



HAL
open science

Bases moléculaires et cellulaires des effets antidépresseurs de l'électro-convulsivothérapie (ECT)

Julie Jonckheere Ruiz de Larrinaga

► **To cite this version:**

Julie Jonckheere Ruiz de Larrinaga. Bases moléculaires et cellulaires des effets antidépresseurs de l'électro-convulsivothérapie (ECT). Sciences agricoles. Université Grenoble Alpes, 2017. Français. NNT : 2017GREAV023 . tel-01685524

HAL Id: tel-01685524

<https://theses.hal.science/tel-01685524>

Submitted on 16 Jan 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE LA COMMUNAUTÉ UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : **Neuroscience Neurobiologie**

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

Julie JONCKHEERE-RUIZ DE LARRINAGA

Thèse dirigée par **Annie ANDRIEUX** et
codirigée par **Marie-Françoise SUAUD-CHAGNY** et
co-encadrée par **Sylvie GORY-FAURE**

préparée au sein du **Grenoble Institut des Neurosciences
U1216** équipe **Physiopathologie du cytosquelette**
dans l'**École Doctorale Chimie et Science du Vivant**

Bases biologiques des effets thérapeutiques de l'électro- convulsivo-thérapie (ECT).

Thèse soutenue publiquement le **10 Février 2017**,
devant le jury composé de :

Pr, Mircea, POLOSAN

Professeur de l'université Grenoble Alpes, Président

Pr, Sylvie, GRANON

Professeure de l'Université Paris-Sud, Rapporteur

Dr, Joëlle, CHABRY

Chargé de recherche à l'Institut de Pharmacologie Moléculaire et
Cellulaire, Rapporteur

Pr, Christophe, PORCHER

Professeur des Université de l'université Aix-Marseille, Examineur

Dr, Vanceslas, Duveau

Responsable scientifique, SynapCell, Grenoble



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier les membres du jury : Mircea Polosan, Sylvie Granon, Joëlle Chabry, Christophe Porcher et Vanceslas Duveau, pour avoir accepté d'évaluer mon travail.

Je remercie l'ARC2 (Communautés de recherche académique Rhône Alpes, Qualité de vie et vieillissement) qui a financé ce projet.

Je tiens également à remercier ma directrice de thèse Annie Andrieux et ma co-directrice Marie-Francoise Suaud-Chagny pour m'avoir permis de travailler sur ce projet.

Je tiens à remercier tout particulièrement Sylvie qui m'a encadrée, formée, soutenue et supportée pendant tout ce travail et ses aléas, et qui a eu la délicate charge de corriger mes écrits !

Je souhaiterais également (ne pas) remercier Toff pour toutes les discussions neurogénèse très enrichissantes et surtout tous les moments de décompression !

Je remercie aussi toute l'équipe « Physiopathologie du cytosquelette » : Eric Denarier, Jaques Brocard, Christophe Bosc, Charlotte Corrao, Christian Delphin, Isabel le Lebrun, Cécile Boscheron, Jean -Marc Soleilhac, Leticia Peris, Marie-José Moutin, Yasmina Saoudi, pour tous les conseils, les questions incisives et tous les bons moments dont les vendredi soirs et les soirées intergénérationnelles ! Ainsi que Karine Mora notre gestionnaire pour un temps, qui m'a beaucoup aidé avec mes déboires avec l'administratif !

Je remercie également Jérôme Holtzman et Gaëlle Dal'Igna pour les conseils et l'aide apportée depuis mon arrivé sur le projet.

Un grand merci également à tous les doctorants « anciens » et actuels : Marine, Charlotte, Marc, Alexis, Muriel, Anne-Cécile, Julie-Anne, Amandine, Maëlle, ... pour les conseils, les congrès et pique nique organisés, les soirées et tous les bons moments passés. Et bien sûr à mes deux collègues de bureau Chrystelle et Benoit qui ont supportés la chaleur du bureau pendant ma rédaction!

Je voudrais surtout remercier Lucie et Agathe pour leur soutien et leur patience durant mes longues plaintes sur les aléas de la thèse, le fichier de thèse qui est écrasé et tous les autres supers moments passé ensemble trop nombreux pour être cités!

Je remercie également tous mes potes savoyard et grenoblois (Estelle, Célia, Anaïs, Benj, Krou, Laurent, Laurianne, Sarah), pour le soutien, les soirées décompressions, les sessions ride, les bières, les vacances ... tous les super moments passés avec vous !

Et enfin je souhaiterais dire un énorme merci ma famille qui m'a soutenu et encouragé durant tout mon parcours !

Table des matières

Table des figures	7
Liste des tableaux	7
Liste des abréviations	9
Introduction	13
I. L'électroconvulsivothérapie.....	15
1. Indications de l'ECT.	15
A Les troubles dépressifs.	17
B La schizophrénie.	21
2. Le principe de l'ECT.....	26
3. La stimulation électro-convulsive ou ECS, le modèle animal de l'ECT.	27
A Les modèles animaux.....	27
B Les modèles animaux associés aux ECS.....	28
4. Modification biologique de l'ECT/ECS.....	32
A Modifications anatomiques et fonctionnelles de l'encéphale.	32
B Modifications des systèmes de neurotransmission.	33
C Modifications de l'axe hypothalamo-hypophysaire.....	37
D Facteurs trophiques.	38
E Modifications de mécanismes de neuroplasticité.....	39
F Prolifération cellulaire non neuronale.....	41
G Modifications de la neurogénèse adulte hippocampique.	42
II. Le cytosquelette et les pathologies psychiatriques.....	55
1. Le cytosquelette neuronal.	56
A L'actine.	56
B Les microtubules.	56
C Les MAPs.....	57
2. Les protéines MAP6.....	59
A Structures moléculaires et isoformes.	60
B Fonctions des isoformes neuronales.	61

3. Les souris KO-MAP6.....	62
A Génération des souris KO-MAP6.	62
B Troubles comportementaux.....	63
C Défauts neuro-anatomique.	65
D Défauts neurophysiologiques.....	65
E Effets de traitements.....	67
F Conclusion sur la souris KO-MAP6.	69
G Souris hétérozygote pour MAP6.....	70
Objectifs	71
Résultats	75
Article 1.....	77
Article 2.....	115
Discussion et perspectives.....	145
Bibliographie.....	159

Table des figures

Figure 1: Schéma illustrant l'expression des différents types de symptômes communs aux pathologies psychiatriques.....	16
Figure 2: Axe Hypothalamo-hypophysaire-surrénalien.	20
Figure 3: Localisation et grandes étapes de la neurogénèse adulte hippocampique.	43
Figure 4: Schéma représentant les différents processus physiologique qui vont se développer au cours des étapes de la neurogénèse adulte hippocampique.	44
Figure 5: Illustration du phénomène de « pattern separation ».	52
Figure 6: Structure des isoformes neuronales : MAP6-E et MAP6-N.....	60

Liste des Tableaux

Tableau 1: Gènes candidats présentant le plus d'évidences dans la susceptibilité à la schizophrénie.....	25
---	----

Liste des abréviations

5HIAA:	5-hydroxy-indole-acétique
5-HT:	Sérotonine
5HTT:	Serotonin transporter = SERT
ACTH:	Adrénocorticotrophine
ADN:	Acide Désoxyribonucléique
AMPA:	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
ANAES :	Agence Nationale d'Accréditation et d'évaluation de la Santé
APA :	American Psychiatric Association
ARNm :	Acide Ribonucléique messenger
ATV:	Air Tegmentale Ventrale
AVC :	Accident Vasculaire Cérébrale
BDNF:	Brain-Derived Neurotrophic Factor
CA:	Corn Ammon
CAMK II:	Ca ²⁺ /calmodulin-dependent protein kinase II
cHL :	congenitally Learned Helpless
CMS:	Chronic Mild Stress
cNLH:	congenitally Learned Helpless
COMT:	Catechol-O-methyltransferase
CORT:	Corticosterone
CRF:	Corticotropin Releasing Factor
CUMS:	Chronic Unpredictable Mild Stress
DALY:	Disability Adjusted Life Year
DAOA:	D-amino acid oxidase activator
DCX:	Doublecortin
DFP:	Diisopropyl Fluorophosphate
DG:	Dentate Gyrus
DISC1:	Disrupted in schizophrenia 1
DOPAC:	3,4-Dihydroxyphenylacetic Acid
DSM:	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
ECS:	Electroconvulsive Stimulation
ECT:	Electroconvulsothérapie

EDM:	Episode Dépressif Majeur
EE:	Environmental Enrichment
FGF-2:	Fibroblast Growth Factor
FLS:	Flinders Sensitive Line
FLX:	Fluoxetin
FST:	Forced Swim Test
GABA:	Gamma-Aminobutyric acid
GAP-43:	Growth Associated Protein 43
GCL:	Granul Cell Layer
GFAP:	Glial fibrillary acidic protein
GFAP-TK:	Glial fibrillary acidic protein-Thymidin Kinase
HAS:	Haute Autorité de Santé
Het:	Heterozygote
HPA:	Hypothalamic Pituitary Adrenal
HVA:	Homovanillique Acide
IGF-1:	Insulin-like growth factor-1
IL:	Interleukin
IS :	Interaction Sociale
IRM:	Imagerie par Résonance Magnétique
KO:	Knock Out
LTD:	Long Term Depression
LTP:	Long Term Potentiation
MAM:	Methylazoxymethanol
MAP:	Microtubule Associated Protein
mBDNF:	mature Brain-Derived Neurotrophic Factor
mGlu:	métabotrope récepteur du glutamate
ML:	Molecular Layer
NA:	Noradrénaline
Nacc:	Noyaux Accumbens
NAP:	Davunetide
NET:	Norepinephrine Transporter
NeuN:	Neuron-specific Nuclear protein
Neuro D1:	Neurogenic differentiation 1
NGF:	Nerve growth factor

NICE:	National Institute for Health and Care Excellence
NL:	Neuroleptique
NMDA:	N-Methyl-D-aspartate
NPY:	Neuropeptide Y
NSE-DTA:	Neronal Specific Enolase- Diphtheria Toxin fragment A
NSF:	Novelty Supressed Feeding
NT3:	Neurotrophin-3
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PPI :	Prepulse Inhibition
PRD:	Proline Riche Domaine
PRODH:	Proline dehydrogenase 1
Prox 1 :	Prospero homeobox protein 1
PTP:	Post Tetanic Potentiation
SERT:	Serotonin Reuptake Transporter
SGZ:	Sub Granular Zone
STOP:	Stable Tubule Only Polypeptide
SVP:	Synaptic Vesicle Precursor
TEP:	Tomographie par Emission de Positons
TGF:	Transforming Growth Factor
TrkB:	Tropomyosin receptor kinase B
VEGF:	Vascular endothelial growth factor
WT:	Wild Type

Introduction

I. L'électroconvulsivothérapie.

L'électroconvulsivothérapie ou ECT, a été initialement développée dans les années 1930, pour le traitement des maladies mentales. Cerletti et Bini ont développé le premier appareil permettant d'induire une crise convulsive par un courant électrique, donnant à ce traitement le nom péjoratif « d'électrochoc ». Le caractère impressionnant des crises convulsives provoquées par les décharges électriques, et les accidents traumatiques sérieux qui pouvaient être induits ont contribué à la mauvaise image de cette thérapie. Après une diminution jusqu'à l'arrêt de son utilisation durant 20 ans, l'ECT revient dans les années 1980 parmi les options de traitement des pathologies psychiatriques, avec une application préférentielle pour les états dépressifs majeurs (Vanelle et al., 2008).

1. Indications de l'ECT.

Les pathologies psychiatriques sont des affections lourdes de longue durée, avec un impact économique et sociétal important. Une personne sur quatre souffre de troubles mentaux ou neurologiques dans le monde, ce qui représente actuellement environ 450 millions de personnes, plaçant les troubles mentaux dans les causes principales de morbidité et d'incapacité à l'échelle mondiale (OMS, rapport sur la santé mondiale 2001).

Différentes classifications peuvent être faites pour décrire les troubles psychiatriques, soit par la catégorisation en pathologies (classification catégorielle), soit par la catégorisation des différents types de symptômes exprimés chez les patients (classification dimensionnelle). Cette dernière classification apparaît plus pertinente face aux symptômes qui peuvent être communément exprimés dans les différentes pathologies psychiatriques. Comme illustré dans la Figure 1, les patients atteints d'épisodes dépressifs majeurs, de schizophrénie ou de trouble bipolaire peuvent présenter des symptômes similaires avec des niveaux d'expression qui varient selon la pathologie. On peut par exemple citer la présence de troubles cognitifs dans les trois pathologies.

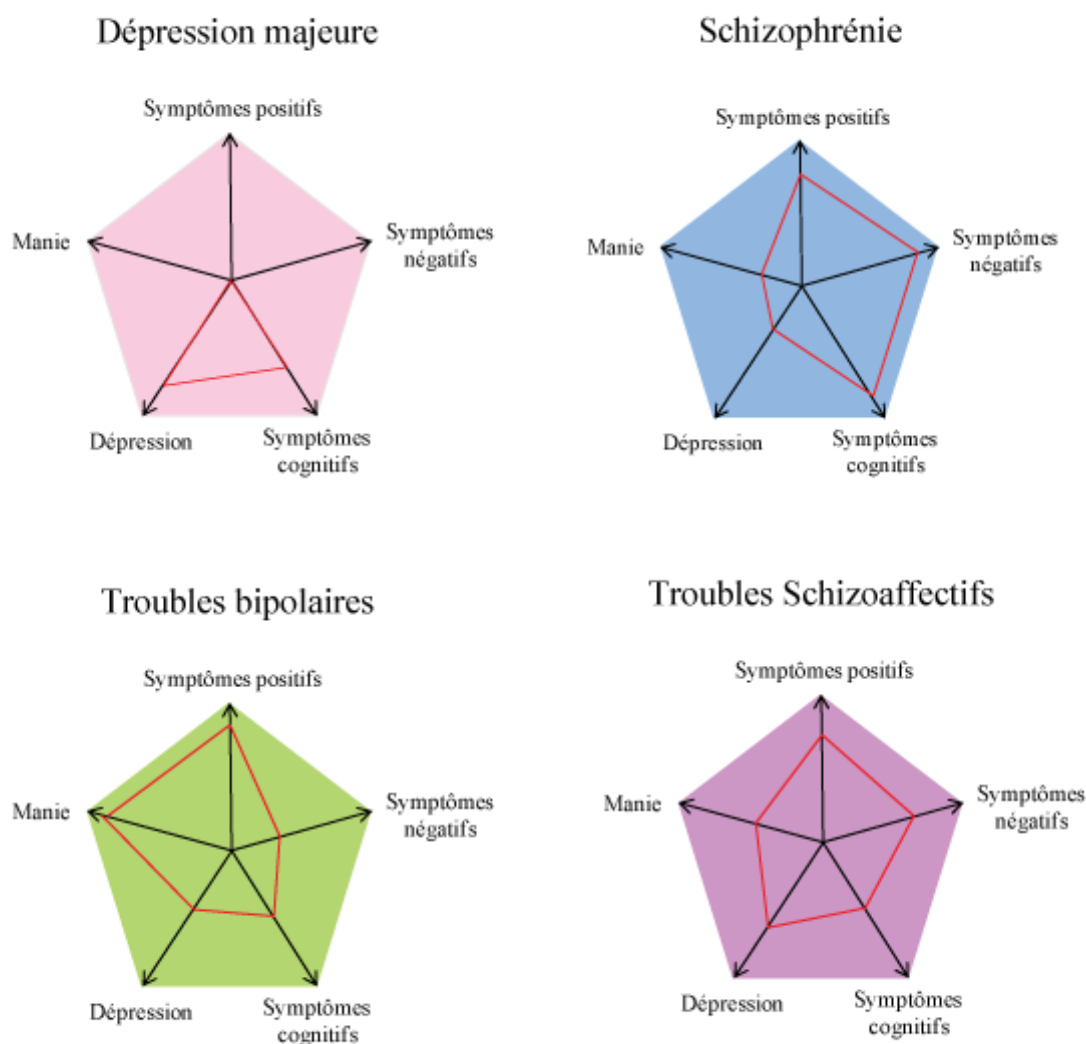


Figure 1: Schéma illustrant l'expression des différents types de symptômes communs aux pathologies psychiatriques.

Chaque pentagone représente une pathologie psychiatrique, la dépression majeure est illustrée en rose, la schizophrénie en bleu, les troubles bipolaires en vert, la pathologie de type schizoïde est illustrée en violet. Chaque sommet représente une dimension (ensemble de symptômes) associée à la pathologie. Les lignes rouges correspondent à l'intensité relative de chaque dimension dans une pathologie donnée (Modifié de van Os et Kapur 2009).

Les traitements pharmacologiques des pathologies psychiatriques, sont généralement efficaces. Cependant, ils doivent être mis en place progressivement, et leur délai d'action peut être important. Par exemple, avec les antidépresseurs le début de l'amélioration est obtenu après 1 à 3 semaines de traitement, la réponse thérapeutique complète après 2 à 8 semaines et le traitement doit être prolongé sur plusieurs mois. De plus seulement 30% des patients montrent une rémission et 30% ne répondent pas à ce traitement, on parle alors de dépression résistante après l'échec de deux traitements pharmacologiques successifs bien conduits

(Sackeim, 2001; Nestler et al., 2002 b). Cette réponse pharmacologique peut être problématique lorsque l'état des patients nécessite une prise en charge rapide en situation d'urgence comme par exemple lorsque leur pronostic vital est engagé (risque suicidaire, altérations graves de l'état général).

L'existence de résistance aux agents pharmacologiques, de la latence d'action de ces agents pharmacologique face à des situations où il y a un risque vital pour les patients, a nécessité le retour d'une ancienne thérapie non pharmacologique et rapidement efficace : l'électroconvulsivothérapie ou ECT.

L'ECT peut être utilisée en **première intention** s'il existe un risque vital à court terme, ou lorsque la prise d'agents pharmacologiques n'est pas compatible avec l'état de santé du patient. Elle peut être utilisée en **seconde intention** suite à l'échec de plusieurs séquences de traitements pharmacologiques (ANAES 1998). Les indications principales de l'ECT sont les épisodes dépressifs majeurs. Pour ces états, l'ECT présente une efficacité curative à moyen terme évaluée à 85-90% de patients répondeurs (ANAES 1998).

L'ECT peut également être utilisée pour les syndromes catatoniques (présents dans les états dépressifs sévères et la schizophrénie), pour la schizophrénie résistante aux agents pharmacologiques, et pour les épisodes maniaques (définis par des épisodes d'excitations pathologiques survenant au cours de l'évolution d'un trouble bipolaire).

Les troubles dépressifs et certains symptômes de la schizophrénie étant les indications préférentielles de l'ECT, je développerai par la suite, uniquement ces deux pathologies.

A Les troubles dépressifs.

La dépression est l'une des principales causes de handicap dans le monde, près de 350 millions de personnes de tous âges en sont atteints (OMS, aide-mémoire N°396, avril 2016). Un des indicateurs les plus utilisés pour étudier l'impact des maladies est le DALY « Disability Adjusted Life Year », qui représente le nombre d'années « perdues » à cause de la maladie. Le classement 2012 montre que les troubles dépressif unipolaire sont 9^{ième} pour le DALY au niveau mondial et 3^{ième} au niveau Européen (juste derrière les AVC et les ischémies cardiaques). De plus, l'OMS prévoit que les troubles dépressifs seront au 3^{ième} rang mondial pour l'année 2020. L'épisode dépressif majeur (EDM) est un problème de santé publique

important avec une prévalence sur la vie entière d'environ 20% (HAS, ALD n°23- Troubles dépressifs récurrents ou persistants de l'adulte, février 2009).

a) Symptômes.

L'épisode dépressif majeur est caractérisé principalement par une humeur dépressive ou une perte d'intérêt ou de plaisir pour presque toutes les activités. Le patient doit également présenter quatre symptômes supplémentaires parmi la liste suivante : changement d'appétit ou de poids, du sommeil et de l'activité psychomotrice ; réduction de l'énergie ; idée de dévalorisation ou de culpabilité ; difficultés à penser, à se concentrer ou à prendre des décisions ; idées de mort récurrentes, idées suicidaires, plans ou tentatives de suicide. Ces symptômes doivent être présent pratiquement toute la journée et presque tous les jours durant au moins deux semaines consécutives. De plus, ces symptômes ne doivent pas être explicables par une cause physiologique (lié à une substance ou une maladie), ou en réaction à la mort d'un être cher (DSM-VI).

b) Altérations et étiologie.

Il a longtemps été recherché des marqueurs permettant de diagnostiquer les pathologies psychiatriques, dont la dépression. Cependant, plusieurs raisons rendent la recherche de marqueurs diagnostiques des maladies psychiatriques chez l'Homme compliquée. D'une part, les maladies psychiatriques sont souvent très complexes en termes d'expression clinique, d'étiologie, de comorbidité et les études pâtissent du manque d'homogénéité des caractéristiques cliniques des patients ou de la taille réduite des groupes inclus. D'autre part, les paramètres biologiques accessibles chez l'homme sont réduits en nombre et sont souvent des index indirects d'un mécanisme altéré au niveau central dans la pathologie psychiatrique. Malgré ces difficultés un certain nombre d'altérations ont pu être identifiées chez une majorité des patients atteints de dépression.

– Neuro-anatomie.

Les études histologiques post-mortem et celles utilisant différentes techniques d'imagerie ont mis en évidence des altérations du volume de certaines structures cérébrales impliquées dans la physiopathologie de la dépression.

