. The first extracellular domain of claudin-7 affects paracellular Cl⁻ permeability. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **357**, 87–91 (2007).
164. Ding, L. *et al.* Inflammation and disruption of the mucosal architecture in claudin-7-deficient mice. *Gastroenterology* **142**, 305–315 (2012).
165. Tanaka, H. *et al.* Intestinal deletion of Claudin-7 enhances paracellular organic solute flux and initiates colonic inflammation in mice. *Gut* **64**, 1529–1538 (2015).
166. Tamura, A. *et al.* Megaintestine in claudin-15-deficient mice. *Gastroenterology* **134**, 523–534 (2008).
167. Tamura, A. *et al.* Loss of claudin-15, but not claudin-2, causes Na⁺ deficiency and glucose malabsorption in mouse small intestine. *Gastroenterology* **140**, 913–923 (2011).
168. McCarthy, K. M. *et al.* Occludin is a functional component of the tight junction. *J. Cell Sci.* **109** (Pt 9, 2287–2298 (1996).
169. Saitou, M. *et al.* Complex phenotype of mice lacking occludin, a component of tight junction strands. *Mol. Biol. Cell* **11**, 4131–4142 (2000).
170. Krug, S. M. Contribution of the tricellular tight junction to paracellular permeability in leaky and tight epithelia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1397**, 219–230 (2017).
171. Saito, A. C. *et al.* Occludin and tricellulin facilitate formation of anastomosing tight-junction strand network to improve barrier function. *Mol. Biol. Cell* **32**, 722–738 (2021).
172. Sagami, Y. *et al.* Effect of a corticotropin releasing hormone receptor antagonist on colonic sensory and motor function in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* **53**, 958–964 (2004).
173. Vanuytsel, T. *et al.* Psychological stress and corticotropin-releasing hormone increase intestinal permeability in humans by a mast cell-dependent mechanism. *Gut* **63**, 1293–1299 (2014).
174. Magalhães, H. I. R. & Castelucci, P. Enteric nervous system and inflammatory bowel diseases: Correlated impacts and therapeutic approaches through the P2X7 receptor. *World J. Gastroenterol.* **27**, 7909–7924 (2021).

175. Schemann, M. & Camilleri, M. Functions and imaging of mast cell and neural axis of the gut. *Gastroenterology* **144**, 698-704.e4 (2013).
176. Byrne, G. *et al.* Prevalence of Anxiety and Depression in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2017**, 6496727 (2017).
177. Davidson, G., Kritas, S. & Butler, R. Stressed mucosa. *Nestle Nutr. Workshop Ser. Paediatr. Programme* **59**, 133–136 (2007).
178. Shah, E., Rezaie, A., Riddle, M. & Pimentel, M. Psychological disorders in gastrointestinal disease: epiphenomenon, cause or consequence? *Ann. Gastroenterol.* **27**, 224–230 (2014).
179. Calarge, C. A., Devaraj, S. & Shulman, R. J. Gut permeability and depressive symptom severity in unmedicated adolescents. *J. Affect. Disord.* **246**, 586–594 (2019).
180. Maes, M., Kubera, M., Leunis, J.-C. & Berk, M. Increased IgA and IgM responses against gut commensals in chronic depression: further evidence for increased bacterial translocation or leaky gut. *J. Affect. Disord.* **141**, 55–62 (2012).
181. Maes, M. *et al.* Increased autoimmune responses against auto-epitopes modified by oxidative and nitrosative damage in depression: implications for the pathways to chronic depression and neuroprogression. *J. Affect. Disord.* **149**, 23–29 (2013).
182. Stevens, B. R. *et al.* Increased human intestinal barrier permeability plasma biomarkers zonulin and FABP2 correlated with plasma LPS and altered gut microbiome in anxiety or depression. *Gut* **67**, 1555–1557 (2018).
183. Sturgeon, C. & Fasano, A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers* **4**, e1251384 (2016).
184. Chelakkot, C., Ghim, J. & Ryu, S. H. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp. Mol. Med.* **50**, (2018).
185. Fukui, H. Increased Intestinal Permeability and Decreased Barrier Function: Does It Really Influence the Risk of Inflammation? *Inflamm. Intest. Dis.* **1**, 135–145 (2016).