Chez les patients atteints de dépression, l'altération anatomique la plus souvent rapportée est une diminution de volume de l'hippocampe (Campbell and MacQueen, 2006; Konarski et al., 2008). D'autres régions cérébrales sont altérées dans cette pathologie, avec

une variation selon les régions. Ainsi, il a été observé une altération de volume du thalamus, de l'amygdale et du cortex frontal, auquel s'ajoute le cortex cingulaire et le striatum (Campbell and MacQueen, 2006; Konarski et al., 2008; Rot et al., 2009).

La structure même de ces régions est également impactée, avec une diminution de la densité cellulaire ou de zone contenant les arborisations dendritiques, jusqu'à trouver une diminution du nombre d'épines (Rajkowska, 2000; Manji et al., 2001; Banasr et al., 2011; Bennett, 2011; Kang et al., 2012; Calabrese et al., 2016).

– Activité cérébrale.

Chez des patients atteints de dépression, il a été observé par IRM, des modifications du débit sanguin dans différentes régions cérébrales, tel que le cortex préfrontal et cingulaire, l'hippocampe, le striatum, l'amygdale et le thalamus (Nestler et al., 2002 a; Drevets et al., 2008; Müller et al., 2016).

– Neurotransmission.

La dérégulation de la dopamine a été impliquée dans la physiopathologie de la dépression, par son rôle principal dans le circuit de la récompense, qui pourrait ainsi être responsable de l'anhédonie observée chez les patients (Nestler and Carlezon Jr, 2006; Dunlop and Nemeroff, 2007). Quelques études ont montré différentes dérégulations des systèmes glutamatergique et GABAergiques (Hasler et al., 2007; Sanacora et al., 2008). Cependant, la neurotransmission la plus impactée dans la dépression semble être celle de la sérotonine. En effet, les antidépresseurs les plus couramment utilisés ciblent les transporteurs responsables de la recapture de la sérotonine (SERT) (ANAES mais 2002). L'effet de ce traitement a pour conséquence d'augmenter la neurotransmission sérotoninergique.

– Axe hypothalamo-hypophysaire (HPA).

Une altération de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (axe HPA) et des glucocorticoïdes a été observée chez les patients atteints de dépression. Comme illustré dans la Figure 2, cet axe est composé de différentes structures liées par des interactions directes et de rétrocontrôle. L'axe HPA joue un rôle dans la réponse au stress; ainsi le stress va activer directement l'hypothalamus ou indirectement par l'intermédiaire de l'amygdale. L'hypothalamus va libérer le facteur CRF (pour l'anglais Corticotropin-releasing factor), qui par la stimulation des récepteurs au CRF de type 1 (CRF₁) de l'hypophyse (ou glande pituitaire), va induire la libération de corticotrophine aussi connue sous le nom d'ACTH (pour l'anglais Ardeno-Corticotrophic Hormone). Le CRF va également stimuler les récepteurs

CRF₁ de l'hypothalamus induisant une libération supplémentaire de CRF. L'ACTH va stimuler les glandes surrénales induisant la production de l'hormone dite du stress : le cortisol (corticostérone pour les rongeurs). Par l'intermédiaire de ces récepteurs (récepteurs aux glucocorticoïdes), elle va agir sur de nombreux organes, dont le cerveau et plus particulièrement l'hippocampe, qui va moduler l'axe. Le cortisol circulant va induire un rétrocontrôle négatif sur l'axe par les récepteurs aux glucocorticoïdes notamment au niveau de l'hypothalamus et l'hypophyse.

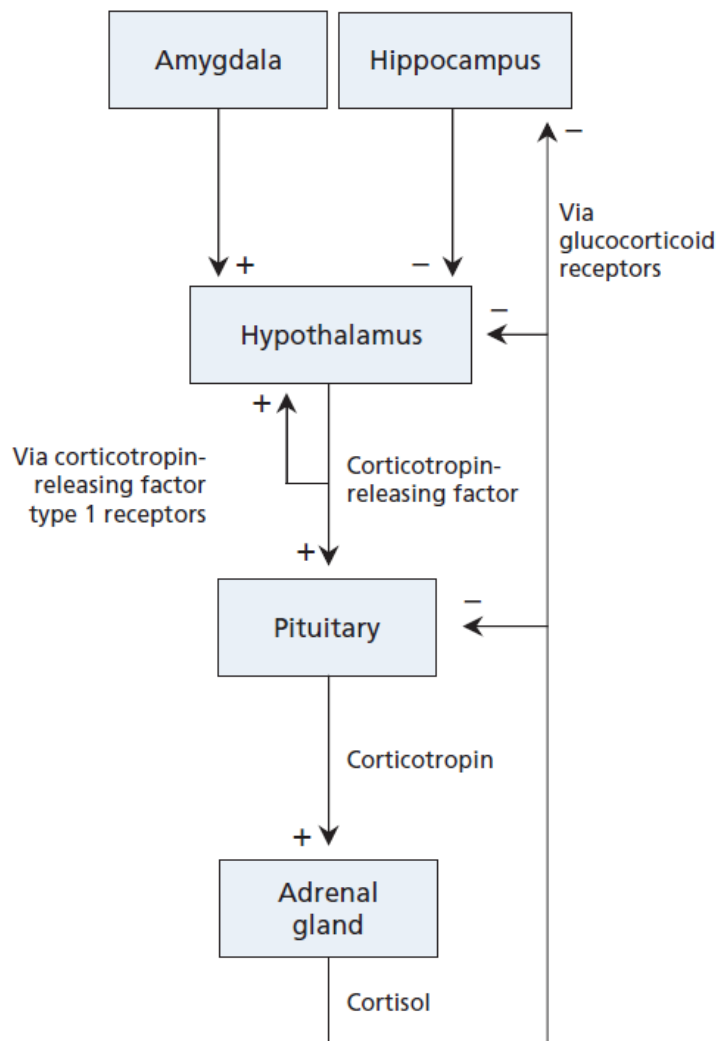


Figure 2: Axe Hypothalamo-hypophysaire-surrénalien.

Pituitary : glande pituitaire ou hypophyse ; Adrenal gland : glande surrénale ; Corticotropin-releasing factor : CRF ; Corticotrophin : ACTH (Rot et al., 2009).

Les patients atteints de dépression, présentent à une hyperactivité de l'axe, induisant un niveau élevé de glucocorticoïdes circulants (Reus et al., 1985; Barden et al., 1995; Wong et al., 2000; Carroll et al., 2012). Ce niveau élevé de glucocorticoïdes peut être considéré comme un bio-marqueur de la dépression (de Kloet et al., 2005; Lopez-Duran et al., 2009).

– **Microglie et système immunitaire.**

Une théorie récente, propose l'implication du système immunitaire dans la physiopathologie de la dépression (Frick et al., 2013; Yirmiya et al., 2015). Il a été observé une altération de la microglie (activation, augmentation de la densité) chez des patients atteints de troubles de l'humeur dont la dépression (Bayer et al., 1999; Steiner et al., 2008). De plus, de nombreuses études ont observé des anomalies des cytokines chez des patients atteints de dépression (Dowlati et al., 2010), ou inversement, observé des symptômes de dépression chez des patients traités avec des cytokines (Udina et al., 2012).

– **Etiologie.**

Les mécanismes responsables de la dépression restent à ce jour non élucidés. Cependant certaines théories ont été énoncées. Il est proposé que la dépression résulte d'une interaction entre des facteurs environnementaux et des facteurs génétiques. Le facteur environnemental le plus important étant le stress (Paykel, 2003; Charney and Manji, 2004). Des études génétiques chez des jumeaux suggèrent que les origines de la dépression seraient influencées pour environ 25-30% par les facteurs génétiques et 75% par des facteurs environnementaux (Kendler and Karkowski-Shuman, 1997; Sullivan et al., 2000; Henn et al., 2004; Henn and Vollmayr, 2005).

B La schizophrénie.

On pourrait définir simplement la schizophrénie comme étant une « perte de contact avec la réalité » (Fondation des maladies mentales) mais cela ne suffirait pas à définir correctement cette pathologie complexe. On peut plutôt parler d'un ensemble de symptômes variant d'un patient à l'autre, regroupés sous le terme « les schizophrénies », de par la complexité à décrire les différents symptômes entrant en considération pour la caractérisation de cette pathologie.

La schizophrénie est une pathologie chronique qui touche 1% de la population mondiale. Les patients diagnostiqués pour la schizophrénie ont 2 à 3 fois plus de risque de

mourir que la moyenne de la population (Saha et al., 2007; Thornicroft, 2013), et cette mortalité n'a fait qu'augmenter ces dernières décennies.

a) Symptômes.

Généralement, les descriptions des symptômes de la schizophrénie s'accordent sur la décomposition en symptômes positifs, négatifs, cognitifs associés à des troubles thymiques (troubles de l'humeur). Les troubles thymiques peuvent être divisés en épisodes dépressifs et épisodes maniaques (van Os and Kapur, 2009). En plus de ces quatre types de symptômes, des troubles moteurs peuvent parfois être identifiés (Tsoi et al., 2008; Tandon et al., 2009). L'expression de ces symptômes et l'intensité avec laquelle ils sont exprimés sont variables en fonction de chaque patient.

Les symptômes positifs sont décrits comme étant une perception altérée de la réalité. Ils incluent les hallucinations, les délires et autres altérations de la réalité (Tandon et al., 2009).

Les symptômes négatifs, peuvent être également appelés symptômes déficitaires. Ils comportent une altération du ressenti émotionnel et de son expression, un manque d'initiative (apragmatisme), une pauvreté du discours ou de la conversation (alogie), une perte d'intérêt ou de plaisir pour une situation qui normalement en procure (anhédonie), un manque d'intérêt (apathie) et une diminution de l'interaction sociale.

Les symptômes cognitifs correspondent aux défauts mnésiques, tel qu'une altération de la mémoire de travail, un défaut d'apprentissage, un défaut de planification ou encore un déficit attentionnel.

Les troubles thymiques font souvent référence à des épisodes dépressifs pouvant être accompagnés d'épisodes maniaques. Les épisodes maniaques sont caractérisés par une hyperactivité, une euphorie et une diminution du sommeil.

b) Altérations et étiologie.

De nombreuses altérations ont été observées chez les patients atteints de schizophrénie et ce au niveau de l'anatomie cérébrale ainsi qu'au niveau de son activité.

– Anatomique.

Au niveau anatomique des altérations du volume de certaines régions cérébrales ainsi que leurs connectivités peuvent être observées. Parmi ces altérations, les plus fréquentes sont, une réduction du volume cérébral global et une diminution du volume de l'hippocampe, de l'amygdale et du cortex préfrontal et enfin une augmentation de la taille des ventricules latéraux (Ward et al., 1996; Lawrie and Abukmeil, 1998; Nelson et al., 1998; Konick and Friedman, 2001; Shenton et al., 2001; Glahn et al., 2008). Parmi les altérations de connectivité, les plus importantes observées à ce jour sont une réduction de la taille du corps calleux et du fornix (Arnone et al., 2008; Knöchel et al., 2016). De plus, ces altérations semblent être corrélées aux déficits cognitifs (Knöchel et al., 2016).

– Fonctionnel.

Au niveau fonctionnel, plusieurs altérations ont été rapportées comme une hypofrontalité (diminution de l'activité du cortex préfrontal observée lors de tâches cognitives par IRM fonctionnelle) (Hill et al., 2004) et la dérégulation de certains systèmes de neurotransmission. Les systèmes décrits comme impactés sont, les systèmes dopaminergiques, glutamatergiques et GABAergiques, pour les principaux.

L'hypothèse d'une dérégulation de la dopamine comme une des causes de la pathologie provient en majorité d'évidences indirectes. La principale provient du mécanisme d'action des antipsychotiques, traitement de choix de la schizophrénie qui ciblent principalement le récepteur D2 de la dopamine (Seeman et al., 1975). Une autre évidence indirecte, est l'effet psycho-mimétique des agonistes dopaminergiques tel que l'amphétamine (Snyder et al., 1974; Castner and Goldman-Rakic, 1999).

Des altérations du système glutamatergique ont aussi été rapportées. Il a été observé une diminution du glutamate présent dans le liquide cébrospinal (Kim et al., 1980), ainsi qu'une diminution de l'expression de récepteurs au glutamate (type NMDA) dans le cortex préfrontal et dans l'hippocampe (Harrison et al., 2003). La prise d'antagonistes glutamatergiques (kétamine ou phénylcyclidine) déclenche des symptômes psychotiques (Javitt and Zukin, 1991; Javitt, 2010). Ces observations renforcent l'hypothèse d'un rôle possible du système glutamatergique chez les patients schizophrènes.

Les évidences d'une altération du système GABAergique sont de plus en plus présentes. Plusieurs études post-mortem ont montré une altération du métabolisme du GABA majoritairement retrouvée au niveau du cortex préfrontal (Guidotti et al., 2000; Volk et al.,

2000; Akbarian and Huang, 2006; Curley et al., 2011), ce qui a été complété par des études fonctionnelles par IRMf (Tso et al., 2015). Ces résultats ont ainsi donné lieu à l'hypothèse d'un dysfonctionnement GABAergique dans les origines de la schizophrénie (Nakazawa et al., 2012).

– **Etiologie.**

Malgré de nombreuses études les causes de la schizophrénie restent encore mal connues. Cependant il a longtemps été suggéré que cette pathologie avait de fortes bases génétiques. En effet des études familiales ont montré qu'il existait un risque plus élevé pour les proches de patients (Shih et al., 2004), avec une héritabilité de la schizophrénie estimée à 80% (Cardno and Gottesman, 2000). De toutes les études, il est ressorti qu'un certain nombre de gènes seraient impliqués dans la schizophrénie sans qu'une seule mutation constitutive puisse être associée au développement de la schizophrénie. Les gènes avec les plus fortes évidences sont dysbindin (DNTBP1), neurégulin 1 (NRG1), catéchol-O-méthyltransférase COMT, disrupted in schizophrenia DISC1, mGluR3, proline dehydrogenase (PRODH), D-amino acid oxidase activator (DAOA) et la DAO (tableau n°1)(Harrison and Weinberger, 2004).

Gene	Rôle suggéré
Dysbidin (DTNBP1)	Rôle dans le relargage glutamatergique
Neuregulin 1 (NRG1)	Plusieurs rôles, dont au niveau de la plasticité synaptique , le neurodéveloppement et l' activité des neurotransmetteurs
Catechol-O-methyl- transférase (COMT)	Enzyme impliqué dans le métabolisme des monoamines dont la dopamine
Disrupted in schizophrenia 1 (DISC1)	Impliqué dans le neurodéveloppement embryonnaire (migration et croissance axonale), la synaptogénèse et l' intégration des neurones néoformés dans la neurogénèse adulte
Metabotropic glutamate receptor 3 (mGluR3)	Recepteur métabotrope du glutamate affectant majoritairement le relargage glutamatergique en présynaptique
Proline dehydrogenase (PRODH)	Modulation de la transmission synaptique
D-amino acid oxidase activator (DAOA)	Pourrait affecter le ratio L-/D- serine, qui aurait un rôle dans la régulation du récepteur NMDA

Tableau 1: Gènes candidats présentant le plus d'évidences dans la susceptibilité à la schizophrénie.
Modifié de Picker J., 2005

Les facteurs génétiques ne sont pas les seuls à être impliqués, comme le suggèrent les études où le taux de concordance entre les jumeaux monozygote est de 50% (Cardno and Gottesman, 2000; Shih et al., 2004) . Des facteurs environnementaux jouent un rôle dans le développement de la schizophrénie. Par exemple, des altérations de santé de la mère pendant la grossesse (Rantakallio et al., 1997; Brown et al., 2001), des complications périnatales (Geddes and Lawrie, 1995; Cannon et al., 2002), la consommation de cannabis à l'adolescence (Semple et al., 2005; Moore et al., 2007) pour n'en citer que quelques-uns, contribuent au développement de la pathologie.

Ainsi une interaction entre facteurs génétiques et environnementaux est l'hypothèse actuelle des origines de la schizophrénie. Cependant la manière dont ses facteurs interagissent entre eux reste mal compris.

2. Le principe de l'ECT.

Une séance d'ECT consiste à appliquer un courant électrique sur le scalp du patient, dans le but d'induire une crise convulsive généralisée. Les séances d'ECT sont répétées sur plusieurs semaines sous forme de cure (en moyenne 1 à 3 séances par semaine, pour un total de 6 à 12 séances ; NICE 2003), le nombre de séances est dépendant de chaque patient et fonction de la réponse au traitement.

Depuis le début de l'ECT, de nombreuses améliorations ont été apportées, notamment avec le développement de directives d'utilisation, de recommandations et de modalités d'application des ECT, ainsi que l'abandon du terme électrochoc (ANES 1998). Aujourd'hui la pratique des ECT est fortement encadrée avec l'obligation du consentement signé du patient et l'obligation de la pratique de la séance sous anesthésie générale et curarisation (ANES 1998). Le curare, qui est un paralysant musculaire, est utilisé pour éviter les blessures pouvant être induites par la crise convulsive. Une anesthésie brève est pratiquée pour diminuer l'anxiété des patients pouvant être provoquée par la paralysie induite par le curare.

L'ECT a des effets secondaires, tels que des troubles immédiats, à savoir des céphalées, des nausées, une amnésie transitoire, un état confusionnel, qui disparaissent rapidement après la séance d'ECT (quelques minutes à quelque heures). Des troubles mnésiques plus importants peuvent être observés, avec une amnésie rétrograde et/ou antérograde. Le plus souvent ces troubles ne persistent pas, les troubles mnésiques rétrogrades pouvant dans quelques cas, être plus durables. L'ECT n'induit pas de lésions cérébrales visibles avec les techniques disponibles aujourd'hui. Dans les effets secondaires, nous pouvons inclure le fort taux de rechute dans les mois (2 à 6) suite à la fin du traitement, si aucune continuité de traitement n'est réalisée.

Malgré l'efficacité reconnue de cette thérapie, les mécanismes biologiques sous-tendant les effets thérapeutiques restent mal connus. La méconnaissance des modalités d'action et la mauvaise image de l'ECT discréditent cette thérapie, autant chez les praticiens que chez les patients. L'identification des mécanismes d'action des ECT, permettrait d'améliorer ses effets secondaires, son image et de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques.

Les techniques d'imagerie cérébrales (IRM anatomique, IRM fonctionnelle, Imagerie par tenseur de diffusion ou DTI, Tomographie par Emission de Positrons ou TEP, spectroscopie par résonance magnétique) ont dans un premier temps permis d'étudier certains effets de l'ECT (partie 4 modifications biologiques de l'ECT/ECS). Cependant le manque

d'accessibilité à certains paramètres biologiques, a nécessité l'étude des effets des ECT chez les animaux.

3. La stimulation électro-convulsive ou ECS, le modèle animal de l'ECT.

Afin d'identifier les mécanismes moléculaires et cellulaires sous-tendant les effets bénéfiques des ECT, il a été développé le modèle animal de l'ECT : la stimulation électro-convulsive ou ECS.

Comme chez l'Homme, les ECS consistent à appliquer, sous anesthésie, des stimulations électriques induisant des crises convulsives tonico-cloniques. La première phase dite tonique, consiste en une contraction musculaire tonique (sans mouvement répété), à laquelle s'ajoute une deuxième phase dite clonique, caractérisée par des mouvements répétés.

Dans un premier temps, les études ont été réalisées avec l'administration d'une à trois stimulations répétées. Puis différents protocoles ont été mis en place pour être au plus proche des protocoles réalisés chez l'Homme, avec un mode d'administration sous forme de cure d'ECS (une séance quotidienne répétée sur deux à trois semaines). Cependant, il n'y a aucun consensus quant au protocole à adopter chez les animaux. Le nombre peut varier de 5 à 12 stimulations au total, répétées tous les jours ou un jour sur deux, avec néanmoins toujours une seule stimulation quotidienne (Scott et al., 2000; Wennström et al., 2003; Hellsten et al., 2004 a).

A Les modèles animaux.

Le développement de modèles animaux pour l'étude des troubles neuropsychiatriques représente actuellement un défi majeur (Krishnan and Nestler, 2011). Ces modèles sont nécessaires pour comprendre la physiopathologie de ces maladies et pour développer des traitements basés sur de nouvelles cibles moléculaires.

Pour valider un modèle animal, des critères ont été proposés (McKinney and Bunney, 1969) :

- **la validité d'apparence (ou isomorphie)** : Le modèle doit présenter des traits comportementaux et/ou biologiques (physiologiques) similaires aux symptômes observés pour la pathologie humaine modélisée.

- **la validité de construction (ou homologie)** : La création du modèle doit être réalisée à partir d'éléments connus comme étant la ou les causes de la pathologie humaine modélisée.

- **la validité de prédiction** : Le modèle animal doit répondre de façon similaire aux traitements connus de la pathologie humaine modélisée.

B Les modèles animaux associés aux ECS.

L'étude des effets biologiques des ECS a principalement été réalisée sur des rongeurs, impliquant soit des animaux « naïfs » soit des modélisations animales pour la dépression. Quelques rares études ont analysé les effets des ECS chez des primates non-humains « naïfs ».

Les modèles animaux pour la dépression consistent à générer des animaux qui présentent des altérations réminiscentes des altérations connues dans la pathologie, tant à un niveau comportemental que neurobiologique. Les modèles animaux pour la dépression sont soit des modèles spontanés, qui par sélection et croisement de lignées présentent naturellement des altérations associées à la pathologie, soit des modèles induits, qui présentent des altérations réminiscentes de la dépression suite à une manipulation, tel que l'injection de produit ou l'application d'un stress.

a) Modèles spontanés, génétiques.

Deux modèles qui peuvent être qualifiés de spontanés, ont été utilisés pour étudier les effets des ECS : les rats cLH pour « congenitally Learned Helpless » et les rats FLS pour « Flinder Sensitive Line ». Ils sont tous deux considérés comme des modèles génétiques de dépression.

– Les rats cLH.

Le développement de cette lignée a démarré par l'observation d'une résignation apprise lors de la soumission de certaines lignées de rats face à une situation de stress incontrôlable avec un stimulus aversif. Partant de cette observation, les rats développant une forte résignation après entraînement, étaient croisés entre eux. Et à l'inverse, comme lignée contrôle, les rats ne développant pas de résignation étaient croisés entre eux. Ainsi, deux lignées sont générées avec différentes susceptibilités à la résignation. Au bout de plus de cinquante générations, la lignée cHL (pour congenitally Learned Helpless, à forte résignation) et la lignée cNHL (pour congenitally Not Learned Helpless, à faible résignation), étaient considérées comme valides, montrant une différence significative par rapport à la lignée

d'origine, dans un test mesurant la résignation apprise. Le principe de ce test est de soumettre le rat à une situation de stress incontrôlable avec un stimulus aversif (choc électrique par exemple). Quand l'animal est ensuite placé dans une situation où le stress est contrôlable, c'est-à-dire qu'il a la possibilité de l'éviter, l'animal n'apprend pas l'évitement et ne fait souvent pas d'efforts pour éviter le stress. Ce type de comportement de résignation est commun à différentes espèces dont l'Homme et est assimilé à un symptôme de la dépression quand il est présent chez un animal.

La lignée cHL a été finalement validée en tant que modèle pour la dépression en montrant l'expression de caractéristiques chroniques associées à la dépression, à savoir l'anhédonie et la léthargie (Vollmayr et al., 2004; Shumake et al., 2005). Les animaux de cette lignée présentent également d'autres caractéristiques réminiscentes de la dépression, tel que des altérations dans le système sérotoninergique (Neumaier et al., 2002) et des altérations d'adaptation au stress par l'axe HPA (King et al., 1993; Edwards et al., 1999).

– Les rats FLS.

La lignée Flinder a été le premier modèle génétique de dépression développé et le plus utilisé pour l'étude des effets des ECS.

Initialement, cette lignée a été obtenue par croisement des rats les plus sensibles à un agent anti-cholinestérase (le diisopropyl fluorophosphate ou DFP). Suite à l'observation d'une plus grande sensibilité de patients dépressifs aux agonistes cholinergiques (Risch et al., 1981; Janowsky et al., 1994), il a été reconnu que ces animaux s'apparentaient aux patients vis-à-vis de l'hypersensibilité du système cholinergique. De nombreuses études ont suivi montrant des altérations exhibées par les animaux également retrouvées chez les patients. Ainsi, les animaux de cette lignée présentent un retard psychomoteur et des altérations de l'appétit et du poids (Overstreet and Russell, 1982; Overstreet et al., 1986 b; Overstreet, 1993, 2002). Cependant certaines caractéristiques comportementales associées à des symptômes principaux de la dépression, ne semblent pas retrouvées chez ces animaux, tel que l'anhédonie et les troubles cognitifs (Overstreet et al., 1992; Pucilowski et al., 1993; Bushnell et al., 1995; Matthews et al., 1996). Au niveau des systèmes de neurotransmission, des altérations similaires à celles présentes chez les patients sont également observées chez ces rats, à savoir des modifications du système cholinergique, sérotoninergique, dopaminergique et peptidergique (Zangen et al., 1997, 2001; Jiménez Vasquez et al., 2000; Jiménez-Vasquez et al., 2000; Schwartz et al., 2003), alors que d'autres ne semblent pas altérés, tel que le système noradrénergique et GABAergique (Overstreet, 1993). L'axe HPA, connu pour être altéré chez

les patients atteints de dépression, ne semble pas être modifié chez ces animaux (Overstreet et al., 1986 a). De plus, certaines des altérations présentes dans ce modèle sont sensibles aux traitements avec des antidépresseurs (Zangen et al., 1997).

– Conclusion des modèles génétiques.

En conclusion, les modèles génétiques de dépression utilisés pour l'étude des effets des ECS, présentent certaines caractéristiques pouvant être associées à des symptômes de la dépression ou du moins observés chez des patients dépressifs, validant le critère d'apparence. Cependant ces modèles ne présentent que quelques caractéristiques de la symptomatologie de la dépression, permettant d'étudier uniquement ceux-ci et non l'ensemble des symptômes modélisables.

b) Modèles induits.

Ces modèles sont réalisés à partir de rongeurs « naïfs » soumis à un protocole de stress ou par administration d'agent chimique ou pharmacologique, dans le but d'induire des troubles associés aux symptômes de la dépression.

– Induction par le stress : modèle CUMS (Chronic Unpredictable Mild Stress).

Ce modèle est basé sur les observations montrant que le stress est le facteur environnemental principal associé à la dépression (Kessler, 1997; Kendler et al., 1999; Keller et al., 2007). De plus, il est aujourd'hui proposé que l'exposition au stress pourrait interagir avec des facteurs de risques génétiques et ainsi augmenter la susceptibilité à la dépression (Caspi et al., 2003; Kaufman et al., 2006). C'est pourquoi il a été développé des modèles animaux présentant des symptômes de la dépression majeure suite à une exposition au stress. Pour ce faire, des rongeurs sains sont soumis à un stress qui peut être de différent type (pour plus de détails sur les différents modèles induits par le stress voir revue (Duman, 2010).

Pour l'étude des ECS, le protocole de stress le plus utilisé pour la modélisation de la dépression est un stress chronique léger et imprévisible donnant au modèle le nom de CMS ou CUMS pour Chronic Unpredictable Mild Stress. L'application de ce protocole a pour but de modéliser un état dépressif chronique se développant graduellement en réponse à l'exposition

au stress. Divers protocoles de stress sont utilisés selon les études, mais ils partagent tous l'application sur plusieurs jours de différents paradigmes induisant un stress léger, effectués aléatoirement (à différents moments de la journée) et imprévisiblement (Katz et al., 1981; Willner et al., 1987; Willner, 1997). Les caractères différents, aléatoires et imprévisibles des stress appliqués permettent d'éviter une habitude des animaux qui pourrait annuler l'effet stressant du protocole (Magariños and McEwen, 1995). Les rongeurs sont ainsi exposés à une série de conditions moyennement stressantes (5 à 6) appliquées une à deux fois par jours durant plusieurs heures, sur une période de plusieurs semaines. Parmi les conditions de stress léger, on peut citer la présence de lumière durant toute la nuit, une restriction d'eau ou de nourriture, ou encore l'isolement social.

Les animaux ayant reçu ce type de protocole présentent une anhédonie, une diminution du toilettage, une altération de l'état du pelage, une altération du sommeil, des comportements sexuels et agressifs, et une diminution de l'exploration (Katz et al., 1981; Willner et al., 1987; Willner, 2005). Au niveau physiologique, ces animaux ont une augmentation de l'activation de l'axe HPA et des altérations du système immunitaire (Tannenbaum et al., 2002). Ces observations valident le critère d'apparence (Willner, 2005). L'anhédonie présentée par les animaux est réversible par des traitements antidépresseurs administrés chroniquement et non en aigu, validant le critère de prédiction (Papp et al., 1996), puisque chez l'Homme la prise prolongée du traitement est nécessaire à son efficacité.

Cependant ce modèle présente quelques défauts, à savoir une difficulté de mise en place et une faible reproductibilité des résultats entre laboratoires (Willner, 2005).

– Induction pharmacologique : modèle CORT.

Un des systèmes biologiques régulant le stress est l'axe HPA. Un nouveau modèle animal a été récemment développé par modification de l'axe HPA, le modèle CORT (Gregus et al., 2005; Johnson et al., 2006; Gourley et al., 2008 a, 2008 b; Murray et al., 2008).

Le modèle CORT, consiste à administrer à des rongeurs, de la corticostérone ou CORT, qui est une hormone surrénalienne de l'axe HPA faisant partie de la catégorie des glucocorticoïdes. Cette administration quotidienne, est réalisée sur une période de 3 semaines en moyenne. Les rongeurs ainsi traités, présentent au niveau comportemental, une anhédonie, une diminution de la motivation et une altération du pelage par exemple (Johnson et al., 2006; Gourley et al., 2008 a; David et al., 2009). Au niveau biologique, on peut observer chez ces animaux, une altération de l'axe HPA en réponse à un stress (Johnson et al., 2006), une

diminution de la prolifération cellulaire dans l'hippocampe, accompagné d'une diminution de volume de ce dernier (A, 2004; Murray et al., 2008; David et al., 2009).

Ces altérations sont améliorées suite à la prise chronique d'antidépresseurs (Murray et al., 2008; David et al., 2009).

Sa simplicité de mise en œuvre et l'observation de plusieurs altérations comportementales et biologiques associées à la dépression, ont fait de ce modèle l'un des plus utilisés ces dernières années.

4. Modification biologiques de l'ECT/ECS.

Les études chez l'Homme des effets biologiques de l'ECT sont limitées, de par le manque d'accessibilité à certains paramètres biologiques. Quelques études ont pu mesurer le taux de certains facteurs pouvant être impliqués tel que les neurotrophines, par dosages sanguins. Les études des effets biologiques chez l'Homme se font principalement par l'utilisation de l'imagerie médicale, qui permet une analyse anatomique et fonctionnelle (métabolisme du glucose, débit sanguin et neurotransmission). Ces études sont intéressantes mais en général effectuées sur un faible nombre de patients, en effet l'état des patients ne permet pas toujours de les inclure dans un protocole expérimental. Il est de plus quasiment impossible d'étudier les effets des ECT seuls, les patients suivant (ou ayant récemment suivi) le plus souvent un traitement pharmacologique.

Chez l'animal, de nombreuses études ont analysé les modifications biologiques après un traitement aigu ou chronique par les ECS. Il est admis que les effets antidépresseurs des ECT nécessitent une répétition de l'application de la stimulation, je détaillerai donc uniquement les résultats obtenus après une cure d'ECS.

A Modifications anatomiques et fonctionnelles de l'encéphale.

Les études d'imagerie anatomique chez l'Homme, ne montrent pas d'effet lésionnel de l'ECT sur le plan structurel (Scott et al., 1990, 1991; Coffey et al., 1991; Zachrisson et al., 2000; Giltay et al., 2008; Palmio et al., 2010), ceci a également été montré chez les primates non humains suite aux ECS (Dwork et al., 2004, 2009). D'autres études ont montré une augmentation du volume de l'hippocampe et de l'amygdale (deux structures impliquées dans

la régulation des émotions et de la mémoire) à la suite d'ECT (Nordanskog et al., 2010; Tendolkar, 2013; Ota et al., 2015; Jorgensen et al., 2016; Joshi et al., 2016).

Au niveau fonctionnel, le développement des techniques d'imagerie a permis un accès grandissant à certaines modifications biologiques, tel que l'activité cérébrale et la neurotransmission. Cependant le faible nombre de patients pouvant être inclus dans les études et leur hétérogénéité, aussi bien au niveau clinique qu'au niveau de leurs données sociodémographiques, associés à l'utilisation de différents protocoles d'ECT, rendent la comparaison de ces études difficile. Les études du métabolisme énergétique chez l'Homme présentant des résultats contradictoires. En effet, même si la plupart des études s'accordent sur une réduction du métabolisme dans les régions frontales, toutes ne montrent pas de différences significatives (Schmidt et al., 2008).

Les études réalisées chez l'animal ont montré que les ECS augmentent le métabolisme énergétique et oxydatif dans l'hypothalamus, l'hippocampe, le cortex piriforme et plus globalement dans les régions cérébrales du système limbique (Orzi et al., 1987; Nobrega et al., 1993; Sartorius et al., 2003 a, 2003 b; Biedermann et al., 2012).

B Modifications des systèmes de neurotransmission.

Différents systèmes de neurotransmission ont été montrés comme affectés après un traitement par ECS, tel que les systèmes monoaminergiques, glutamatergiques, GABAergiques et peptidergiques.

Au niveau monoaminergique, la neurotransmission sérotoninergique à particulièrement été étudiée en raison de sa forte implication dans le traitement de la dépression. En effet, les antidépresseurs les plus utilisées ciblent cette neurotransmission (ANAES mais 2002). Les effets des ECS ont été décrits dans les régions contenant les corps cellulaires sérotoninergiques, que sont les noyaux du raphé, et dans les zones de projections telles que l'hypothalamus, l'hippocampe et le cortex préfrontal. Au niveau des noyaux du raphé, il a été décrit que les ECS induisent une diminution de l'ARNm du transporteur de la recapture à la sérotonine (SERT or 5HTT) (Shen et al., 2001), alors qu'il a été observé une augmentation du nombre des SERT dans le cortex préfrontal (Hayakawa et al., 1995; Shen et al., 2003). Il a été suggéré que cette différence pouvait s'expliquer par un mécanisme de compensation suite à l'augmentation de la transmission sérotoninergique induites par les ECS (Baldinger et al., 2014). Cette hypothèse est en accord avec l'augmentation de la

concentration d'un catabolite de la sérotonine (5HIAA) dans le cortex préfrontal, qui confirmerait l'activation de la neurotransmission sérotoninergique par les ECS répétées (Yoshida et al., 1998 a). Au niveau de l'hippocampe, une modulation des différents récepteurs à la sérotonine a pu être observée après les ECS (Ishihara and Sasa, 2001; Gur et al., 2002; Mitchell et al., 2003). Ceci est accompagné d'une modification de leur sensibilité (Chaput et al., 1991), qui pourrait être liée à l'augmentation de leur nombre (Burnet et al., 1995; Hayakawa et al., 1995).

Les catécholamines (dopamine et noradrénaline) ont également été fortement étudiées pour leurs implications dans les pathologies psychiatriques et leurs modulations par les traitements de ces pathologies. Pour le système noradrénergique, les études au niveau des corps cellulaires du locus coeruleus, ont montré une diminution de l'activité électrique spontanée et évoquée, associée à une augmentation de l'expression de la tyrosine hydroxylase, enzyme faisant partie de la voie de synthèse de la noradrénaline (Brady et al., 1994; Tsen et al., 2013). Au niveau des zones de projections que sont le cortex et l'hippocampe, les quantités tissulaires de noradrénaline sont diminuées (Stenfors et al 1995).

Parmi les catécholamines, c'est le système dopaminergique qui a été le plus étudié (cf partie sur les altérations dans la schizophrénie et la dépression). Les résultats à ce jour tendent à montrer une augmentation de la fonction dopaminergique après ECS. Cependant il semblerait qu'il y est une différence de modulation de la neurotransmission dopaminergique par les ECS selon la région cérébrale, mais les résultats sont conflictuels. En effet, il a été observé une augmentation de la concentration tissulaire de dopamine dans le cortex préfrontal et le cortex occipital (Stenfors et al., 1995 a), sans modification de la concentration extracellulaire dans le cortex frontal (Yoshida et al., 1998 b). De plus, une étude a montré une augmentation de l'activité spontanée et évoquée des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale (West and Weiss, 2011), alors qu'une autre étude n'observe pas d'augmentation de l'activité dopaminergique globale de ces mêmes neurones (Tsen et al., 2013), mais montre un plus grand nombre de neurones actifs dans la substance noire compacte après les ECS (Tsen et al., 2013). Ce dernier résultat est en accord avec une étude chez les singes rhésus, où il a été observé, après les ECS, une augmentation de l'activité dopaminergique dans le système nigrostriatal (voie qui relie substance noire et le striatum) (Landau et al., 2011). L'augmentation de l'activité dopaminergique dans le système nigrostriatal est en cohérence avec les résultats d'une autre étude montrant une augmentation de la concentration extracellulaire des principaux catabolites de la dopamine (DOPAC et HVA) dans le striatum, ce qui traduirait une activation métabolique de la dopamine par les

ECS dans cette région. Cependant dans cette même étude il n'a pas été observé d'augmentation significative de la concentration extracellulaire de la dopamine dans le striatum (Yoshida et al., 1998 b). D'autres études ont montré une augmentation de l'ARNm des récepteurs à la dopamine (D1 et D3) et une augmentation de leur liaison avec la dopamine, dans le striatum dorsal et ventral et plus précisément dans le noyau accumbens après traitement (Lammers et al., 2000).

Les effets des ECS sur le système glutamatergique apparaissent complexes et pourraient être impliqués à la fois dans les effets antidépresseurs et les effets délétères des ECS (Stewart et al., 1994). Des études ont montré une modulation de l'expression des différents types de récepteurs au glutamate, que sont les récepteurs de type NMDA, AMPA, Kainate et les métabotropiques (mGlu), de façon différentielle, selon la région ou sous-région étudiée mais également selon le sous-type de récepteurs. Il a été montré que les ECS augmentent l'expression des ARNm des récepteurs AMPA (Naylor et al., 1996) et l'ARNm des sous unités des récepteurs NMDA dans l'hippocampe, mais ceci selon des décours temporel et spatial différents (Watkins et al., 1998; Dong et al., 2010). Des résultats similaires sont obtenus pour les récepteurs kainates, dont les deux types sont modulés par les ECS dans des directions opposées et différemment selon les régions de l'hippocampe (Porter et al., 1996); ainsi alors que l'expression des ARNm de certains mGlu a été montrée diminuée (Watkins et al., 1998), et augmentée dans l'hippocampe (Bajkowska et al., 1999; Smiałowska et al., 2002). De plus, aucune modification n'est observée sur un modèle animal de stress après les ECS alors qu'une modification est observée chez les animaux contrôles (O' Connor et al., 2013). Au niveau de l'expression protéique de ces récepteurs, une étude a montré une augmentation d'une des sous unités des récepteurs AMPA, et une diminution de la quantité de certaines sous-unités des récepteurs NMDA après les ECS appliquées au modèle de dépression CUMS (Hao et al., 2016). De façon similaire, les résultats concernant les taux de glutamate ne permettent pas de conclusion claire, mais ils suggèrent une augmentation de la libération du glutamate (Newton et al., 2006; Ploski et al., 2006). Cette hypothèse est cohérente avec l'augmentation du glutamate total observée par imagerie spectroscopique par résonance magnétique chez le modèle animal de dépression cLH (Biedermann et al., 2012). A l'inverse d'autres études indiquent une diminution du taux tissulaire hippocampique de glutamate après les ECS, pouvant s'expliquer par une normalisation de ce taux, plus élevée à l'état basal par rapport aux animaux contrôles (Dong et al., 2010; Luo et al., 2012). De plus, il a été montré que des ECS répétées induisaient une augmentation de l'expression de l'ARNm

dans l'hippocampe et le cortex frontal d'un transporteur vésiculaire du glutamate, qui suggère une meilleure accumulation du glutamate dans les vésicules qui se traduirait par une augmentation de la neurotransmission glutamatergique (Tordera et al., 2005). D'autres études sont en faveur d'une modulation du système glutamatergique par les ECS, tel que la modification de l'expression de protéines liées aux fonctions des récepteurs glutamatergiques (Kaastrup Müller et al., 2015). Cette hypothèse est renforcée par l'abolition des effets des ECS au niveau comportemental chez des souris déficientes pour la protéine Tamaline, sachant que cette protéine est impliqué dans les fonctions synaptique des récepteurs de type mGlu (Yanpallewar et al., 2012). Ainsi, tous les résultats obtenus s'accordent sur la modulation différentielle du système glutamatergique par les ECS, mais selon le type de récepteur modulé et la région impactée, ou encore le type d'animaux étudiés (sain vs modèle de pathologie), les ECS pourraient soit moduler positivement soit négativement la neurotransmission glutamatergique, et les effets résultants pourraient être soit impliqués dans les mécanismes bénéfiques soit dans les effets délétères.

La transmission glutamatergique ne peut pas être analysée seule, en effet il existe une balance entre le système glutamatergique et GABAergique. Ainsi quand cet équilibre est étudié, on peut observer une augmentation du rapport glutamate/GABA dans l'hippocampe et le cortex préfrontal d'animaux modèle de dépression par rapport à des animaux contrôles, qui est ensuite diminué après les ECS (Sartorius et al., 2007; Luo et al., 2012). Cette diminution est compatible avec une chute du glutamate et une augmentation du GABA tissulaires. En effet, lors de l'étude du système gabaergique, il a été suggéré que les ECS induiraient une augmentation du taux de GABA (Green and Vincent, 1987; Ferraro et al., 1990). Après les ECS, il a été montré une augmentation du taux de GABA dans l'hippocampe dans un modèle de dépression CUMS (Luo et al., 2012), cette augmentation serait liée à une augmentation des enzymes de synthèse du GABA plutôt que du nombre de neurones GABAergiques (Jinno and Kosaka, 2009; Luo et al., 2012).