186. Marchiando, A. M. *et al.* Caveolin-1-dependent occludin endocytosis is required for TNF-induced tight junction regulation in vivo. *J. Cell Biol.* **189**, 111–126 (2010).
187. Wang, F. *et al.* Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am. J. Pathol.* **166**, 409–419 (2005).
188. Scharl, M., Paul, G., Barrett, K. E. & McCole, D. F. AMP-activated protein kinase mediates the interferon-gamma-induced decrease in intestinal epithelial barrier function. *J. Biol. Chem.* **284**, 27952–27963 (2009).
189. Cunningham, K. E. & Turner, J. R. Myosin light chain kinase: pulling the strings of epithelial tight junction function. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1258**, 34–42 (2012).
190. Nunbhakdi-Craig, V. *et al.* Protein phosphatase 2A associates with and regulates atypical PKC and the epithelial tight junction complex. *J. Cell Biol.* **158**, 967–978 (2002).
191. Kale, G., Naren, A. P., Sheth, P. & Rao, R. K. Tyrosine phosphorylation of occludin attenuates its interactions with ZO-1, ZO-2, and ZO-3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **302**, 324–329 (2003).
192. Doney, E., Cadoret, A., Dion-Albert, L., Lebel, M. & Menard, C. Inflammation-driven brain and gut barrier dysfunction in stress and mood disorders. *Eur. J. Neurosci.* **n/a**, (2021).
193. Kudryavtseva, N. N. A sensory contact model for the study of aggressive and submissive behavior in male mice. *Aggress. Behav.* **17**, 285–291 (1991).
194. Berton, O. *et al.* Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* **311**, 864–868 (2006).
195. Golden, S. A., Covington, H. E. 3rd, Berton, O. & Russo, S. J. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. *Nat. Protoc.* **6**, 1183–1191 (2011).
196. Golden, S. A., Covington, H. E. 3rd, Berton, O. & Russo, S. J. A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. *Nat. Protoc.* **6**, 1183–1191 (2011).

197. Huhman, K. L. Social conflict models: can they inform us about human psychopathology? *Horm. Behav.* **50**, 640–646 (2006).
198. Wolfer, D. P. *et al.* Laboratory animal welfare: cage enrichment and mouse behaviour. *Nature* **432**, 821–822 (2004).
199. Kentner, A. C., Speno, A. V, Doucette, J. & Roderick, R. C. The Contribution of Environmental Enrichment to Phenotypic Variation in Mice and Rats. *eNeuro* **8**, (2021).
200. Diamond, M. C., Lindner, B. & Raymond, A. Extensive cortical depth measurements and neuron size increases in the cortex of environmentally enriched rats. *J. Comp. Neurol.* **131**, 357–364 (1967).
201. Rosenzweig, M. R., Krech, D., Bennett, E. L. & Diamond, M. C. Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy: A replication and extension. *J. Comp. Physiol. Psychol.* **55**, 429–437 (1962).
202. DeVries, A. C., Glasper, E. R. & Detillion, C. E. Social modulation of stress responses. *Physiol. Behav.* **79**, 399–407 (2003).
203. Liu, D., Jiang, X.-Y. & Zhou, L.-S. Enriched environment on the intestinal mucosal barrier and brain–gut axis in rats with colorectal cancer. *Exp. Biol. Med.* **243**, 1185–1198 (2018).
204. Morano, R., Hoskins, O., Smith, B. L. & Herman, J. P. Loss of Environmental Enrichment Elicits Behavioral and Physiological Dysregulation in Female Rats . *Frontiers in Behavioral Neuroscience* vol. 12 Preprint at (2019).
205. Lupori, L. *et al.* The gut microbiota of environmentally enriched mice regulates visual cortical plasticity. *Cell Rep.* **38**, 110212 (2022).
206. Gubert, C. *et al.* Gene-environment-gut interactions in Huntington’s disease mice are associated with environmental modulation of the gut microbiome. *iScience* **25**, 103687 (2022).
207. Singh, Y. *et al.* Enriched Environmental Conditions Modify the Gut Microbiome Composition and Fecal Markers of Inflammation in Parkinson’s Disease. *Front. Neurosci.* **13**, (2019).