Outre les neurotransmetteurs décrits ci-dessus, d'autres molécules modulent le système nerveux central, tel que les neuropeptides. Plusieurs d'entre eux, tel la somatostatine, la tachykinine, la cholécystokinine et le neuropeptide Y, montrent une activation de leur expression et celles de leurs récepteurs à la suite des ECS dans l'hippocampe et l'hypothalamus (Orzi et al., 1990; Stenfors et al., 1994, 1995 b; Husum et al., 2000; Jiménez Vasquez et al., 2000; Burnet et al., 2001; Ma et al., 2002; Jiménez-Vasquez et al., 2007). Parmi

ces neuropeptides, le neuropeptide Y (NPY) est le plus étudié de par son implication dans la régulation du stress et de l'humeur où on lui prêterait des propriétés anxiolytiques et neuroprotectrices (pour plus d'information cf revue (Reichmann and Holzer, 2016)). Après les ECS, une augmentation du NPY est également retrouvée au niveau du cortex préfrontal (Stenfors et al., 1994, 1995 b), en cohérence avec une augmentation de sa biosynthèse au niveau de l'hippocampe et de l'hypothalamus, alors que cette augmentation est associée à une diminution de sa fixation à ses récepteurs (Husum et al., 2000; Madsen et al., 2000 a; Christensen et al., 2006; Jiménez-Vasquez et al., 2007). Cependant, le maintien des capacités de signalisation post-synaptique suggère un effet global d'augmentation de la neurotransmission NPY (Madsen et al., 2000 a).

Ces modulations sont également visibles au niveau de l'expression génique, avec une modification des gènes codant pour la machinerie directement liée à la neurotransmission monoaminergique (dopamine, noradrénaline, sérotonine), la neurotransmission de type acides-aminés (glutamate et GABA) et de type neuropeptidergique (NPY) (Mikkelsen and Woldbye, 2006; Ploski et al., 2006; Park et al., 2014).

La neurotransmission est également dépendante de mécanismes internes aux synapses tels que l'exocytose des vésicules présynaptiques, qui est régulée par des protéines vésiculaires (SVPs). Les ARNm de ces SVPs suite à des ECS répétées sont différemment modulées selon la région cérébrale, avec une régulation qui semble plus importante dans l'hippocampe que dans le cortex préfrontal (Elfving et al., 2008). Au niveau post-synaptique, d'autres mécanismes sont également importants dans la neurotransmission, dont par exemple la régulation des récepteurs par des protéines telles que Homer1 et la spinophilin. Le stress induit une augmentation d'Homer 1 et de la Spinophilin, cet effet va être potentialisé ou bloqué respectivement, suite à des ECS répétées, montrant l'implication des ECS dans la régulation de l'activité post-synaptique (Kaastrup Müller et al., 2015).

C Modifications de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Il est depuis longtemps connu que les patients dépressifs ont une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HPA) (cf partie dépression). Cette dérégulation est objectivable par une altération de la sécrétion des hormones dites de stress que sont les glucocorticoïdes et plus particulièrement le cortisol (pour l'Homme et la corticostérone (CORT) pour les rongeurs). Il est observé chez plus de 50% des patients atteints de dépression majeure une

hyperactivité de l'HPA (Carroll et al., 2007). Il a été proposé que le stress et les glucocorticoïdes puissent sous-tendre la physiopathologie et les symptômes des troubles de l'humeur. Cette théorie est étayée par l'induction d'un modèle animal de dépression par administration de CORT aux animaux. Ainsi en mimant chez l'animal l'hyper-activation de l'axe HPA suite à un stress, sont induits des comportements et des altérations biologiques similaires à ceux retrouvés chez les patients. Avec les modifications observées à la suite des ECS au niveau de l'hypothalamus, une hypothèse neuroendocrinienne des effets des ECS a été proposée (Fink and Ottosson, 1980). En faveur de cette théorie, il est observé chez l'Homme une corrélation entre une efficacité du traitement et une réduction des niveaux d'hormone du stress (Kling et al., 1994). Pourtant il a été montré que chez le rat, les ECS activent l'axe HPA. En effet, on observe une augmentation des taux plasmatiques d'ACTH et de CORT (Herman et al., 1989; Young et al., 1990; Brady et al., 1994), associée à une modification de la CRH dans l'hypothalamus et l'ACTH dans l'hypophyse (Herman et al., 1989; Brady et al., 1994). Mais ces résultats sont obtenus avec des animaux sains, les études analysant l'activité de l'HPA sur un modèle de dépression génétique fait défaut.

D Facteurs trophiques.

De nombreuses études ont montré une augmentation de l'expression de différents facteurs trophiques et de facteur de croissance, aussi bien au niveau génique que protéique chez des animaux ayant reçu des ECS (Chen et al., 2001; Altar et al., 2003, 2004; Newton et al., 2003; Jacobsen and Mørk, 2004 a; Conti et al., 2006; Ploski et al., 2006).

L'un des facteurs neurotrophiques les plus étudiés est le BDNF, pour son implication dans certains phénomènes de plasticité, tel que des modifications morphologiques et fonctionnelles des synapses (Poo, 2001).

Une modulation du BDNF à la suite des ECS a été montrée tant chez l'animal naïf que chez les modèles animaux de dépression chez lesquels les niveaux de BDNF sont diminués (Nibuya et al., 1995; Smith et al., 1997; Jacobsen and Mørk, 2004 b; Li et al., 2006; Gersner et al., 2010, 2014). Les études montrent globalement une augmentation de l'expression du BDNF, mais cela varie selon les régions étudiées et selon l'utilisation d'animaux naïfs ou modèles de dépression, voire même selon le modèle utilisé. L'étude du BDNF devient d'autant plus compliquée de par les rôles opposés que peuvent jouer le BDNF mature (m-BDNF) et son précurseur (le pro-BDNF) (Lu et al., 2005;). En effet, des études ont montré que le pro-BDNF régulait négativement la complexité de l'arborisation dendritique, la densité

des épines ainsi que les mécanismes de plasticité synaptique telle que la LTD (Long-Term Depression) (Woo et al., 2005; Yang et al., 2014). A l'inverse, le m-BDNF a été montré comme important dans les mécanismes de plasticité synaptique, telle que la LTP (Long-Term Potentiation) et la formation des épines dendritiques (Gao et al., 2009 a; Minichiello, 2009; Orefice et al., 2013; Harward et al., 2016).

De plus, une étude a montré chez des animaux sains que l'augmentation de BDNF dans l'hippocampe ne serait pas nécessaire aux effets des ECS, alors qu'une modification de celui-ci au niveau de l'air tegmentale ventrale serait indispensable (Taliaz et al., 2013).

Ainsi d'autres études sur des modèles animaux de dépression sont nécessaires pour pouvoir clairement statuer sur le rôle du BDNF dans les effets des ECS.

D'autres facteurs ont été montrés comme modifiés suite aux ECS, tel que le VEGF, qui semble être augmenté dans l'hippocampe (Newton et al 2003, Segi-Nishida et al 2008, Elfving et Wegener et al 2012), ainsi que le NGF (nerve growth factor) et le FGF (fibroblast growth factor) (Newton et al 2003, Altar et al 2004, Gwin et al 2002, Kim et al 2010).

Chez l'Homme, l'expression de ces différents facteurs a pu être dosée uniquement au niveau sanguin. Parmi ces facteurs dosés on retrouve le BDNF et le NGF par exemple. Pour le BDNF, les résultats des études sont contradictoires, mais une majorité rapporte une augmentation de la concentration du BDNF circulant au terme d'une cure d'ECT (Bocchio-Chiavetto et al., 2006; Marano et al., 2007; Okamoto et al., 2008; Fernandes et al., 2009; Grønli et al., 2009; Piccinni et al., 2009; Rapinesi et al., 2015; Rocha et al., 2016). Les modifications des autres neurotrophines ne sont pas toujours retrouvées chez l'Homme, mais ces observations peuvent s'expliquer par les mesures réalisées au niveau périphérique (Grønli et al., 2009).

E Modifications de mécanismes de neuroplasticité.

a) Épines et arborisation dendritiques.

Les synapses, jouent un rôle fondamental dans la communication neuronale et sont sujettes à de nombreuses modulations, notamment avec les phénomènes de plasticité synaptiques. De nombreuses études ont montré des altérations morphologiques et fonctionnelles des épines dans les pathologies psychiatriques (cf aux parties altérations). Il a

été donc naturel de supposer une modification et un rôle de ces structures dans les effets des antidépresseurs et notamment des ECS. Leur étude a montré une synaptogénèse et un remodelage des synapses préexistantes après des ECS répétées dans la région CA1 de l'hippocampe (Chen et al., 2009), ce qui est également retrouvé au niveau des neurones matures et des nouveaux neurones des cellules granulaires (Zhao et al., 2012).

L'arborisation dendritique qui joue un rôle fondamental dans la réception des signaux neuronaux, et qui est décorée d'épines dendritiques, a également été montrée comme impactée dans les pathologies psychiatriques et les modèles animaux (Hageman et al., 2008; Moyer et al., 2015). Il a été observé après l'administration d'ECS répétées, une augmentation de l'arborisation dendritique dans différentes sous régions de l'hippocampe d'animaux naïfs (Yanpallewar et al., 2012) et des modèles de stress (Hageman et al., 2008; Kaastrup Müller et al., 2015).

D'autre part, un phénomène de bourgeonnement des fibres moussues (fibres formées par les axones des cellules granulaires) serait retrouvé après les ECS (Gombos et al., 1999 b; Vaidya et al., 1999; Chen, 2001; Lamont et al., 2001). Ce phénomène de réorganisation synaptique, créant un rétrocontrôle positif sur les cellules granulaires est majoritairement observé en conditions pathologiques, tels que dans les épilepsies (Scharfman, 2007; Buckmaster, 2012). Quant à savoir si ce phénomène est responsable des effets thérapeutiques des ECS/ECT ou à l'inverse des effets délétères reste à être déterminé. Il est également important de noter qu'une étude a montré que ce phénomène était objectivable à la suite d'ECS répétées mais pas suite à des traitements pharmacologiques (Lamont et al., 2001).

b) Potentialisation à long terme (LTP).

On peut également observer des mécanismes de plasticité, par des mesures électrophysiologiques de l'efficacité synaptique à court et long-terme (potentialisation à long terme). La potentialisation à long-terme (LTP) est une mesure courante, reflétant la plasticité synaptique. La LTP hippocampique est proposée comme le mécanisme moléculaire de la mémoire.

Les différentes études mesurant la LTP après des ECS répétées ne permettent pas d'avoir de conclusion claire. La discordance des effets observés peut s'expliquer par la diversité des méthodes et modèles utilisés. Tandis que certaines études montrent aucune

modification de la LTP (Stewart and Davies, 1996; Li et al., 2012), la majorité des études montrent une altération de la LTP à la suite des ECS (Anwyl et al., 1987; Stewart and Reid, 1993, 2000; Stewart et al., 1994). L'altération de la LTP induites par les ECS pourrait être expliquée par une saturation de la plasticité, réduisant le degré de potentialisation réalisable (Stewart and Reid, 1993). Il a été suggéré que l'altération de la LTP serait impliquée dans les effets délétères des ECS (Stewart et al., 1994).

En parallèle, il a été observé une augmentation de l'amplitude et de la durée des potentiels évoqués conduisant à un phénomène de type LTP (LTP-like) suite aux ECS (McIntyre Burnham et al., 1995; Gombos et al., 1999 a; Stewart and Reid, 2000), suggérant un effet de potentialisation de l'activité neuronale basale.

Ainsi des études complémentaires seraient nécessaires afin d'éclaircir les effets des ECS sur l'activité neuronale.

F Prolifération cellulaire non neuronale.

Outre de la prolifération cellulaire dans l'hippocampe qui liée est à la neurogénèse adulte, les autres types cellulaires présents prolifèrent aussi (cf partie suivante) : à savoir les cellules gliales et les cellules endothéliales. Ces proliférations cellulaires sont également retrouvées dans d'autres régions cérébrales impliquées dans la physiopathologie des troubles psychiatriques, tel que l'amygdale, l'hypothalamus et le cortex préfrontal. En effet, il a été observé une augmentation de la prolifération dans l'amygdale des progéniteurs des oligodendrocytes (les cellules NG2) mais celles-ci semblent être peu nombreuses à survivre et à devenir des oligodendrocytes matures (Wennström et al., 2004). Dans une plus faible proportion, on peut observer une prolifération de cellules microgliales (Wennström et al., 2004). Après les ECS, la prolifération d'oligodendrocytes et de leurs précurseurs (cellules NG2) est également observée dans le cortex préfrontal (Madsen et al., 2005), avec une survie significative jusqu'à 4 semaines après la cure (Öngür et al., 2007). A cela s'ajoute une activation astrocytaire et microgliale très transitoire (Jansson et al., 2009). Cette activation gliale transitoire est également observée dans d'autres régions cérébrales, telles que le cortex frontal, l'hypothalamus, l'hippocampe et les structures para-hippocampiques (Dwork et al., 2004; Jansson et al., 2009). Cependant, il reste à déterminer si les effets observés sur les cellules gliales sont des processus liés aux effets thérapeutiques ou délétères des ECS.

Un rôle de la dérégulation du système immunitaire a été récemment suggéré dans la physiopathologie des troubles psychiatriques (cf partie altérations). Peu d'études ont analysé l'effet des ECS sur ce système, les premiers résultats obtenus dans l'hippocampe sont contradictoires. Il a été observé soit une activation microgliale (Jansson et al., 2009), et son contraire, une diminution suite à des ECS répétées (Jinno and Kosaka, 2009; Limoa et al., 2016). Plus d'études sont nécessaires afin d'identifier l'implication du système immunitaire dans les effets des ECS.

La prolifération la plus fréquemment observée est celle des cellules endothéliales, et ce pour les différentes régions impliquées dans la physiopathologie des troubles psychiatriques.

Il a été reporté dans l'hippocampe, une augmentation de la prolifération des cellules endothéliales, ayant pour conséquence une augmentation de la densité vasculaire (Hellsten et al., 2004 b, 2005; Newton et al., 2006). Il a été suggéré que l'augmentation de la vascularisation hippocampique permettrait un soutien de la stimulation de la neurogénèse adulte, contribuant ainsi aux effets bénéfiques des ECS. Il a également été suggéré que l'augmentation de la vascularisation impacterait positivement les synapses et l'arborisation dendritique (Hellsten et al., 2004 b).

Le cortex frontal et l'hypothalamus sont également le siège d'une augmentation de l'angiogénèse à la suite des ECS répétées. Ainsi une corrélation a été observée entre l'augmentation de l'activité neuronale et l'augmentation de la prolifération cellulaire dans l'hypothalamus (Jansson et al., 2009). De manière générale les ECS auraient pour conséquence d'influencer positivement la neurovascularisation et d'améliorer les fonctions cérébrales des régions impactées (Girgenti et al., 2011).

Il est important de noter qu'en parallèle de l'augmentation de la prolifération cellulaire, aucune mort cellulaire accrue n'a été observée à la suite des ECS répétées pour les régions cérébrales étudiées, chez les rongeurs et les primates non humains (Madsen et al., 2000 a; Hellsten et al., 2002; Dwork et al., 2004).

G Modifications de la neurogénèse adulte hippocampique.

La neurogénèse adulte est le processus qui permet la création de nouveaux neurones à partir de cellules progénitrices neuronales, à l'âge adulte.

Chez les mammifères, la neurogénèse adulte est présente dans deux régions cérébrales, à savoir l'hippocampe et les ventricules latéraux (Gage, 2000).

La neurogénèse hippocampique a tout d'abord été identifiée chez les animaux puis plus tard décrite chez L'homme (Eriksson et al., 1998; Spalding et al., 2005, 2013). Des évidences de neurogénèse dans d'autres régions cérébrales ont été décrites, tel que dans le striatum (Ernst et al., 2014), le néocortex (Kaplan, 1981; Gould et al., 1999 b, 2001; Bernier et al., 2002; Dayer et al., 2005), et dans l'hypothalamus (Kokoeva et al., 2005). Mais la présence de neurogénèse dans certaines de ces régions reste controversée (Gould, 2007).

a) Les étapes de la neurogénèse dans l'hippocampe adulte : caractérisation phénotypique et fonctionnelle.

La neurogénèse adulte hippocampique a lieu plus particulièrement dans une région précise de l'hippocampe, le gyrus denté (DG) illustré dans la Figure 3. La neurogénèse adulte hippocampique peut être globalement divisée en trois grandes étapes : la prolifération, la différenciation et la maturation conduisant à la survie du nouveau neurone (Figure 3).

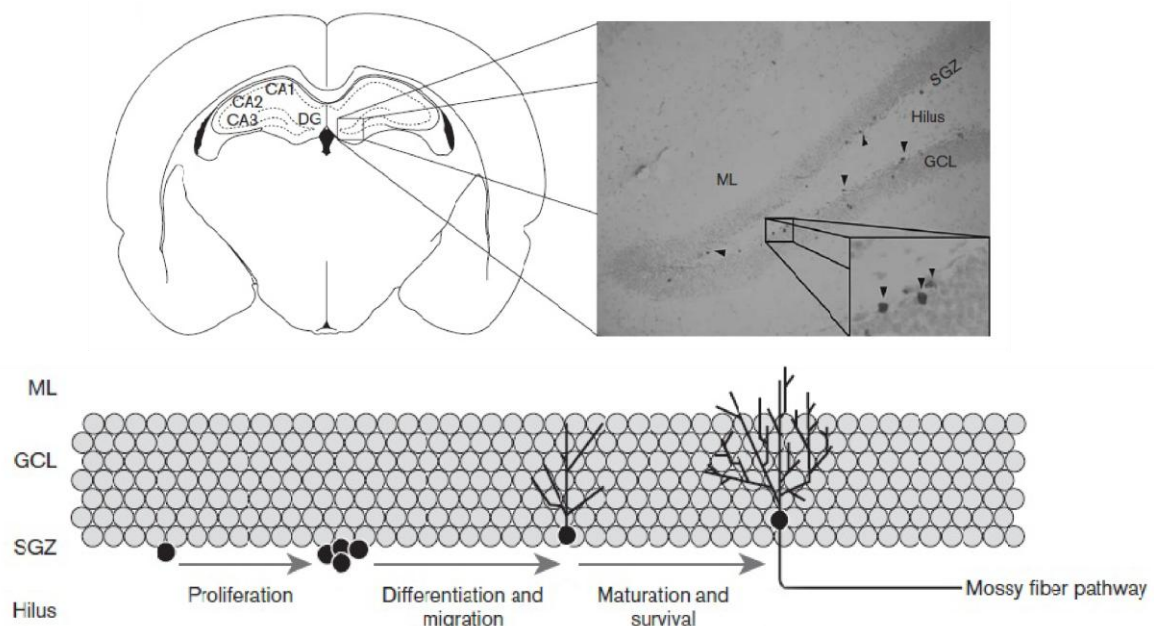


Figure 3: Localisation et grandes étapes de la neurogénèse adulte hippocampique.

L'hippocampe peut être sous-divisé en différentes régions : la corne d'Amon (CA) elle-même divisée en 3 sous régions (CA1 à CA3) ; et le gyrus denté (DG), qui est également divisé en sous régions, l'hilus qui est situé entre les deux bras de la couche granulaire (GCL) en forme de dent, la couche sous granulaire (SGZ), localisée entre l'hilus et la couche granulaire, et enfin la couche moléculaire (ML), qui est composée de l'arborisation dendritiques des neurones du gyrus denté, les neurones granulaires. La neurogénèse peut être divisée en 3 grandes étapes, la prolifération, la différenciation et migration et la maturation et survie. Modifié de (Schmidt and Duman, 2007)

La neurogénèse est un processus continu, où vont se succéder différents types cellulaires. Ceux-ci vont au cours des différentes étapes subir des modifications morphologiques associées à des modifications moléculaires et électrophysiologiques (Figure 4). Il est considéré que 4 semaines sont nécessaires, chez les souris, depuis la prolifération des précurseurs neuronaux jusqu'à la formation de nouveaux neurones granulaires (Espósito et al., 2005; Zhao et al., 2006). Les nouveaux neurones vont continuer à subir des processus de maturation sur plusieurs mois pour être complètement matures et non distinguables (morphologiquement et physiologiquement) des autres neurones granulaires autour des 2-4 mois de développement (van Praag et al., 2002; Espósito et al., 2005; Zhao et al., 2006).

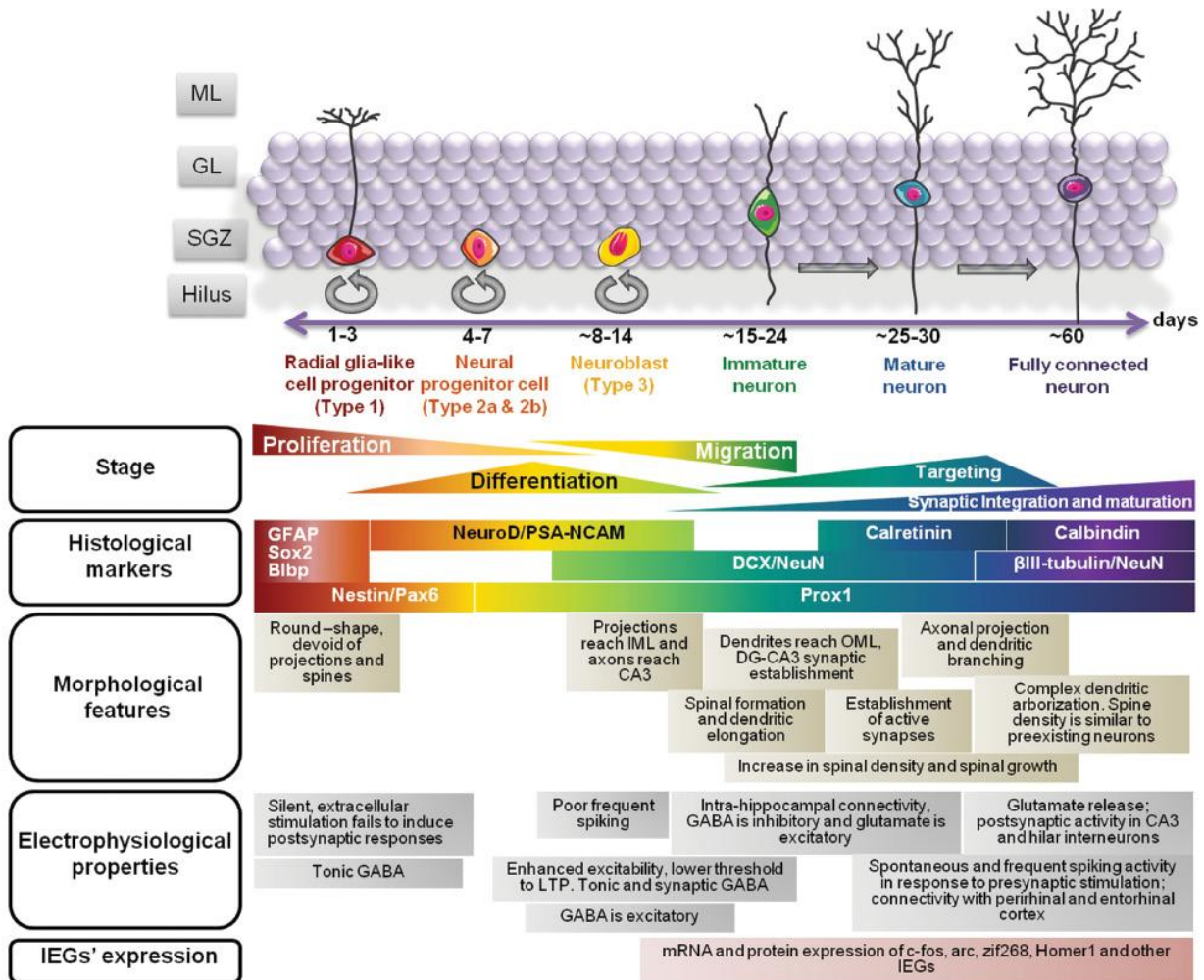


Figure 4: Schéma représentant les différents processus physiologiques qui vont se développer au cours des étapes de la neurogénèse adulte hippocampique.

Au cours des différentes étapes, les cellules vont exprimer divers marqueurs histologiques. GFAP : Glial Fibrillary Acid Protein ; NeuroD : abbreviation pour Neurogenic Differentiation ; PSA-NCAM : pour Polysialylated embryonic form of the Neural Cell Adhesion Molecule ; DCX : Doublecortin ; NeuN : Neuron-specific Nuclear protein; Pox 1: Prospero homeobox 1. Elles vont également exprimer des gènes spécifiques, traduisant leur état de fonctionnement : IEG : Immediate early genes. (Aimone et al 2014).

Comme illustré dans la Figure 4, il est généralement accepté que les cellules souches neurales (ou type 1) vont proliférer et donner des progéniteurs neuronaux proliférants (ou type 2), qui vont donner à leur tour des neuroblastes (ou type 3). Les neuroblastes vont migrer dans la couche granulaire, sur une courte distance et se différencier en neurones immatures. Au cours de l'étape de maturation où l'intégration va jouer un rôle essentiel, les neurones immatures vont devenir des neurones matures fonctionnels et intégrés (Espósito et al., 2005).

Ces différents types cellulaires peuvent être identifiables par l'expression des marqueurs histologiques comme illustré dans la Figure 4. Ces marqueurs sont des protéines qui peuvent être exprimées par un type cellulaire particulier, au cours des différentes étapes ou quand les neurones sont matures. Parmi ces marqueurs, on peut citer la GFAP, qui est présente uniquement dans les cellules de type 1, contrairement à la nestine dont l'expression est présente dans les cellules de types 1 et de type 2 et dont l'expression arrêtee dans les neuroblastes (type 3). Ces derniers vont commencer à exprimer la doublecortine (DCX) jusqu'à leur maturation en neurones immatures, qui vont à leur tour lors de la maturation arrêter l'expression de DCX, en faveur de celle de NeuN, marqueur des neurones matures (Figure 4).

Le phénomène de neurogénèse commence avec les cellules souches neuronales. Leur origine est controversée et pas complètement élucidée à ce jour. Elles présentent une morphologie de type glie radiaire et des caractéristiques astrocytaires (Seri et al., 2001; Steiner et al., 2004). Elles seraient capables de rester pendant 3 jours en cycle cellulaire (Steiner et al., 2004) durant lesquels elles donneront des progéniteurs neuronaux proliférants.

Ces progéniteurs neuronaux possèdent une forte activité mitotique et vont donner des neuroblastes. Les neuroblastes âgés d'une semaine présentent pour la plupart des extensions neuritiques parallèles à la GCL (Zhao et al., 2006). Les neurites vont se développer progressivement afin de former les futures dendrites dans la couche moléculaire et l'axone dans la région CA3. Cette modification morphologique est réalisée aux alentours des 2 semaines de développement (Zhao et al., 2006). Par la suite l'arborisation dendritique va se développer et des épines vont commencer à se former, mais leur morphologie reste typique des neurones immatures (Zhao et al., 2006). La densité synaptique va fortement augmenter jusqu'à la quatrième semaine pour atteindre progressivement un plateau vers les 2 mois (Zhao et al., 2006). Les premiers contacts synaptiques en CA3 observés peu après environ 2

semaines de développement (17 jours) vont continuer à se développer jusqu'à deux mois (Toni et al., 2008). Des contacts synaptiques de nouveaux neurones ont également été observés dans l'hilus (Zhao et al., 2006; Toni et al., 2008).

Après maturation de ces contacts, les nouveaux neurones vont enfin présenter une morphologie similaire aux neurones matures avec des contacts axonaux développés, associés à une arborisation dendritique complexe et des contacts synaptiques à 4 semaines de développement (Zhao et al., 2006). Les neurones matures vont continuer de se développer sur plusieurs mois pour atteindre une maturation complète à environ 6 mois (Zhao et al., 2006; Toni et al., 2008). Ils seront alors totalement non différenciables morphologiquement et fonctionnellement des neurones matures nés de la neurogénèse embryonnaire (Espósito et al., 2005; Zhao et al., 2006).

La relation entre la maturation physiologique et la régulation par les systèmes de neurotransmission est étroite. En effet, tout au long du processus de neurogénèse adulte, les neurones en devenir vont recevoir des influences des systèmes de neurotransmission qui vont moduler leur évolution dans les différentes étapes. Les deux plus importants sont les systèmes GABAergique et glutamatergique. Le GABA va tout d'abord induire des réponses excitatrices, puis les afférences glutamatergiques vont se développer avec un rôle excitateur et enfin le GABA aura son rôle d'inhibition (Espósito et al., 2005).

Au-delà de la première semaine, les cellules vont commencer à présenter des caractéristiques électrophysiologiques de neurones immatures, à savoir une faible activité spontanée d'amplitude et de fréquence réduite (Espósito et al., 2005). Puis les jeunes neurones immatures vont présenter la particularité d'être plus facilement excitables, avec un seuil d'induction de LTP plus faible (Schmidt-Hieber et al., 2004). Puis vers la troisième semaine de développement on peut observer une stimulation glutamatergique nécessaire à la survie des nouveaux neurones (Tashiro et al., 2006). Les neurones de 4 semaines ont les capacités de répondre aux stimulations glutamatergiques et GABAergiques. Ils présentent une expression des récepteurs de ces deux types de neurotransmission et reçoivent de nombreuses afférences glutamatergiques et GABAergiques (Espósito et al., 2005). Ainsi, ces neurones de 4 semaines sont considérés comme fonctionnellement intégrés dans le circuit, de par leur capacité à intégrer les afférences excitatrices et inhibitrices, générer des potentiels d'action et libérer du glutamate (Toni et al., 2008). La fonctionnalité synaptique des neurones de 4 semaines est acceptée, ils continuent de se développer physiologiquement jusqu'à 8 semaines, pour atteindre une activité peu distinguable des neurones matures (van Praag et al., 2002; Espósito et al., 2005; Laplagne et al., 2006; Vivar et al., 2012).

Les progéniteurs neuronaux ne vont pas tous devenir des neurones. En effet entre le troisième jour de développement (pic de prolifération) et la quatrième semaine, une grande majorité des cellules va être éliminées par apoptose (Biebl et al., 2000; Kempermann et al., 2003, 2004; Steiner et al., 2004; Kuhn et al., 2005). Ainsi une période critique de survie des cellules nouvellement formées existerait dans les quatre premières semaines de développement (Kempermann et al., 2003). La survie des cellules dépend d'un processus de maturation correct et d'une intégration fonctionnelle des neurones immatures. Les systèmes glutamatergique et GABAergique ont été suggérés comme les principaux régulateurs de ces deux étapes, ainsi le système GABA serait important dans la différenciation et la maturation (Ge et al., 2005; Tozuka et al., 2005) et le système glutamatergique serait important pour l'intégration et la survie des neurones immatures (Tashiro et al., 2006).

b) Régulations extrinsèques.

De nombreux facteurs vont influencer et réguler le développement des neurones au cours de la neurogénèse adulte.

– Neurotransmetteurs.

L'un des mécanismes de régulation les plus importants est la modulation par les systèmes de neurotransmissions. Plusieurs systèmes vont impacter les différentes étapes de la neurogénèse, mais les deux plus importants et bien connus sont le système GABAergique et le système glutamatergique.

Dès les stades précoces, le système GABAergique va impacter la neurogénèse. En effet, il a été montré que les cellules recevaient, dès le 3^{ème} jour de développement des stimulations excitatrice tonique du GABA ambiant, agissant comme un facteur trophique (Espósito et al., 2005; Ge et al., 2005, 2005; Tozuka et al., 2005). Il a également été montré que les cellules progénitrices (type 2) étaient capables de répondre à ce GABA ambiant par une dépolarisation médiée par des récepteurs GABAergiques exprimés à la membrane (Tozuka et al., 2005). De plus, les afférences GABAergique sur les progéniteurs neuronaux favoriseraient leur différenciation (Tozuka et al., 2005). Le GABA va rester dépolarisant jusqu'à environ deux semaines de développement (Ge et al., 2005), ce qui correspond au développement des épines dendritiques (Zhao et al., 2006).

Le glutamate va être un régulateur clef de l'intégration des nouveaux neurones, en conditionnant leur survie pendant la période critique de la deuxième et troisième semaine de développement (Tashiro et al., 2006). Les récepteurs de type NMDA semblent plus particulièrement importants dans la survie des jeunes neurones. En effet, la diminution d'efficacité de ces récepteurs suffit à réduire leur survie (Tashiro et al., 2006).

La sérotonine semble également être un important régulateur lors de la neurogénèse adulte (Brezun and Daszuta, 1999, 2000; Banasr et al., 2003). Par exemple la sérotonine a montré une implication dans la régulation de la prolifération, en effet l'utilisation d'agoniste de récepteurs à la sérotonine induit une augmentation de la prolifération cellulaire dans la SGZ (Banasr et al., 2003).

– Niche neurogénique.

L'importance de facteurs locaux nécessaires à la neurogénèse et à son maintien dans des zones aux propriétés uniques a conduit à parler de microenvironnement local dans des régions qualifiées de niche.

Dans cette niche neurogénique, trois types cellulaires ont plus particulièrement été impliqués dans la régulation de la neurogénèse : les astrocytes, les cellules endothéliales et la microglie.

Les astrocytes sont les principaux éléments contribuant à l'intégrité de cette niche. Ils ont été largement étudiés, montrant leurs capacités à influencer la neurogénèse adulte par la sécrétion de facteurs locaux. Parmi les facteurs décrits, Wnt semble être un élément clef du microenvironnement. Par exemple, il a été montré que la sécrétion de Wnt3a par les astrocytes favorisait la différenciation neuronale (Song et al., 2002; Lie et al., 2005). L'un des mécanismes d'action de Wnt serait de réguler l'expression de nombreux gènes, tel que NeuroD1 et Prox1 par exemple. NeuroD1 et Prox1 sont des facteurs de transcription montrés comme nécessaires dans l'étape de différenciation neuronale (Gao et al., 2009 b; Karalay et al., 2011). De plus, il a été montré que les astrocytes pouvaient contrôler la maturation dendritique et l'intégration synaptique des neurones au cours de la neurogénèse adulte (Sultan et al., 2015). Les facteurs trophiques présents dans la niche régulent positivement la neurogénèse adulte, cependant leur origine doit être confirmée. Le FGF-2 (Fibroblast Growth Facteur) favorise la prolifération (Zhao et al., 2007), alors que la neurotrophine-3 (NT3)

semble être plutôt nécessaire à la différenciation neuronale (Shimazu et al., 2006). Plus globalement le VEGF et l'IGF-1 augmentent la production de neurones (Aberg et al 2000, Jin et al 2002). Mais le plus connu des facteurs trophiques impliqués dans la régulation de la neurogénèse adulte est le BDNF et sa voie de signalisation. En effet, il a été montré que l'injection de BDNF exogène, augmentait la prolifération des cellules souches neurales (Scharfman et al., 2005). De plus, la délétion conditionnelle ou inductible du récepteur du BDNF, TrkB, dans les astrocytes de l'hippocampe provoque une diminution de la survie neuronale ainsi qu'une altération dans la pousse et la complexité de l'embranchement dendritique des nouveaux neurones (Bergami et al., 2009).

Les cellules endothéliales ont une place importante dans la niche neurogénique. Les cellules progénitrices ont été localisées proches de vaisseaux et étroitement liées aux cellules endothéliales, suggérant que les progéniteurs neuronaux puissent recevoir des influences de facteurs provenant de ces vaisseaux (Palmer et al., 2000). De plus des facteurs sécrétés par les cellules endothéliales ont été montrés comme influençant certaines étapes de la neurogénèse adulte. En effet, une étude in-vitro a montré qu'une coculture de cellules souches neurales et de cellules endothéliales stimulait la prolifération des cellules souches (Shen et al., 2004).

Les évidences de la participation des cellules microgliales à la niche neurogéniques sont plus récentes. Dans l'hippocampe, les cellules microgliales ont principalement été associées à la régulation de la neurogénèse adulte par la phagocytose des cellules en apoptose (Sierra et al., 2010). De plus, elles semblent jouer un rôle dans la régulation du microenvironnement, notamment par la sécrétion de cytokines. En effet, plusieurs études ont montré l'inhibition des étapes de la neurogénèse adulte par différentes cytokines, telles que l'IL-6 (Interleukine 6), l'IL-1 (Interleukine 1) le TNF- α (pour l'anglais : Tumor Necrosis Facteur) (Vallières et al., 2002; Monje et al., 2003; Iosif et al., 2006; Koo and Duman, 2008; Seguin et al., 2009; Wu et al., 2012). Cependant selon l'environnement certaines cytokines comme le TGF- β pourraient avoir un rôle en faveur ou en défaveur de la neurogénèse adulte (Battista et al., 2006; Buckwalter et al., 2006).

– Facteurs environnementaux.

La neurogénèse adulte peut être régulée par des facteurs extrinsèques, qui font le plus souvent référence à des facteurs environnementaux, tel que le stress ou l'enrichissement.

Les modulations favorisant la neurogénèse adulte les plus connues sont l'enrichissement environnemental et l'exercice volontaire.

L'enrichissement environnemental (EE) est considéré comme fournissant des stimulations motrices, sociales et sensorielles. Au laboratoire, pour le rongeur, il consiste généralement à une plus grande cage composée de divers éléments, tels que des tunnels, des roues et un nombre plus important de congénères. Dans ces conditions, il a été montré une augmentation de la survie neuronale mais pas de modification de la prolifération (Kempermann et al., 1997), cet effet de l'environnement étant maintenu chez les souris âgées (Kempermann et al., 1998). Il a été montré récemment que l'action de l'EE est restreint à une période critique de développement des nouveaux neurones et surtout qu'il pouvait affecter les connexions que recevaient les nouveaux neurones (Bergami et al., 2015). En effet, après l'EE, en plus de l'augmentation du nombre de nouveaux neurones, une augmentation transitoire des interneurons des régions CA1 et CA3 et une augmentation plus stable des connexions corticales a été observée (Bergami et al., 2015). L'effet de l'EE semblerait passer par l'augmentation de l'expression de facteur de croissances tel que le VEGF, en effet sa délétion abolit l'augmentation du nombre de nouveau neurones après l'EE (Cao et al., 2004).

A l'inverse, le facteur le plus connu pour réguler négativement la neurogénèse adulte est le stress. Des études ont montré qu'un stress diminuait la prolifération (Gould et al., 1997, 1999 b; Czéh et al., 2001, 2006; Malberg and Duman, 2003; Vollmayr et al., 2003; Chu et al., 2016). L'inhibition de la neurogénèse par le stress, semblerait passer par les glucocorticoïdes, en effet des études ont montré que la diminution des hormones surrénaliennes induisait une augmentation de nombre de progéniteurs (Gould et al., 1992) et à l'inverse l'injection de corticostérone diminuait le nombre de cellules en prolifération (Cameron and Gould, 1994). Ces observations ont été renforcées par le récent modèle de dépression, le modèle CORT, où l'injection chronique de corticostérone diminue la neurogénèse adulte (Qiu et al., 2007; Murray et al., 2008; David et al., 2009; Schloesser et al., 2015).

c) Rôles de la neurogénèse adulte hippocampique.

Même si aujourd'hui l'intégration fonctionnelle des nouveaux neurones est bien démontrée, les fonctions de ces neurones ne sont pas encore entièrement identifiées. Afin d'appréhender le rôle des nouveaux neurones plusieurs démarches ont été entreprises.

– Neurogénèse dans la mémorisation et l'apprentissage.

La première stratégie a été d'observer l'effet de l'apprentissage et de la mémorisation sur la neurogénèse adulte hippocampique.

Un effet complexe est observé sur les différentes étapes de la neurogénèse adulte hippocampique suite à l'apprentissage d'une tâche. Ainsi, l'apprentissage augmente la survie des neurones âgés d'une semaine sans influencer la survie des neurones de 3 semaines, suggérant une période critique où la survie des neurones peut être modulée (Gould et al., 1999 a; Anderson et al., 2011). Cette influence peut persister jusqu'à 2 mois (Leuner et al., 2004). De plus, il a été observé une corrélation entre l'amélioration des performances hippocampe-dépendantes et l'augmentation de la neurogénèse adulte (van Praag et al., 1999; Sisti et al., 2007). Moins d'évidences ont été trouvées pour l'effet sur la prolifération, une seule étude montre une augmentation de cette étape (Döbrössy et al., 2003). Il est intéressant de noter que l'apprentissage augmente la complexité de l'arborisation dendritique sans l'influence d'une période critique, ainsi l'arborisation pourrait être régulée tout au long de la vie du neurone (Tronel et al., 2010; Lemaire et al., 2012).

Il a été suggéré que le rôle des nouveaux neurones dans la mémorisation serait lié aux caractéristiques électrophysiologiques des neurones immatures. En effet, les neurones immatures ont un seuil d'induction de la LTP moins élevé, ce qui leur permettrait de répondre et d'intégrer plus rapidement les stimuli générés durant le processus de mémorisation (Bruehl-Jungerman et al., 2007). En lien avec cette hypothèse une étude a montré que l'induction d'une LTP des fibres perforantes (afférences du GD) augmente la prolifération des progéniteurs et la survie des neurones immatures âgés de 2 semaines (Bruehl-Jungerman et al., 2006). Il a été suggéré que l'implication des nouveaux neurones dans les fonctions cérébrales était dépendante d'une période critique, où la plasticité des nouveaux neurones est augmentée, à savoir la période de 3 à 6 semaines de développement (Marín-Burgin et al., 2012).

– Modification de la neurogénèse.

La deuxième stratégie plus directe, a consisté à modifier la neurogénèse adulte directement afin d’observer les changements induits par une altération ou une amélioration de celle-ci.

Pour altérer la neurogénèse adulte, différentes techniques ont été utilisées, l’injection de MAM (methylazoxymethanol, une molécule bloquant l’avancée dans le cycle cellulaire par méthylation de l’ADN), l’irradiation par rayon X, et l’utilisation de modèles transgéniques.

Les animaux injectés au MAM présentent des défauts d’apprentissage qui sont réversibles lorsque les animaux retrouvent un niveau de neurogénèse adulte normal (Shors et al., 2001).

L’abolition de la neurogénèse hippocampique par les rayons X, a montré une diminution des performances de l’apprentissage hippocampe-dépendant, tel que la reconnaissance d’objet, la reconnaissance spatiale et la peur conditionnée (Madsen et al., 2003; Saxe et al., 2006; Winocur et al., 2006; Warner-Schmidt et al., 2008). La peur conditionnée est l’association d’un contexte à un stimulus aversif, induisant une réaction de peur dans ce contexte sans la présence du stimulus. Une autre étude a montré l’implication de la neurogénèse adulte dans le processus de « pattern séparation », qui est un processus permettant de mémoriser des souvenirs qui ne se chevauchent pas. Ainsi, une altération de la neurogénèse adulte hippocampique induirait la mémorisation d’un seul souvenir au lieu de deux fortement similaires (Clelland et al., 2009).