208. Mul, J. D. Voluntary exercise and depression-like behavior in rodents: are we running in the right direction? *J. Mol. Endocrinol.* **60**, R77–R95 (2018).
209. Pagliusi, M. *et al.* Therapeutic and Preventive Effect of Voluntary Running Wheel Exercise on Social Defeat Stress (SDS)-induced Depressive-like Behavior and Chronic Pain in Mice. *Neuroscience* **428**, 165–177 (2020).
210. Zhang, J. *et al.* Voluntary Wheel Running Reverses Deficits in Social Behavior Induced by Chronic Social Defeat Stress in Mice: Involvement of the Dopamine System . *Frontiers in Neuroscience* vol. 13 256 Preprint at (2019).
211. Mul, J. D. *et al.* Voluntary wheel running promotes resilience to chronic social defeat stress in mice: a role for nucleus accumbens Δ FosB. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* **43**, 1934–1942 (2018).
212. Bice, B. D. *et al.* Environmental Enrichment Induces Pericyte and IgA-Dependent Wound Repair and Lifespan Extension in a Colon Tumor Model. *Cell Rep.* **19**, 760–773 (2017).
213. Hoffman-Goetz, L., Pervaiz, N. & Guan, J. Voluntary exercise training in mice increases the expression of antioxidant enzymes and decreases the expression of TNF-alpha in intestinal lymphocytes. *Brain. Behav. Immun.* **23**, 498–506 (2009).
214. Hoffman-Goetz, L., Pervaiz, N., Packer, N. & Guan, J. Freewheel training decreases pro- and increases anti-inflammatory cytokine expression in mouse intestinal lymphocytes. *Brain. Behav. Immun.* **24**, 1105–1115 (2010).
215. Lancaster, G. I. *et al.* The physiological regulation of toll-like receptor expression and function in humans. *J. Physiol.* **563**, 945–955 (2005).
216. Moitinho-Silva, L. *et al.* Short-term physical exercise impacts on the human holobiont obtained by a randomised intervention study. *BMC Microbiol.* **21**, 162 (2021).
217. Clarke, S. F. *et al.* Exercise and associated dietary extremes impact on gut microbial diversity. *Gut* **63**, 1913–1920 (2014).

218. Bycura, D. *et al.* Impact of Different Exercise Modalities on the Human Gut Microbiome. *Sports* **9**, 14 (2021).
219. Everard, A. *et al.* Cross-talk between *Akkermansia muciniphila* and intestinal epithelium controls diet-induced obesity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **110**, 9066–9071 (2013).
220. Quiroga, R. *et al.* Exercise training modulates the gut microbiota profile and impairs inflammatory signaling pathways in obese children. *Exp. Mol. Med.* **52**, 1048–1061 (2020).
221. Allen, J. M. *et al.* Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med. Sci. Sports Exerc.* **50**, 747–757 (2018).
222. Matsumoto, M. *et al.* Voluntary Running Exercise Alters Microbiota Composition and Increases n-Butyrate Concentration in the Rat Cecum. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **72**, 572–576 (2008).
223. Peng, L., Li, Z.-R., Green, R. S., Holzman, I. R. & Lin, J. Butyrate Enhances the Intestinal Barrier by Facilitating Tight Junction Assembly via Activation of AMP-Activated Protein Kinase in Caco-2 Cell Monolayers. *J. Nutr.* **139**, 1619–1625 (2009).
224. Audet, M.-C. Beyond the neuro-immune interplay in depression: Could gut microbes be the missing link? *Brain Behav. Immun. - Health* **16**, 100308 (2021).
225. Muscatell, K. A., Brosso, S. N. & Humphreys, K. L. Socioeconomic status and inflammation: a meta-analysis. *Mol. Psychiatry* **25**, 2189 (2020).
226. Bonaccio, M. *et al.* Relative contribution of health-related behaviours and chronic diseases to the socioeconomic patterning of low-grade inflammation. *Int. J. Public Health* **62**, 551–562 (2017).
227. Wärnberg, J., Cunningham, K., Romeo, J. & Marcos, A. Physical activity, exercise and low-grade systemic inflammation. *Proc. Nutr. Soc.* **69**, 400–406 (2010).
228. Université Laval. Laboratory Animal Theory.