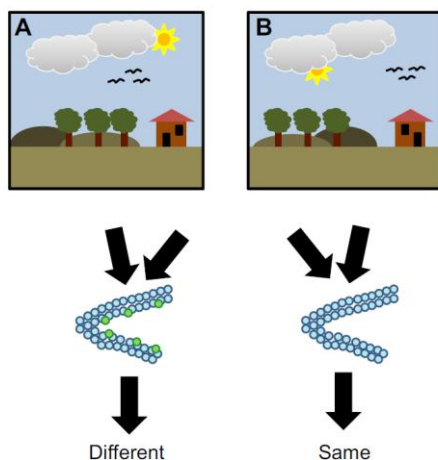


Figure 5: Illustration du phénomène de « pattern separation ».

Les deux événements A et B sont très similaires et peuvent être identifiés comme différents s’il y a une neurogénèse adulte dans le DG. La présence de neurogénèse adulte est représentée par les points vert, le DG est illustré par les points bleu (Aimone et al., 2014).

Une autre technique qui consiste à inhiber génétiquement la neurogénèse, a montré des résultats plus contradictoires. Deux lignées de souris ont été générées, conduisant à

l'élimination des cellules de type 1, aboutissant à la perte de production de nouveaux neurones. Chez les souris GFAP-TK, la thymidine kinase est exprimée uniquement par les progéniteurs neuronaux exprimant la GFAP, induisant leur mort suite à l'injection de gancyclovir (Garcia et al., 2004; Saxe et al., 2006, 2007). Chez les souris Bax, les cellules nestine positives (cellules de type 1 et 2) expriment la protéine Bax (nécessaire à la mort cellulaire), et sont spécifiquement éliminées par traitement à la doxycycline (Dupret et al., 2008). Les études ont montrées une altération de la peur contextuelle conditionnée sans modification dans des tests de mémoire spatiale pour les souris GFAP-TK, alors que les souris Bax montrent à l'inverse une altération dans les tests de mémoire spatiale et aucune modification de la peur contextuelle conditionnée (Saxe et al., 2006; Dupret et al., 2008). Une autre étude utilisant une nouvelle lignée (NSE-DTA), qui présente une mort spécifique des cellules exprimant la nestine (progéniteurs de type 1 et 2) suite à l'injection de tamoxifen, induisant une inhibition de la neurogénèse, a confirmé la nécessité de la neurogénèse adulte dans la mémoire spatiale (Imayoshi et al., 2008). Plus d'études seraient nécessaire pour éclaircir ces résultats contradictoires.

Pour l'étude des effets d'une amélioration de la neurogénèse adulte, une seule technique est utilisée, la modification génique. Dans des lignées de souris, le traitement au tamoxifen va induire la délétion de Bax dans les cellules exprimant la nestine avec pour conséquence de favoriser la survie neuronale (Sahay et al., 2011). L'étude de ces souris a confirmé l'implication de la neurogénèse adulte dans le processus de « pattern séparation ». En effet, il a été observé que l'augmentation de la neurogénèse était suffisante pour améliorer les performances de discrimination entre deux contextes similaires (Sahay et al., 2011).

d) ECS et neurogénèse adulte.

Chez l'Homme une augmentation du volume de l'hippocampe et de l'amygdale est retrouvé à la suite des ECT (Bouckaert et al., 2016; Jorgensen et al., 2016; Joshi et al., 2016). Chez les rongeurs, quelques études ont montrés des modifications morphologiques après des ECS répétées, tel que l'augmentation de la taille de la couche granulaire du DG chez des rats sains (Chen et al., 2009) et l'augmentation de volume de l'hippocampe chez le modèle FSL (Kaae et al., 2012).

Ces modifications morphologiques pourraient être expliquées par la stimulation de la neurogénèse adulte. En effet, plusieurs études ont montrés une augmentation de la prolifération cellulaire dans le GD, suite à l'administration d'ECS répétées à des rongeurs sains. Ces cellules sont en majorité des neurones et survivent au moins 3 mois (Madsen et al., 2000 b; Malberg et al., 2000; Scott et al., 2000; Segi-Nishida et al., 2008; Weber et al., 2013). L'augmentation de la prolifération et de leur survie 4 semaines après les ECS répétées a également été montrée chez les primates non humains (Perera et al., 2007). Cependant peu d'études ont montrés cet effet chez un modèle animal de dépression (Ekstrand et al., 2008; Schloesser et al., 2015).

Il a été suggéré que la stimulation de la neurogénèse associée à l'augmentation de la densité synaptique et l'augmentation de l'arborisation dendritique par les ECS, pourrait restaurer l'atrophie de l'hippocampe observée chez les patients (Malberg et al., 2000).

Plusieurs études ont tenté de comprendre comment les ECS stimulaient la neurogénèse adulte. Une des hypothèses était la modulation par des facteurs trophiques. Celle-ci a été validée par des études montrant la nécessité du VEGF (pour l'anglais Vascular Endothelial Growth Factor) pour l'augmentation de la prolifération des progéniteurs neuronaux après les ECS (Segi-Nishida et al., 2008; Warner-Schmidt et al., 2008). En lien avec ce rôle du VEGF, il a été observé une augmentation de l'angiogénèse suite à des ECS répétées (Cf partie prolifération cellulaire non neuronale). Cette augmentation de la vascularisation au niveau du DG a été proposée comme support à la stimulation de la neurogénèse adulte (Hellsten et al., 2004 b). Au niveau moléculaire, une étude a montré l'implication de la cascade de signalisation de sonic hedgehog pour l'augmentation de la prolifération suite aux ECS (Banerjee et al., 2005)

Connaissant le rôle important de la neurotransmission dans la régulation de la neurogénèse adulte, les neurotransmetteurs et leurs récepteurs pourraient être importants. En effet, chez des animaux déficients pour la Tamaline, qui est une protéine associée aux récepteurs de type mGlu, les effets majeurs des ECS sur la plasticité, à savoir la stimulation de la neurogénèse adulte, le bourgeonnement des fibres moussues et l'augmentation de la complexité de l'arborisation dendritique, sont abolis (Yanpallewar et al., 2012). Ainsi, les effets des ECS pourraient être médiés par la modulation de la neurotransmission glutatmatergique et/ou par la plasticité synaptique. En effet, les ECS ont été montrées comme stimulant la synaptogénèse (cf partie précédente épines et arborisation dendritiques).

e) Les différences entre l'Homme et les rongeurs.

La neurogénèse adulte hippocampique est également présente chez l'Homme (Eriksson et al., 1998; Spalding et al., 2013), mais son analyse est difficile. Ainsi, toutes les études permettant d'avancer dans la compréhension de ce phénomène ont été réalisées chez les animaux et plus particulièrement chez les rongeurs. Cependant la proportion de la population hippocampique impactée par la neurogénèse adulte et son maintien au cours du vieillissement semble être différente entre les rongeurs et l'Homme (Ernst and Frisé, 2015). Spalding et des collègues ont montrés que la neurogénèse adulte hippocampale humaine impliquait environ 35% des cellules de l'hippocampe, avec 700 nouveaux neurones ajoutés par hippocampe par jour, correspondant à un renouvellement de 1,75% par an dans la population impactée (Spalding et al., 2013). Sachant que les cellules du GD représentent environ 35% des cellules de l'hippocampe, il a été suggéré que toute la population cellulaire du GD était renouvelée par la neurogénèse adulte (Spalding et al., 2013; Ernst and Frisé, 2015). Chez les rongeurs, seulement 10% environ de la population neuronale du GD serait impactée par la neurogénèse adulte (Imayoshi et al., 2008).

De plus, chez les rongeurs un déclin prononcé de la neurogénèse adulte est observé avec l'âge (Kuhn et al., 1996), alors que chez l'Homme le taux de création des nouveaux neurones reste relativement stable au cours du vieillissement (Spalding et al., 2013).

Globalement, aucune étude n'a été réalisée sur des animaux présentant des anomalies comportementales chroniques dans l'ensemble des dimensions et associées à des atteintes neurobiologiques constitutionnelles. Au laboratoire, nous avons un modèle constitutif des pathologies psychiatriques, les souris invalidées pour le gène *map6*.

II. Le cytosquelette et les pathologies psychiatriques.

Depuis quelques années les résultats de plusieurs études convergent vers l'implication du cytosquelette et de ses régulateurs dans les pathologies psychiatriques (Wong et al., 2013; Marchisella et al., 2016). Des études chez l'Homme et l'animal, ont montré des altérations des connectivités neuronales et de la plasticité dans les pathologies psychiatriques (Rosoklija et al., 2000; Duman et al., 2007; Yuan et al., 2010; Penzes et al., 2011; Kang et al., 2012). Elles seraient notamment induites par des altérations du cytosquelette neuronal et de ses régulateurs

(Bianchi et al., 2009; Yang et al., 2009; Soetanto et al., 2010; Bianchi and Baulieu, 2012; Brown et al., 2014).

1. Le cytosquelette neuronal.

Le cytosquelette neuronal est composé de neurofilaments intermédiaires, de filaments d'actine ou microfilaments et de microtubules. Les altérations des neurofilaments sont impliquées dans des pathologies neurodégénératives, tel que la sclérose latérale amyotrophique et certaines neuropathies (pour plus d'informations sur les neurofilaments (Lépinoux-Chambaud and Eyer, 2013; Lowery et al., 2015). Je développerai plus en détails l'actine et les microtubules, plus pertinents pour cette étude par leur implication directe ou par l'intermédiaire de leurs régulateurs, dans la physiopathologie des troubles psychiatriques.

A L'actine.

L'actine est retrouvée dans les neurones principalement sous forme de filaments d'actine, appelé actine F. Ces derniers sont composés de l'assemblage de monomères d'actine globulaire (actine G). L'actine F est très dynamique et de nombreux régulateurs ont été décrits (Campellone and Welch, 2010).

L'actine et sa dynamique sont importantes dans la morphologie et la motilité du cône de croissance, dans la croissance des neurites et dans la guidance axonale. Dans les neurones matures, elle joue un rôle clef dans le trafic et l'ancrage des récepteurs (Renner et al., 2008), dans la formation des synapses (Matus, 2005; Cingolani and Goda, 2008), plus particulièrement dans la partie post-synaptique : l'épine dendritique (Sekino et al., 2007).

Les épines sont riches en actine F, où elle a un rôle important dans la stabilisation, la maturation et la plasticité (Star et al., 2002; Cingolani and Goda, 2008; Hotulainen and Hoogenraad, 2010). On peut ainsi citer comme exemple, son implication dans la potentialisation à long terme ou LTP (mécanisme moléculaire de la mémoire). La LTP va se traduire par un renforcement de l'activité de la synapse, visible morphologiquement par un agrandissement de la tête de l'épine et une réorganisation de l'actine (Fukazawa et al., 2003; Fortin et al., 2010).

B Les microtubules.

Les microtubules sont des éléments fibreux du cytoplasme présents dans toutes les cellules eucaryotes. Ils sont essentiels pour des fonctions vitales des cellules, telles que la

division cellulaire, la morphogénèse et son maintien, et le trafic vésiculaire (Yamada et al., 1970; Kapitein and Hoogenraad, 2011).

La morphologie polarisée des neurones est cruciale pour leurs fonctions (recevoir, analyser et transmettre l'information électrique). Cette polarité est dépendante des microtubules (Witte and Bradke, 2008). Ils jouent un rôle important dans la formation, le maintien et la dynamique de l'arborisation dendritique, qui est le compartiment qui reçoit les signaux électriques. Les microtubules sont également des éléments clefs dans le développement et le maintien de l'axone, qui est le compartiment transmettant l'information aux autres neurones (A M Craig and Banker, 1994). Ils sont également importants dans le transport moléculaire, servant de rails aux moteurs moléculaires (Guzik and Goldstein, 2004; Kapitein and Hoogenraad, 2011).

Les microtubules sont des tubes creux, formés d'en moyenne 13 protofilaments juxtaposés, issus de la polymérisation d'hétérodimères de tubuline (alpha et beta). Ce sont des structures polarisées et dynamiques dont la longueur peut varier par l'alternance de phase de polymérisation et dépolymérisation, qui est le processus nommé instabilité dynamique (Mitchison and Kirschner, 1984; Desai and Mitchison, 1997). Ils possèdent une extrémité dite « bout plus », où l'on peut observer une élongation rapide, et une extrémité dite « bout moins », de dynamique plus lente (Bergen and Borisy, 1980). Cette polarité permet un transport bidirectionnel et permet d'établir la compartimentation en axones et en dendrites, où l'orientation des microtubules est différente (Baas et al., 1991). Dans les neurones matures, les microtubules sont en grande proportion stables et résistants aux substances dépolymérisantes et au froid (Pirollet et al., 1983; Job and Margolis, 1984 a; Margolis and Job, 1984).

La dynamique des microtubules est finement régulée par des facteurs protéiques que sont les moteurs protéiques et les protéines associées aux microtubules ou MAPs (Hirokawa, 1994; Lieuvin et al., 1994).

C Les MAPs.

La régulation de la dynamique des microtubules est essentielle pour la bonne organisation du cytosquelette et pour la constitution de la morphologie neuronale particulière (Li and Gundersen, 2008; Witte and Bradke, 2008). Cette stabilisation est réalisée par une famille de protéine, les MAPs (pour « Microtubule Associated Proteins »). Parmi celles-ci, on peut citer Tau, DCX, MAP2, MAP1B et MAP6.

Tau est une protéine neuronale, possédant six isoformes, qui sont exprimées de façon différentielle au cours du développement (Drubin and Kirschner, 1986 a, 1986 b). Elle favorise la polymérisation et l'assemblage des microtubules (Weingarten et al., 1975; Cleveland et al., 1977; Drechsel et al., 1992) et est responsable de la stabilisation de ceux-ci dans l'axone (Binder et al., 1985; Brandt and Lee, 1993). Tau est impliqué dans le développement neuronal et le maintien du système nerveux (Avila et al., 2004). L'altération de ses fonctions suite à son hyper-phosphorylation est impliquée dans des pathologies neurodégénératives, tel qu'Alzheimer (Avila et al., 2004; Goedert and Spillantini, 2006).

La Doublecortin ou DCX, est exprimée dans les neurones en développement pendant la période embryonnaire et durant une courte période postnatale (Francis et al., 1999; Gleeson et al., 1999; Belvindrah et al., 2011). Chez l'adulte, l'expression de DCX est transitoire et restreinte aux cellules lancées dans le processus de neurogénèse adulte (Brown et al., 2003). Ces différences d'expression suggèrent qu'elle aurait plusieurs fonctions au cours du développement et chez l'adulte. DCX stabilise les microtubules et favorise la formation de faisceaux de microtubules (Francis et al., 1999). Ses propriétés sont également modulées par la phosphorylation, avec pour conséquence de diminuer son affinité avec les microtubules (Schaar et al., 2004; Tanaka et al., 2004). DCX semble jouer un rôle central dans la différenciation et la migration neuronale, suggéré par la présence de défauts de l'arborisation dendritique et de migration lors de son inhibition sur des neurones en culture (Kappeler et al., 2006; Koizumi et al., 2006); ceci a été confirmé par l'observation de mutation du gène *dcx* conduisant au syndrome de Lissencéphalie, qui est caractérisé par des défauts sévères de migration des neurones corticaux (Taylor et al., 2000).

MAP2 possède différents isoformes tous exprimés dans le système nerveux central (Neve et al., 1986). Elles lient et stabilisent les microtubules selon leur état de phosphorylation (Brugg and Matus, 1991). Les isoformes MAP2A et MAP2B sont présentes exclusivement dans les neurones et plus particulièrement dans des compartiments spécifiques que sont le soma et les dendrites (Caceres et al., 1984 a, 1984 b). Elles sont différemment exprimées selon le stade de développement (Tucker et al., 1988), et semblent être impliquées dans la morphogénèse neuronale. Alors qu'une inhibition de MAP2 dans des cultures de neurones entraîne une diminution du nombre de neurites (Caceres et al., 1992; Sharma et al., 1994), aucun dommage majeur dans l'organisation du système nerveux n'est observé dans les souris invalidées pour le gène *map2*. Ceci est probablement dû à des mécanismes de compensations par d'autres MAPs, tel que MAP1B (Teng et al., 2001). Une altération de

l'expression de MAP2 est observée chez de nombreux patients atteints de schizophrénie (Broadbelt et al., 2002; Shelton et al., 2015) et serait liée à la perte d'épine dendritique (Shelton et al., 2015).

MAP1-B fait partie des MAP de type 1 exprimées chez la plupart des vertébrés, qui est composée de MAP1-A, MAP1-B et MAP1-S (Halpain and Dehmelt, 2006). Elles lient et stabilisent les microtubules notamment lors de l'exposition à des drogues dépolymérisantes tel que le nocodazole (Hirokawa, 1994; Bondallaz et al., 2006). Elles ont également la capacité d'interagir avec les microfilaments d'actine (Tögel et al., 1998) et de lier ainsi ces deux éléments du cytosquelette. MAP1A est fortement exprimée au niveau des dendrites et joue un rôle dans le contrôle de la synaptogénèse (Szebenyi et al., 2005), alors que MAP1B est présente dans tous les compartiments neuronaux, et majoritairement au niveau des axones en développement et de leurs cônes de croissance (Black et al., 1994). MAP1B peut être phosphorylée, induisant une diminution de la stabilité des MTs (Goold et al., 1999), et sa délétion induit une migration anormale des neurones et des défauts de croissances neuronales (Edelman et al., 1996). Elle joue donc un rôle essentiel dans la croissance axonale en influençant la dynamique des microtubules au niveau des cônes de croissance. De plus il est intéressant de noter qu'une altération de la phosphorylation de MAP1-B est retrouvée chez les patients schizophrènes (Blanpied and Ehlers, 2004).

Parmi toutes les MAPs, peu d'entre elles sont capables de stabiliser les microtubules face aux substances dépolymérisantes et au froid, les états les plus extrêmes de stabilisation des microtubules. L'une d'entre elle, découverte par cette propriété particulière est la protéine MAP6.

2. Les protéines MAP6.

La protéine MAP6 pour « Microtubule Associated Protein 6 » était anciennement appelée STOP pour « Stable Tubule Only Polypeptide » pour sa propriété de stabiliser les microtubules au froid, caractéristique ayant permis sa découverte (Job et al., 1982). MAP6 se lie aux microtubules et les stabilisent, induisant une résistance à des conditions déstabilisatrices, à savoir l'exposition à de basse température (< 15°C) et à des molécules dépolymérisantes tel que le nocodazole (Bosc et al., 2003).

A Structures moléculaires et isoformes.

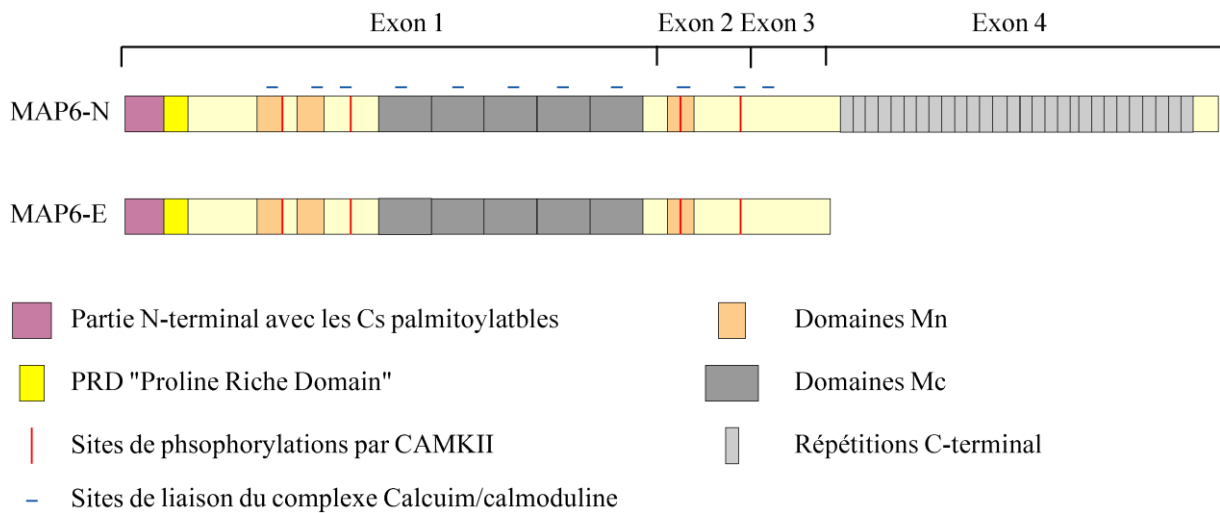


Figure 6: Structure des isoformes neuronales : MAP6-E et MAP6-N.

Les lignes noires délimitent les zones codées correspondant aux quatre exons. La partie N-terminal possède plusieurs cystéines (Cys) pouvant être palmitoylées. Les protéines MAP6 peuvent être phosphorylées au niveau de différents sites par la protéine kinase calcium/calmoduline dépendante II (CAMKII). Les domaines Mn stabilisent les microtubules au nocodazole et au froid, alors que les domaines Mc permettent uniquement à la stabilisation au froid. Ces derniers sont également importants pour la liaison à l'actine, leur nombre peut varier en fonction des espèces et entre les rats et les souris. Le nombre de répétitions présentes en C-terminal varie selon les espèces et est de fonction inconnue.

MAP6 est codée par un seul gène composé de quatre exons (Denarier et al., 1998 a). Différents isoformes peuvent être produits par épissage alternatif de ce gène ou par l'utilisation de promoteurs distincts (Aguzzoul et al., 2003). Cinq variant tissulaires et développementaux ont été mis en évidence, la MAP6-N, MAP6-E, MAP6-F, MAP6-O et MAP6-A (Bosc et al., 1996; Denarier et al., 1998 a; Guillaud et al., 1998; Galiano et al., 2004).

Les isoformes neuronales, sont MAP6-N (MAP6-Neuronal) majoritaire chez l'adulte et MAP6-E (MAP6-Early) est abondante chez l'embryon et présente mais moins exprimée chez l'adulte (Bosc et al., 1996; Guillaud et al., 1998). Comme illustré dans la Figure 6, la différence entre ces deux isoformes se situe au niveau de leur partie C-terminale, qui est manquante chez MAP6-E. MAP6-N est l'isoforme complète, exprimant toute la partie codante du gène map6 (Bosc et al., 2003).

MAP6 est retrouvée dans d'autres types cellulaires du système nerveux central avec MAP6-O, qui est l'isoforme majeure dans les oligodendrocytes, et MAP6-A, qui est l'isoforme spécifique des astrocytes (Galiano et al., 2004).

MAP6 n'est pas spécifique au cerveau, elle a pu être observée dans le cœur, les muscles, les reins, les poumons et les testicules (Aguzzoul et al., 2003). Il a été notamment

identifié un isoforme non-neuronale, plus particulièrement caractérisé dans les fibroblastes, d'où provient son nom, la MAP6-F (Denarier et al., 1998 b). Ce variant à la particularité d'être exprimé par un promoteur différent des autres isoformes, de ce fait il est tronqué d'une large partie N-terminale (Aguezzoul et al., 2003).

B Fonctions des isoformes neuronales.

MAP6 a été initialement décrite comme régulant la dynamique des microtubules (Job et al., 1982, 1987; Job and Margolis, 1984 b). Son rôle de stabilisation des microtubules, est dépendant de modules particuliers nommés Mn et Mc (Figure 6) (Bosc et al., 2001; Delphin et al., 2012). MAP6-N est principalement observée au niveau des microtubules stables, présent dans l'axone et dans les dendrites (Guillaud et al., 1998; Andrieux et al., 2002). Comme d'autre MAPs, MAP6 peut subir des modifications, induisant sa relocalisation et probablement la régulation de ses fonctions. En effet, MAP6 peut être phosphorylée, ce qui entraîne sa relocalisation au niveau de structure riche en actine F, avec une possibilité de liaison de MAP6 à l'actine (Baratier et al., 2006). Cette phosphorylation est réalisée par la CAMK II (protéine kinase calcium/calmoduline dépendante II) (Figure 6) (Bosc et al., 1996; Baratier et al., 2006). MAP6 lie le complexe calcium-calmoduline sur les sites de liaison aux microtubules (Figure 6) (Bosc et al., 2003; Lefèvre et al., 2013). Une autre modification a été observée, la palmitoylation. MAP6, peut être palmitoylée au niveau de cystéines localisées en N-terminal (Figure 6), ce qui permet sa localisation au niveau des membranes et de l'appareil de Golgi (Gory-Fauré et al., 2006, 2014, -). La possibilité de relocalisation de MAP6 à l'actine, aux membranes et l'appareil de Golgi est intéressante, sachant que l'appareil de Golgi a été localisé au niveau des synapses et des dendrites, où il semble être important pour la plasticité synaptique (Horton and Ehlers, 2004), et que MAP6 a également été observé au niveau synaptique (Andrieux et al., 2002). De plus, il est important de noter qu'une activation neuronale par l'exposition au glutamate (compatible avec l'activation de la CAMKII) induit une augmentation du marquage de MAP6-N au niveau de structures riches en actine (Baratier et al., 2006). Ainsi, il se pourrait que MAP6 ait un rôle au niveau des synapses.

En plus de son implication au niveau synaptique, MAP6 semble jouer un rôle dans le développement neuronal. En effet, il a été montré que la surexpression de MAP6 dans des neurones d'hippocampe en cultures réduisait fortement le nombre de branchements dendritiques (Schwenk et al., 2013). De plus, MAP6 présente un profil d'expression différentiel au cours du temps dans le phénomène de neurogénèse adulte, avec une expression

dans les neurones immatures puis matures, mais pas dans les précurseurs neuronaux (Fournet et al., 2010).

Une autre étude a montré l'implication de MAP6 dans le transport dendritique des lysosomes. Cette propriété est médiée par son interaction directe avec TMEM106B, une protéine transmembranaire localisée au niveau des endosomes tardifs et des lysosomes (Schwenk et al., 2013). La protéine MPA6 a également été montrée comme impliquée dans le transport axonale (Daoust et al., 2014).

3. Les souris KO-MAP6.

Pour aller plus loin dans l'étude la protéine MAP6, et identifier son rôle physiologique à l'échelle de l'animal, des souris déficientes pour cette protéine ont été générées (Andrieux et al., 2002).

A Génération des souris KO-MAP6.

La protéine MAP6 possédant différentes isoformes, il était important d'inhiber l'expression de toutes ses formes. Pour cela, une cassette contenant le gène rapporteur LacZ a été insérée par recombinaison homologue dans l'exon 1 (codant pour la partie N-terminal de MAP6, commune à toutes les isoformes). LacZ étant exprimé sous le promoteur de MAP6, il permet de visualiser le patron d'expression de la protéine dans les différentes régions cérébrales. Ainsi, dans le cerveau, les protéines MAP6 sont exprimées dans différentes régions cérébrales, le système olfactif, la couche VII du cortex, l'hippocampe, l'hypothalamus, l'habenula et le cervelet (Andrieux et al., 2002; Couégnas et al., 2007).

Selon le ratio mendélien, le croisement entre les souris hétérozygotes pour MAP6 donne 50% de souris hétérozygotes (Het), 25% de souris sauvages (WT) et 25% de souris déficientes pour MAP6 (KO).

Les souris invalidées pour le gène Map6 (souris KO-MAP6) sont viables mais présentent des défauts comportementaux associés à des altérations neuro-anatomiques et neurobiologiques, pouvant être assimilés aux symptômes et aux altérations biologiques de pathologies psychiatriques.

Les souris KO-MAP6 présentent également des altérations physiologiques telles qu'une altération du poids corporel, et une altération des seuils de sensibilité. En effet, le poids des souris KO-MAP6 juvéniles (1-6 semaines) et âgées (24-27 semaines) n'est pas

différent des souris sauvages, alors que les jeunes adultes (6-8 semaines) ont un poids corporel réduit (Fournet et al., 2012 c). Elles montrent également une hypersensibilité nociceptive, avec un seuil de sensibilité à des stimuli thermiques et mécaniques inférieur aux souris WT (Charlet et al., 2010).

B Troubles comportementaux.

La délétion du gène STOP chez la souris induit des altérations comportementales sensibles aux neuroleptiques (NL), aux antidépresseurs (Fournet et al., 2012 a) et à l'épothilone D, un agent stabilisateur des microtubules (Andrieux et al., 2006). Parmi ces altérations, nous pouvons retrouver des troubles comportementaux associés aux 3 types de symptômes : les troubles positifs, négatifs et cognitifs observés dans la schizophrénie. On peut également observer des comportements associés aux symptômes de la dépression.

a) Comportements associés aux troubles positifs :

L'activité spontanée des souris KO-MAP6 est fragmentée, avec des périodes d'activités intenses sans but apparent alternées avec des périodes d'apathie. Ainsi les phases d'activité et d'apathie, prennent l'ascendant sur le temps passé à se nourrir et à dormir par rapport aux souris WT (Andrieux et al., 2002). De plus, si l'on étudie leur activité motrice durant le cycle jour/nuite, on peut observer une hyperactivité lors de la phase nocturne qui n'apparaît qu'après la puberté (Brun et al., 2005; Bégou et al., 2007). Une hyperactivité motrice a pu également être observée en réaction à un nouvel environnement ou en réponse à un stress léger tel qu'une injection saline (Brun et al., 2005; Fradley et al., 2005; Bégou et al., 2007; Fournet et al., 2012 a; Volle et al., 2013), ou suite à l'exposition aux psychostimulants tel que l'amphétamine (Brun et al., 2005; Bégou et al., 2007; Volle et al., 2013), la cocaïne et la nicotine (Bouvais-veret et al 2007 ; Bouvais veret et al 2008).

b) Comportements associés aux troubles négatifs :

Les souris KO-MAP6 présentent un comportement maternel fortement altéré. En effet elles ont un défaut dans la préparation du nid et ne présentent aucun intérêt pour les souriceaux, ce qui a pour conséquence leur mort dans les 24 à 48 heures après leur naissance (Andrieux et al., 2002). Ces effets sont indépendants du génotype des souriceaux et d'altérations organiques ou hormonales (Andrieux et al., 2002). Les souris KO-MAP6 présentent également une altération sévère de l'interaction sociale et de l'agressivité (Andrieux et al., 2002; Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Volle et al., 2013).

Les souris KO-MAP6 montrent un déficit du filtrage sensorimoteur, avec une diminution de l'inhibition d'un pré-stimulus sonore (PPI : Pre-Pulse Inhibition) (Fradley et al., 2005).

c) Troubles cognitifs :

Les souris KO-MAP6 présentent de nombreux défauts cognitifs. On peut citer par exemple de fortes altérations des performances d'apprentissage, qui peuvent être observées dans différents tests, tel que la reconnaissance du nouvel objet (Andrieux et al., 2002; Powell et al., 2007; Kajitani et al., 2010; Fournet et al., 2012a, 2012b) et la version associative de la piscine de Morris (Bouvrais-Veret et al., 2007). Elles présentent également des défauts de la mémoire de travail spatiale, comme observé dans le test de la piscine de Morris avec des indices dans l'espace (Fournet et al., 2012b), des défauts de la mémoire à court et long terme, avec le test d'alternance spontanée (Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Fournet et al., 2012 b, 2012 c; Volle et al., 2013) et des défauts de la mémoire sociale (Bégou et al., 2008; Volle et al., 2013).

d) Comportements associés à la dépression :

Les comportements assimilés aux symptômes de la dépression peuvent être mis en évidence par l'évaluation du comportement de nettoyage qui peut être assimilé à l'aspect corporel négligé des patients déprimés (Willner, 1991), par la diminution de la consommation de fluide ou nourriture agréables qui peut être interprété comme un signe d'anhédonie (Willner, 1991), et par la diminution de l'interaction sociale, qui est également un symptôme de la dépression associé à l'anhédonie. Pour ces tests, les souris KO-MAP6 exhibent une altération de comportement par rapport aux souris WT, avec une diminution du comportement de nettoyage, une faible préférence pour l'eau sucrée (Fournet et al., 2010) et une diminution de l'interaction sociale (Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Volle et al., 2013).

e) Anxiété :

Les comportements d'anxiété chez les souris peuvent être mesurés par différents tests, où les souris ont le choix entre des zones anxiogènes (champ libre ou zone de forte intensité lumineuse) et une zone moins anxiogène (l'obscurité ou les parois des cages). L'état d'anxiété des souris KO-MAP6 est difficile à évaluer, en effet selon le test réalisé, on peut les

considérer comme plus anxieuses que les souris WT (Fournet et al., 2012b), alors que dans d'autres tests, on peut les considérer comme moins anxieuses (Andrieux et al., 2002)

C Défauts neuro-anatomique.

Des altérations de volume et de structures ont été observées chez les souris KO-MAP6.

Deux altérations volumiques importantes ont été observées, à savoir une augmentation importante de la taille des ventricules latéraux (Powell et al., 2007; Deloulme et al., 2015) et une diminution du volume cérébral total (Deloulme et al., 2015; Article 2). L'altération du volume global du cerveau pourrait être expliquée par une diminution de certaines régions corticales et sous corticales, tel qu'une diminution de volume du thalamus et du striatum par exemple (Powell et al., 2007). Comme chez les patients atteints de schizophrénie, la substance grise n'est pas la seule impactée. Des altérations des faisceaux d'axones de la substance blanche ont également été mises en évidence, tel qu'une diminution de la taille du corps calleux et un défaut important du fornix (tract reliant le subiculum et les corps mamillaires), qui est tronqué dans sa partie la plus distale (Deloulme et al., 2015; Article 2). Néanmoins aucune modification de volume de l'hippocampe n'a été observée (Powell et al., 2007; Deloulme et al., 2015; Annexe 1). L'observation de défauts des tracts neuronaux associés à l'implication de MAP6 dans une voie de signalisation sémaphorine, suggèrent l'implication de MAP6 dans le développement de ces tracts.

Au niveau structural, il a été mis en évidence des défauts synaptiques, à savoir une altération de la partie présynaptique des neurones des bulbes et de l'épithélium olfactif (Richard et al., 2009; Benardais et al., 2010) et une diminution de la densité des épines dendritiques qui a été observée au niveau du cortex des souris KO-MAP6 et dans des cultures de neurones d'hippocampe (Bisbal et al en préparation). Ces résultats sont en adéquation avec l'hypothèse précédemment évoquée sur l'implication de MAP6 dans la fonction synaptique.

D Défauts neurophysiologiques.

Les souris KO-MAP6 présentent de fortes modifications de l'activité métabolique cérébrale de base, des systèmes de neurotransmission et des mécanismes de plasticité cérébrale.

Le métabolisme du glucose cérébral des souris KO-MAP6 est significativement augmenté dans certaines régions incluant le cortex olfactif, l'hypothalamus, l'aire tegmentale ventrale (ATV) et la substance noire compacte (Hanaya et al., 2008).

Des altérations importantes des principaux systèmes de neurotransmission sont observées chez les souris KO-MAP6, parmi celles-ci on peut citer une hyperréactivité dopaminergique du système méso-limbique (ATV et Noyaux accumbens) (Brun et al., 2005; Bouvrais-Veret et al., 2008), une hypoglutamatergie hippocampale (Andrieux et al., 2002; Brenner et al., 2007) et un déséquilibre régional des systèmes sérotoninergique et noradrénergique (Fournet et al., 2010, 2012b). Plus précisément, le déséquilibre de ces derniers est présent entre les corps cellulaires monoaminergiques et les zones de projections. Les corps cellulaires présentent, par exemple une augmentation du taux endogène de sérotonine (5-HT) et de noradrénaline (NA), une augmentation de leurs catabolites ainsi que de leurs transporteurs plasmatiques (SERT et NET respectivement) alors qu'ils sont diminués dans toutes les régions de projections (Fournet et al., 2010, 2012b). De plus, le déséquilibre du système sérotoninergique est aggravé par l'exposition des souris KO-MAP6 à un stress léger (Fournet et al., 2012 b).

L'hypoglutamatergie hippocampique peut être expliquée par la diminution du nombre de vésicules synaptiques dans les terminaisons axonales (Andrieux et al., 2002). Ceci peut expliquer la diminution de la plasticité synaptique hippocampique à long terme, à savoir la forte altération des mécanismes de potentialisation et dépression à long terme (LTP et LTD) et la diminution de la potentialisation à court terme (Andrieux et al., 2002, 2006). En lien avec ces altérations, une diminution des taux tissulaires d'ARNm de certaines protéines pré- et post-synaptiques comme la synaptophysine et GAP-43 a été rapportée dans l'hippocampe des souris KO-MAP6 (Eastwood et al., 2007), ce qui concorde avec tous les résultats précédents, montrant une altération importante des synapses chez les souris KO-MAP6. Ces expériences soutiennent le rôle proposé pour les protéines MAP6 dans la plasticité synaptique (Andrieux et al., 2002; Brenner et al., 2007), et pourraient expliquer en partie les altérations cognitives observées chez les souris KO-MAP6.

Malgré l'étroite relation entre le système glutamatergique et GABAergique, ce dernier ne semble pas modifié (Brenner et al., 2007).

D'autres systèmes de neurotransmission sont affectés chez les souris KO-MAP6. Par exemple le système cholinergique, avec une diminution de son transporteur vésiculaire et une

altération d'expression de certains de ses récepteurs dans certaines régions du cerveau antérieurs (Bouvrais-Veret et al., 2007). Un système peptidergique est également altéré, avec une concentration élevée de morphine et des récepteurs opioïdes dans le cortex, l'hippocampe et le cervelet (Charlet et al., 2010).

La neurogénèse olfactive et la neurogénèse adulte hippocampique sont également altérées. Le système olfactif est un réseau neuronal très plastique, les cellules sensorielles des épithéliums olfactifs sont constamment renouvelées (Graziadei and Graziadei, 1979; Calof et al., 1996). Cette neurogénèse olfactive périphérique est altérée chez les souris KO-MAP6, avec des défauts des connections synaptiques par exemple (Benardais et al., 2010).

Pour la neurogénèse adulte hippocampique, les souris KO-MAP6 présentent une diminution de la prolifération des progéniteurs neuronaux ainsi qu'une réduction des neurones néoformés dans le gyrus denté. Alors que, la neurogénèse adulte présente au niveau des ventricules latéraux et des bulbes olfactifs n'est pas altérée chez les souris KO-MAP6 (Fournet et al., 2010). Il est également important de noter le profil d'expression de la protéine MAP6 au cours de la neurogénèse adulte, en effet, elle est exprimée dans les neurones immatures et matures ce qui suggère l'implication de la protéine MAP6 dans la différenciation et l'intégration des nouveaux neurones dans le circuit hippocampique préexistant (Fournet et al., 2010).

Le niveau de CORT plasmatique chez les souris KO est plus élevé que chez les souris WT. Cette concentration supérieure chez les souris KO-MAP6 ne bloque pas l'augmentation de la concentration de CORT induite par l'exposition à un stress léger, tel qu'une injection saline, cette augmentation est cependant de moindre mesure par rapport aux souris WT (Fournet et al., 2012 b).

E Effets de traitements.

a) Effets des antipsychotiques.

Le traitement à long terme des souris KO-MAP6 avec des neuroleptiques (chlorpromazine, haloperidol) et des antipsychotiques atypiques (rispéridone, clozapine) réduit un certain nombre de leurs défauts.

Les deux types antipsychotiques améliorent le comportement maternel, l'hyper réactivité locomotrice, l'apprentissage spatial et les interactions sociales chez les souris KO-MAP6 (Andrieux et al., 2002; Brun et al., 2005). D'un autre côté, un traitement avec les antipsychotiques atypiques restaure la plasticité synaptique à long terme de l'hippocampe et réduit l'anxiété observée chez les souris KO-MAP6 ainsi que de leur hyperactivité (Fradley et al., 2005; Delotterie et al., 2010; Merenlender-Wagner et al., 2010). Comme chez l'Homme, les traitements chroniques avec des antipsychotiques typiques semblent peu efficaces sur les défauts associés aux symptômes négatifs et cognitifs (Bégou et al., 2008) tandis que l'administration d'antipsychotiques atypiques améliore notablement les symptômes négatifs et atténuent les défauts cognitifs des souris KO-MAP6 (Delotterie et al., 2010).

b) Effets des antidépresseurs.

Les souris KO-MAP6 sont hyper-réactives au traitement aiguë de trois types d'antidépresseurs, à savoir la fluoxétine, inhibiteur spécifique des SERT (Transporteur Sélectif pour la Recapture de la Sérotonine), la reboxétine, un inhibiteur sélectif des NET (Transporteur de la Norépinéphrine), et la venlafaxine, un inhibiteur mixte des SERT et NET, (Fournet et al., 2012 b). Il a été suggéré que cette hyperréactivité pouvait s'expliquer par une plus faible compétition entre les antidépresseurs et les taux de sérotonine et de noradrénaline pour la liaison aux SERT et aux NET respectivement (Fournet et al., 2012 b).

Un traitement chronique par la fluoxétine, induit des effets paradoxaux sur les statuts anxieux et dépressifs des souris KO-MAP6 (Fournet et al., 2012 b). Il a été suggéré que ces effets étaient issus du déséquilibre d'expression des SERT, avec un effet majeur au niveau des corps cellulaires monoaminergiques (Fournet et al., 2012 b).

c) Effets d'un nouveau traitement : l'épothilone D.

L'épothilone D est un composé analogue du taxol qui interagit directement avec la tubuline afin de stabiliser les microtubules et qui contrairement au taxol, passe la barrière hémato-encéphalique (Kolman, 2004; Nettles et al., 2004; Wang et al., 2005).

Chez les souris KO-MAP6 un traitement chronique à l'épothilone D améliore les déficits de plasticité synaptique, tel que la LTP et la PTP, augmente le nombre de vésicules des neurones glutamatergiques dans l'hippocampe et améliore les déficits de transport axonal

(Andrieux et al., 2006; Fournet et al., 2012 b; Daoust et al., 2014). Cependant, il n'affecte pas les défauts de LTD et des systèmes dopaminergiques, sérotoninergiques et noradrénergiques (Andrieux et al., 2006; Fournet et al., 2012 b). Certaines altérations associées aux symptômes de la schizophrénie tel que les déficits de maternage et la désorganisation de l'activité spontanée sont améliorés (Andrieux et al., 2006). On peut observer un effet type antidépresseurs dans le test de la nage forcée (utilisé pour évaluer les effets antidépresseurs de traitements), mais aucun effet anxiolytique n'est objectivable (Fournet et al., 2012 b).

Ces résultats suggèrent un rôle important de la régulation des microtubules dans les fonctions cognitives. Ceci est confirmé par l'amélioration de la densité des microtubules et l'intégrité axonale suite au traitement par l'épothilone D, dans un modèle de souris transgéniques pour la maladie d'Alzheimer et les démences fronto-temporales. Un traitement chronique de 3 mois avec des faibles doses d'épothilone D réduit les déficits cognitifs présentés par ces souris sans induire d'effets secondaires (Brunden et al., 2010).