229. CCAC - Canadian Council on Animal Care: Environmental Enrichment. <https://ccac.ca/en/training/modules/animals-housed-in-vivaria-stream/environmental-enrichment.html>.
230. Bialkowska, A. B., Ghaleb, A. M., Nandan, M. O. & Yang, V. W. Improved Swiss-rolling Technique for Intestinal Tissue Preparation for Immunohistochemical and Immunofluorescent Analyses. *J. Vis. Exp. JoVE* 54161 (2016) doi:10.3791/54161.
231. Doney, E. *et al.* Chronic stress exposure alters the gut barrier: sex-specific effects on microbiota and jejunum tight junctions. 2022.09.13.507821 Preprint at <https://doi.org/10.1101/2022.09.13.507821> (2022).
232. Wang, W. *et al.* Chronic social defeat stress mouse model: Current view on its behavioral deficits and modifications. *Behav. Neurosci.* **135**, 326–335 (2021).
233. Kudryavtseva, N. N. A sensory contact model for the study of aggressive and submissive behavior in male mice. *Aggress. Behav.* **17**, 285–291 (1991).
234. Zhang, J. *et al.* Different baseline physical activity predicts susceptibility and resilience to chronic social defeat stress in mice: Involvement of dopamine neurons. *Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol.* **45**, 15–28 (2021).
235. Dinan, T. G. & Cryan, J. F. The Microbiome-Gut-Brain Axis in Health and Disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* **46**, 77–89 (2017).
236. Lynn, K. S., Peterson, R. J. & Koval, M. Ruffles and spikes: Control of tight junction morphology and permeability by claudins. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* **1862**, 183339 (2020).
237. Liu, M.-Y. *et al.* Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nat. Protoc.* **13**, 1686–1698 (2018).
238. Can, A. *et al.* The Mouse Forced Swim Test. *J. Vis. Exp. JoVE* 3638 (2012) doi:10.3791/3638.

239. Otabi, H., Goto, T., Okayama, T., Kohari, D. & Toyoda, A. The acute social defeat stress and nest-building test paradigm: A potential new method to screen drugs for depressive-like symptoms. *Behav. Processes* **135**, 71–75 (2017).
240. Delanogare, E. *et al.* Enriched environment ameliorates dexamethasone effects on emotional reactivity and metabolic parameters in mice. *Stress Amst. Neth.* **23**, 1–8 (2020).
241. Lehmann, M. L. & Herkenham, M. Environmental enrichment confers stress resiliency to social defeat through an infralimbic cortex-dependent neuroanatomical pathway. *J. Neurosci.* **31**, 6159–6173 (2011).
242. Mul, J. D. Voluntary exercise and depression-like behavior in rodents: are we running in the right direction? *J. Mol. Endocrinol.* **60**, R77–R95 (2018).
243. Fuller, K. N. Z. & Thyfault, J. P. Barriers in translating preclinical rodent exercise metabolism findings to human health. *J. Appl. Physiol.* **130**, 182–192 (2021).
244. Richter, S. H., Garner, J. P. & Würbel, H. Environmental standardization: cure or cause of poor reproducibility in animal experiments? *Nat. Methods* **6**, 257–261 (2009).
245. Bailoo, J. D. *et al.* Effects of Cage Enrichment on Behavior, Welfare and Outcome Variability in Female Mice. *Front. Behav. Neurosci.* **12**, 232 (2018).
246. Kempermann, G. Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. *Nat. Rev. Neurosci.* **20**, 235–245 (2019).
247. Dinan, T. G. & Cryan, J. F. Gut instincts: microbiota as a key regulator of brain development, ageing and neurodegeneration. *J. Physiol.* **595**, 489–503 (2017).
248. Lameris, A. L. *et al.* Expression profiling of claudins in the human gastrointestinal tract in health and during inflammatory bowel disease. *Scand. J. Gastroenterol.* **48**, 58–69 (2013).
249. Sun, J. & Zhang, Y.-G. Vitamin D Receptor Influences Intestinal Barriers in Health and Disease. *Cells* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.3390/cells11071129> (2022).
250. Engevik, A. C. *et al.* Recruitment of Polarity Complexes and Tight Junction Proteins to the Site of Apical Bulk Endocytosis. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* **12**, 59–80 (2021).

251. Chen, W. Y. *et al.* Acrolein Disrupts Tight Junction Proteins and Causes Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Epithelial Cell Death Leading to Intestinal Barrier Dysfunction and Permeability. *Am. J. Pathol.* **187**, 2686–2697 (2017).
252. Volynets, V. *et al.* Assessment of the Intestinal Barrier with Five Different Permeability Tests in Healthy C57BL/6J and BALB/cJ Mice. *Dig. Dis. Sci.* **61**, 737–746 (2016).
253. Kessler, R. C., McGonagle, K. A., Swartz, M., Blazer, D. G. & Nelson, C. B. Sex and depression in the National Comorbidity Survey. I: Lifetime prevalence, chronicity and recurrence. *J. Affect. Disord.* **29**, 85–96 (1993).
254. Uhl, K., Parekh, A. & Kweder, S. Females in Clinical Studies: Where are We Going? *Clin. Pharmacol. Ther.* **81**, 600–602 (2007).
255. Labonté, B. *et al.* Sex-specific transcriptional signatures in human depression. *Nat. Med.* **23**, 1102–1111 (2017).
256. Dion-Albert, L. *et al.* Vascular and blood-brain barrier-related changes underlie stress responses and resilience in female mice and depression in human tissue. *Nat. Commun.* **13**, 164 (2022).
257. Chen, J.-J. *et al.* Sex differences in gut microbiota in patients with major depressive disorder. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **14**, 647–655 (2018).
258. Williams, Z. A. *et al.* Sex-specific effects of voluntary wheel running on behavior and the gut microbiota-immune-brain axis in mice. <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/2022.10.24.513258> (2022)
doi:10.1101/2022.10.24.513258.
259. Siopi, E. *et al.* Changes in Gut Microbiota by Chronic Stress Impair the Efficacy of Fluoxetine. *Cell Rep.* **30**, 3682-3690.e6 (2020).
260. Wang, L. *et al.* Effects of SSRIs on peripheral inflammatory markers in patients with major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis. *Brain. Behav. Immun.* **79**, 24–38 (2019).

261. Kelly, J. R. *et al.* Breaking down the barriers: The gut microbiome, intestinal permeability and stress-related psychiatric disorders. *Front. Cell. Neurosci.* **9**, (2015).
262. Iordache, M. M. *et al.* Intestinal Permeability and Depression in Patients with Inflammatory Bowel Disease. *J. Clin. Med.* **11**, 5121 (2022).

Annexe 1 – Amorces qPCR

Gene	Ref Seq #	Assay ID	Forward Primer	Reverse Primer
mCldn2	NM_016675	-	5'GTCATCGCCCATCA GAAGAT-3'	5' CTGTTGGACAGGGAAC CAGT-3'
Cldn3	NM_009902	Mm.PT.58.43310 459.g	5'- CACTACCAGCAGTCG ATGAAC-3'	5'- GTCTGTCCTCTTCCAG CCTA-3'
Cldn7	NM_016887	Mm.PT.58.16298 059	5'- GATGAGCTGCAAAT GTACGAC-3'	5'- TGGCGACAAACATGGC TAA-3'
Cldn12	NM_022890	Mm.PT.58.41535 303	5'- TGTGCAGATGTGCTC CTG-3'	5'- GCTGTATGGTCAGTAA TTCAAGG-3'
Cldn15	NM_021719	Mm.PT.58.29267 285	5'- CACCAACACCATCTT TGAGAA-3'	5'- GATGGCGGTGATCATG AGAG-3'
Tjp1	NM_009386	Mm.PT.58.29459 730	5'- AGCGATTCAGCAGCA ACA-3'	5'- TGACAGGTAGGACAG ACGAT-3'
Tjp2	NM_011597	Mm.PT.58.16834 535	5'- CCACAAGGCAAAATT ACAGAGG-3'	5'- GGAACCGCATAGATGT CAGG-3'
Tjp3	NM_013769	Mm.PT.58.43961 106	5'- GAGATGCCAGAAGA GTTTGAGA-3'	5'- TGCTTATCCCTCTCTGC GA-3'
Ocln	NM_008756	Mm.PT.58.42749 240	5'- CTGGATGACTACAGA GAGGAGA-3'	5'- ATTTGCTCTTCAACTG CTTGC-3'
Marveld2	NM_178410	Mm.PT.58.77193 03	5'- CTGAGGAAGTTTGAC GAGCTG-3'	5'- TCCAGAAACGAAGGGT CATTC-3'
Actb	NM_007393	Mm.PT.39a.2221 4843.g(1)	5'- GATTACTGCTCTGGC TCCTAG-3'	5'- GACTCATCGTACTCCT GCTTG-3'

Annexe 2 – Détail de l’environnement enrichi

Reporting Item ¹	Description
<i>EE cage size (LxWxH) in cm</i>	(26.7 cm × 48.3 cm × 15.2 cm, Allentown Inc)
<i>Control cage size (LxWxH) in cm</i>	(26.7 cm × 48.3 cm × 15.2 cm, Allentown Inc)
<i>Material of EE cages</i>	Plastique
<i>Material of Control cages</i>	Plastique
<i>Type of EE caging system (e.g. open top/individually ventilated)</i>	Cage avec grillage ouvert Séparateur perforé en plexiglass (0.6 cm × 45.7 cm × 15.2 cm, Nationwide Plastics)
<i>Type of Control caging system (e.g. open top/individually ventilated)</i>	Cage avec grillage ouvert Séparateur perforé en plexiglass (0.6 cm × 45.7 cm × 15.2 cm, Nationwide Plastics)
<i>Number and sex of animals housed in each EE cage</i>	Une souris mâle B6 et une souris mâle CD-1 par cage
<i>Number and sex of animals housed in each Control cage</i>	Deux souris mâles B6 par cage
<i>Enrichment devices in EE cages. What type of materials were devices made of? How many enrichment devices were typically in the cage?</i>	1 Maisonnette en plastique 1 Jouet en nylon (Nylabone, Bio-Serv) 1 Matériel de nidification (Nestlet, Ancare)
<i>Enrichment devices in Control cages. What type of materials were devices made of? How many enrichment devices were typically in the cage?</i>	1 Maisonnette en plastique 1 Jouet en nylon (Nylabone, Bio-Serv) 1 Matériel de nidification (Nestlet, Ancare)
<i>How frequently were enrichment devices changed in EE cages?</i>	Inchangé
<i>How frequently were enrichment devices changed in Control cages?</i>	Inchangé
<i>Bedding type and other nesting materials in EE cages</i>	Litière de bois (SaniChip)
<i>Bedding type and other nesting materials in Control cages</i>	Litière de bois (SaniChip)
<i>Age of animals when placed into EE housing</i>	7 semaines
<i>Duration housed in EE cages</i>	Jour 0 jusqu’au jour 10 de la CSDS Retrait de la maisonnette et du jouet au jour 10
<i>Frequency of cage cleanings for EE animals</i>	Pas de nettoyage
<i>Frequency of cage cleanings for Control animals</i>	Pas de nettoyage
<i>Were EE and Control animals housed in the same room or different?</i>	Même pièce
<i>Specific number of EE and Control animals used for each measure reported</i>	32 animaux stressés avec EE 16 animaux contrôles avec EE
<i>Other notes/comments</i>	Température ambiante maintenue entre 19 et 23 °C; Humidité entre 40-45%

¹ Tableau adapté de Kentner et al., 2021. *The Contribution of Environmental Enrichment to Phenotypic Variation in Mice and Rats*. eNeuro 23 February 2021, 8 (2) ENEURO.0539-20.2021; DOI: 10.1523/ENEURO.0539-20.2021

Annexe 3 – Détail de l'exercice physique

Reporting Item ¹	Description
<i>EE cage size (LxWxH) in cm</i>	(26.7 cm × 48.3 cm × 15.2 cm, Allentown Inc)
<i>Control cage size (LxWxH) in cm</i>	(26.7 cm × 48.3 cm × 15.2 cm, Allentown Inc)
<i>Material of EE cages</i>	Plastique
<i>Material of Control cages</i>	Plastique
<i>Type of EE caging system (e.g. open top/individually ventilated)</i>	Cage avec grillage ouvert Séparateur perforé en plexiglass (0.6 cm × 45.7 cm × 15.2 cm, Nationwide Plastics)
<i>Type of Control caging system (e.g. open top/individually ventilated)</i>	Cage avec grillage ouvert Séparateur perforé en plexiglass (0.6 cm × 45.7 cm × 15.2 cm, Nationwide Plastics)
<i>Number and sex of animals housed in each EE cage</i>	Une souris mâle B6 et une souris mâle CD-1 par cage
<i>Number and sex of animals housed in each Control cage</i>	Deux souris mâles B6 par cage, une ayant accès à la roue d'exercice
<i>Enrichment devices in EE cages. What type of materials were devices made of? How many enrichment devices were typically in the cage?</i>	1 Roue d'exercice en plastique (ENV-047, Med-Associate inc)
<i>Enrichment devices in Control cages. What type of materials were devices made of? How many enrichment devices were typically in the cage?</i>	1 Roue d'exercice en plastique (ENV-047, Med-Associate inc)
<i>How frequently were enrichment devices changed in EE cages?</i>	Roue nettoyée au jour 5
<i>How frequently were enrichment devices changed in Control cages?</i>	Roue nettoyée au jour 5
<i>Bedding type and other nesting materials in EE cages</i>	Litière de bois (SaniChip)
<i>Bedding type and other nesting materials in Control cages</i>	Litière de bois (SaniChip)
<i>Age of animals when placed into EE housing</i>	7 semaines
<i>Duration housed in EE cages</i>	Jour 0 jusqu'au jour 10 de la CSDS Retrait de la roue d'exercice au jour 10
<i>Frequency of cage cleanings for EE animals</i>	Pas de nettoyage
<i>Frequency of cage cleanings for Control animals</i>	Pas de nettoyage
<i>Were EE and Control animals housed in the same room or different?</i>	Même pièce
<i>Specific number of EE and Control animals used for each measure reported</i>	32 animaux stressés avec EE 16 animaux contrôles avec EE 16 animaux sans EE
<i>Other notes/comments</i>	Température ambiante maintenue entre 19 et 23 °C; Humidité entre 40-45%

¹ Tableau adapté de Kentner et al., 2021. *The Contribution of Environmental Enrichment to Phenotypic Variation in Mice and Rats*. eNeuro 23 February 2021, 8 (2) ENEURO.0539-20.2021; DOI: 10.1523/ENEURO.0539-20.2021