F Conclusion sur la souris KO-MAP6.

L'ensemble de ces études suggère que les souris KO-MAP6 sont un modèle animal pertinent pour l'étude des troubles psychiatriques (Andrieux et al., 2002; Desbonnet et al., 2009). En effet, les souris KO-MAP6 valident les critères d'apparence au travers des altérations récapitulant les différentes dimensions de la schizophrénie et de la dépression. Elles valident le critère de prédiction au travers des améliorations des troubles comportementaux et biologiques par les traitements neuroleptiques. Les résultats d'études génétiques sont en faveur de la validation du critère de construction, en effet il a été trouvé un polymorphisme de MAP6 chez certains patients atteints de schizophrénie (Shimizu et al., 2006) ainsi que des défauts d'expression chez les patients schizophrènes (Choi et al., 2009; Martins-De-Souza et al., 2010).

Plus récemment MAP6 a été relié avec l'autisme, avec une diminution d'expression de la protéine MAP6 dans un modèle animal de l'autisme (Wei et al., 2016).

Les souris KO-MAP6 représentent un modèle animal génétique d'atteintes constitutionnelles récapitulant les différentes dimensions des troubles psychiatriques.

G Souris hétérozygote pour MAP6.

Les souris hétérozygotes pour MAP6 (Het-MAP6) présentent un phénotype comportemental intermédiaire par rapport aux souris KO-MAP6 et aux souris WT. En effet les souris Het-MAP6 présentent des défauts d'interaction sociale, d'apprentissage et de mémoire spatiale ainsi qu'une hyperactivité similaire aux souris KO-MAP6 (Merenlender-Wagner et al., 2010; Volle et al., 2013). Alors qu'elles ne présentent pas de défauts locomoteurs en réponse à un traitement par amphétamine ni de déficit de PPI contrairement aux souris KO-MAP6 (Volle et al., 2013). Un traitement par un antipsychotique améliore l'hyperactivité (Merenlender-Wagner et al., 2010). En résumé, les souris Het-MAP6 ne présentent quelques caractéristiques réminiscentes de la schizophrénie mais de manière réduite en nombre et/ou en intensité. Il a donc été suggéré que les souris Het-MAP6 étaient un modèle animal mimant les individus à risque de développer une schizophrénie (Volle et al., 2013). Ceci est validé par l'exacerbation de leurs troubles du comportement à la suite d'un stress périnatal (Volle et al., 2013).

De plus, le traitement à long-terme des souris Het-MAP6 par un agent neuro-protecteur : le NAP (davunetide), améliore leurs déficits cognitifs et leur hyperactivité locomotrice (Merenlender-Wagner et al., 2010). Ceci est intéressant car le peptide NAP semble tenir son efficacité de l'interaction avec les microtubules (Matsuoka et al., 2008), confirmant l'étroite relation entre les altérations liées aux pathologies psychiatriques et la régulation des microtubules.

Objectifs

La présence de dépressions résistantes et de situation d'urgence nécessitant un traitement rapidement efficace nécessite le recours à l'électroconvulso-thérapie (ECT). L'efficacité de l'ECT est parfaitement reconnue, cependant il existe un risque de rechute dans les 2 à 6 premiers mois suivant l'arrêt de la cure et les bases biologiques responsables des effets bénéfiques de l'ECT sont mal connues. Identifier ces bases permettrait d'améliorer le traitement ECT tant en ce qui concerne son délai d'efficacité et sa tolérance, en particulier au niveau cognitif ainsi qu'à dé-stigmatiser cette thérapie dans la population générale, chez les patients et leur famille ainsi que chez nombre de soignants.

Des études chez les rongeurs ont été entreprises pour tenter d'identifier les bases moléculaires des effets des ECTs avec l'utilisation de stimulations électroconvulsives (ECS). Cependant un nombre réduit d'études ont utilisées des modèles animaux des pathologies psychiatriques. Généralement les modèles animaux utilisés ont été générés par l'induction de troubles transitoires et focaux associés à la dépression, permettant d'étudier un seul aspect de la pathologie. De manière globale l'ensemble des résultats obtenus chez les rongeurs reste controversés, même si de plus en plus d'évidences impliquent la neurogénèse adulte dans les effets des traitements antidépresseurs, dont l'ECT. A ce jour, aucune étude chez les rongeurs n'a pu mettre en relation le déroulement temporel des effets biologiques et des effets comportementaux des ECS, chez un modèle animal de troubles psychiatriques constitutifs, exprimant un ensemble d'altérations associées à la pathologie.

Au cours des 10 dernières années, les souris déficientes pour la protéine MAP6 (KO-MAP6) ont été validées comme modèle animal pour l'étude des troubles psychiatriques. Il a été démontré par le laboratoire et d'autres équipes, que les souris KO-MAP6 possèdent un phénotype reproduisant un certain nombre de symptômes positifs, négatifs et thymiques, ainsi que les déficits cognitifs couramment observés chez les patients atteints de schizophrénie. Certains de ces troubles comportementaux sont corrigés par les neuroleptiques et les antidépresseurs. De plus, les troubles comportementaux sont associés à des altérations biologiques réminiscentes des pathologies psychiatriques comme une plasticité synaptique anormale, une réduction du volume cérébral et des tracts cognitifs comme le fornix ou encore des anomalies de neurotransmission (glutamate, dopamine et sérotonine).

C'est dans ce contexte que s'est inscrit mon travail de thèse qui a eu pour but d'identifier les effets biologiques d'une cure d'ECS sous-tendant leurs effets antidépresseurs, en utilisant un modèle animal qui récapitule certains troubles comportementaux et biologiques associés aux pathologies psychiatriques : les souris KO-MAP6.

Résultats

Article 1

Résumé de l'article: “ **Electro Convulsive Seizures (ECS) increases the rate of new-born neurons survival concomitantly with behavioral normalization in a mouse model for depression** ”

par **Jonckheere Julie**, Dall'Igna Gaelle, Deloulme Jean-Christophe, Lentini Celia, Roland Marta, Brocard Jacques, Bruguère Sabine, Chauillac Nicolas, Couté Yohann, Porcher Christophe, Denarier Eric, Lanté Fabien, Heinrich Christophe, Holtzmann Jerome, Suaud-Chagny Marie-Francoise et Andrieux Annie et Sylvie Gory-Fauré. Article en préparation

L'épisode dépressif majeur constitue un problème de santé publique important. Dans ce type de pathologie, l'électroconvulsivothérapie (ECT) est une réponse thérapeutique reconnue comme efficace face à la résistance et au délai d'action des agents pharmacologiques. Si la grande efficacité des ECT est incontestée, la méconnaissance de ses effets biologiques contribue à la discréditer et reste un frein à son amélioration. L'étude chez l'animal pourrait lever certains verrous scientifiques et permettre d'identifier les mécanismes biologiques impliqués dans les effets de l'ECT, avec pour finalité de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques. Pour cela, des modèles rongeurs ont été utilisés, qui par analogie à l'ECT utilisé chez l'Homme consiste à l'induction de crise convulsives tonico-cloniques généralisées provoquées par des stimulations électroconvulsives (ECS). A ce jour, à notre connaissance, aucune étude chez les rongeurs n'a pas pu mettre en relation directe le déroulement temporel des effets biologiques avec le déroulement temporel des effets comportementaux des ECS, chez un modèle de dépression.

C'est dans ce contexte que nous avons débuté l'étude des effets biologiques et comportementaux des ECS chez un modèle génétique des pathologies psychiatriques, les souris KO-MAP6. Ces animaux présentent des altérations comportementales et biologiques assimilées aux symptômes de la dépression. En effet, ces souris présentent au niveau comportemental, un retrait social, une anhédonie, des troubles cognitifs et au niveau biologique, une diminution de la neurogénèse adulte, une altération de la plasticité synaptique et des altérations des neurotransmissions monoaminergiques et glutamatergiques.

Nous avons montré que l'administration d'une cure d'ECS améliorerait les troubles comportementaux des souris KO-MAP6 dans les tests de nage forcée (FST), de l'interaction sociale (IS) et de « novelty suppressed feeding » (NSF). Ces effets sur le comportement sont observables avec une cinétique différente en fonction du test : l'amélioration pour le FST est très ponctuelle, en fin de cure, contrairement au NSF qui perdure 18 jours après la fin du

traitement. Ces premiers résultats nous permettent de valider les souris KO MAP6 comme modèle d'étude de l'effet des ECS.

Pour identifier de nouvelles pistes moléculaires responsables des effets bénéfiques des ECS ainsi qu'une possible piste sur les origines moléculaires de l'induction de la neurogénèse adulte par les ECS, nous avons réalisé une analyse des protéines pouvant être modifiées suite à ce traitement. Des modifications du taux de protéines entre les souris KO MAP6 traitées ECS par rapport aux souris traitées sham ont été observés, cependant ces variations sont trop faibles pour être considérées comme réellement dû au traitement.

Plusieurs études chez les rongeurs ont déjà mis en évidence un effet des ECS sur la prolifération des précurseurs neuronaux dans l'hippocampe. Nous avons étudié l'effet des ECS sur les différentes étapes de la neurogénèse. Dans cette étude, nous avons observé que le traitement ECS stimule toutes les étapes de la neurogénèse adulte et notamment le taux d'intégration des nouveaux neurones. A notre connaissance, c'est la première fois qu'il est montré qu'une cure d'ECS favorise cette étape. Lors que l'on analyse en parallèle les effets comportementaux, nous observons toujours une différence significative du nombre de nouveaux neurones intégrés 40 jours après la fin de la cure (J40) alors que les améliorations comportementales sont déjà toutes abolies. Cependant, le nombre de neurones encore présent à J40 est faible, ainsi le taux de neurones n'est probablement plus suffisant pour maintenir l'amélioration comportementale, expliquant la perte des effets comportementaux à J40. De plus, nous avons observé que l'arborisation des neurones néoformés est plus complexe suite aux ECS, traduisant probablement une meilleure connectivité avec le réseau environnant. Ceci pouvant être le mécanisme responsable de l'augmentation de la survie des nouveaux neurones par le traitement ECS. Enfin, nous n'observons pas de restauration de la plasticité synaptique (LTP et PTP) des souris KO MAP6 3 jours après la fin du traitement ECS, alors qu'une augmentation de la densité synaptique corticale et une augmentation de l'expression hippocampal du BDNF sont observées.

Electro Convulsive Seizures (ECS) increases the rate of new-born neurons survival concomitantly with behavioral normalization in a mouse model for depression

Jonckheere Julie^{1,2}, Dall'Igna Gaelle^{1,2}, Deloulme Jean-Christophe^{1,2}, Lentini Celia^{1,2}, Roland Marta^{1,2}, Brocard Jacques^{1,2}, Brugière Sabine^{2,3}, Chauliac Nicolas^{1,2}, Couté Yohann^{2,3}, Porcher Christophe^{4,5}, Denarier Eric^{1,2,3}, Lanté Fabien^{1,2}, Heinrich Christophe^{1,2}, Holtzmann Jerome^{1,2}, Suaud-Chagny Marie-Françoise^{6,7,†}, Andrieux Annie^{1,2,3,†} and Gory-Fauré Sylvie^{1,2}

¹ INSERM, U1216, F38000 Grenoble, France

² Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institute Neurosciences, F-38000 Grenoble, France

³ CEA, BIG, F-38000 Grenoble, France

⁴ INSERM U901, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, Parc Scientifique de Luminy, 13273 Marseille, France

⁵ Univ. Aix-Marseille, Département de biologie, Parc Scientifique de Luminy, 13273 Marseille, France

⁶ INSERM U1028, CNRS UMR5292, Université Lyon 1, Lyon Neuroscience Research Center PSYR2 Team, Lyon, F-69000, France.

⁷ PSYR2 Team, Centre Hospitalier Le Vinatier, Université Claude Bernard Lyon 1, F-69000, Bron, France

[†] Equal contribution to the study

*Correspondence: SGF (sylvie.gory-faure@univ-grenoble-alpes.fr) and A.A. (annie.andrieux@univ-grenoble-alpes.fr)

Summary

Major depression is one of the most common psychiatric disorders affecting every year 120 million people worldwide. The presence of drug-resistant depression and life-threatening situations requires the use of Electro Convulsive Therapy (ECT) - a non-drug therapy. ECT is a very powerful treatment but the neurobiological mechanisms underlining its curative action are not fully elucidated with several hypotheses including possible anticonvulsant, neuroendocrine and/or neurotrophic beneficial effects. As a direct access of specific markers in human is not easy, the animal counterpart of ECT, the electro convulsive stimulations (ECS) has been developed. To date, current results arising from ECS studies in animals remain not fully conclusive because mainly data have been obtained with unchallenged/naive animals. Here we have analysed the consequences of ECS treatment on MAP6 KO mice (also known as STOP KO mice) an animal model that constitutively exhibit behavioural and biological features relevant to some aspects of major depressive disorder. We found that ECS treatment has an overall beneficial effect on several constitutive behavioural defects, displayed by MAP6 KO mice, with variable lasting times. At biological levels, ECS treatment did not induce detectable modification of brain proteins expression pattern, but induced an overall increase of hippocampal neurogenesis. Indeed ECS treatment strongly stimulated the proliferation of neuronal progenitors and the rate of new born neurons survival. The better survival correlated with an enhanced neuronal maturation, i.e. increased dendritic complexity and dendritic spines density, which favour the integration rate in the pre-existing network. Remarkably the time course of enhanced integration rate of hippocampal new-born neurons paralleled the time course of some but not all behavior alleviation. Also, we found that ECS enhanced neuronal dendritic spines density in cortical neurons and promoted enhanced levels of the trophic factor, BDNF in the hippocampus.

In summary this study provide evidence that ECS treatment, when applied to MAP6 KO mice, induced major neuronal plasticity events, the stronger being the increased integration of hippocampal new-born neurons. We can thus propose that the beneficial effect of ECS act a several levels on neuronal plasticity with an increase of neuronal progenitor proliferation, an enhanced integration rate of functional new-born neurons in the hippocampus and an increase neuronal plasticity with more dendritic spines.

Introduction

Major depression is the most common of the psychiatric disorders affecting every year 120 million people worldwide. Even if pharmaceutical agents are successfully used in the treatment of depression, they exert their mood-elevating effects only after prolonged administration. The latency of antidepressant action is a problem in the treatment of major depression in terms of suicide risk and disability. Furthermore, only about 30% of patients show full remission and about 30% of depressives fail to respond to antidepressants. The presence of drug-resistant depression and situations thought to be life-threatening have necessitated the revival of ElectroConvulsive Therapy (ECT) - a non-drug therapy. Today, if ECT retains an important place in clinical practice as a highly effective and rapid alternative treatment, it is still practically regarded as the last resort and its dissemination appears limited. One of the major reasons may be that neurobiological mechanisms triggered by ECT are not fully elucidated. Deciphering the biological effects of ECT may be a key element to reinforce public information and to destigmatize this treatment.

Because ECT requires repeated induction of electroconvulsive seizures, adaptive changes in the brain and regulation of gene expression, are likely to be the fundamental basis on which ECT acts. Current theories of ECT, anticonvulsant, neuroendocrine and neurotrophic theories, (Bolwig, 2011) are weakened by the lack of direct access of specific markers in human and thus mainly supported by results from research on electroconvulsive stimulations (ECS), the animal counterpart of ECT (Bolwig, 2011). However, the current results remain inconclusive because mainly animal data are based on unchallenged animals. Indeed, the use of “naive” animals present several drawbacks as the biological effects induced by ECS might not be primarily considered as underlying disease relief and are not time correlated with behavioural improvements. To note, some studies have analysed the effect of ECS on animal models developed to assess antidepressant activity using acutely-induced behavioural deficits (Jiménez Vasquez et al., 2000; Sartorius et al., 2007) or animal model developed for studying stress and anxiety such as CORT- or Learned Helplessness rat models (Gregus et al., 2005; Murray et al., 2008; Duman, 2010). Altogether the literature screen clearly indicates that studies using animal models that exhibit some behavioural and biological hallmark characteristics of depression are still crucially needed. In this context, we have developed a translational approach with MAP6 KO mice (also known as STOP KO mice) that constitutively exhibit behavioural and biological features relevant to some aspects of major depressive disorder. Indeed MAP6 KO mice exhibit several behavioural and biological

defects reminiscent of some hallmark characteristics of depression including social withdrawal (Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Volle et al., 2013), anhedonia (Fournet et al., 2012), reduced motivation (Fournet et al., 2010). At the biological level, the defects include diminished neurogenesis (Fournet et al., 2010), impaired synaptic plasticity in the hippocampus (Andrieux et al., 2002; Delotterie et al., 2010), abnormal excitatory and monoaminergic transmissions (Andrieux et al., 2002; Brun et al., 2005; Fournet et al., 2010, 2012).

The neurotrophic theory of ECT/ECS is based on the facts that ECT/ECS stimulates hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and growth factor expression (Madsen et al., 2000; Malberg et al., 2000; Newton et al., 2003; Segi-Nishida et al., 2008; Schloesser et al., 2015). Concerning neurogenesis, evidence currently available clearly indicates that repeated ECS increase hippocampal progenitor proliferation (Madsen et al., 2000; Malberg et al., 2000; Perera et al., 2007; Segi-Nishida et al., 2008) but the demonstration that these new progenitors fully develop into functional neurons and account for behavioural improvement was lacking. In the present study, we showed that an ECS treatment, scheduled to mimic the clinical setting of ECT in human, results in an increased number of newborn hippocampal neurons which integrated the pre-existing network. Moreover, we show that the time course of new neurons survival parallel some but not all behavioural changes. We also provide evidence that ECS treatment increases dendritic spine density of cortical neurons and promotes BDNF expression in the hippocampus. In conclusion, this study provide evidence that ECS treatment when applied to MAP6 KO mice induce major plasticity events, the strongest being the increased number of hippocampal new-born neurons integrated in the pre-existing network.

Experimental Procedures

Animals

The homogeneous inbred C57BL6/129SvPas-F1 mice were obtained by crossing heterozygote 129SvPas MAP6 with heterozygote C57Bl6 MAP6 mice. Th1-eYFP line H mice ([Feng et al., 2000](#)) were obtained from Jackson Labs (B6.Cg-Tgn(Thy-YFP-H)2Jrs) and cross with heterozygote C57Bl6 MAP6 mice to generate Thy1-eYFP MAP6 mouse colony. These mice were then crossed with heterozygote 129SvPas MAP6 to generate WT/ and KO/Thy1-eYFP-H littermate mice in homogeneous inbred C57Bl6/129 SvPas-F1. Male mice were used between 3-4 months old. In accordance with the policy of the Institute des Neurosciences of Grenoble (GIN) and the French legislation, experiments were done in compliance with the European Community Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC). The research involving animals has been authorized by the ethics committee of GIN n°004 accredited by the French Ministry for of Research.

Electroconvulsive Seizures (ECS)

ECS treatment consisted of 10 ECS sessions across a 12 day period (D1-5 and D8-12) delivered with an Ugo Basile generator (model 57800). Mice were anesthetized using isoflurane prior to ECS sessions. Stimulation parameters (frequency 120Hz, pulse width 0.5 ms, total shock duration 2 ms, current 20mA) were set on the basis of a preliminary study in order to trigger seizures lasting more than 10s. Sham treated animals were handled similarly but no current was delivered.

Behavioural

Social Interaction Test

Home-cage social interaction was assessed as the duration of sniffing investigation displayed by a resident mouse in response to the presentation of an anaesthetized intruder mouse. Social interaction test was performed during 3 minutes period essentially as described ([Volle et al., 2013](#)). In this test, WT and MAP6 KO male mice, used as residents, were individually housed for two days before testing to permit establishment of a home-cage territory. WT male mice, used as intruders, were unfamiliar with mice used as residents. Intruder mice were deeply anaesthetized by an i.p. injection of pentobarbital (120mg/kg) at least 10 min prior to the experiment. Intruder was placed at the centre of each resident home cage (L20 x 110 x h13 cm), and the exploration activity of the resident was immediately video-recorded. The exploration activity of the resident, measured as the time the resident spent sniffing the intruder animal, was manually counted from video recordings. Sniffing was defined as

olfactory exploration and close contact (<1 cm) between the resident nose or vibrissae and the body of the intruder.

Novelty suppressed feeding test (NSF)

The NSF test is conflict anxiety-based test where the motivation to eat competes with fear of a brightly lit area. The NSF test was performed during a 15 min period as previously described (David et al., 2009; Santarelli et al., 2003). Briefly, 20 h prior to the test, food was removed from the home cage and for the test a single food pellet was placed on a white paper platform brightly lit (370 lux) in the centre of a plastic box (L37 x 157 x h20 cm) with the floor covered with approximately 2 cm of bedding. The animal was placed in a corner of the box and the latency to eat was recorded.

Forced swimming Test

The forced swimming test, adapted from Porsolt et al 1979, was performed in a vertical glass cylinder (h=30cm; d=15cm) containing 20 cm of water maintained at 24 \pm 1°C. The total duration of immobility and climbing were recorded for 6 min. An animal was judged to be immobile when it remained floating passively, performing only slow motion to keep its head above water. Climbing was defined by upward directed movements of the forepaws along the side of the container.

Mass spectrometry analysis

Total brain or hippocampus were lysed in RIPA buffer (50 mM Tris-HCl (pH 7.5), 150 mM NaCl, 2 mM EDTA, 10 mM MgCl₂, 1% NP40, 0.5% Na Deoxycholate, 0.1% SDS). 3 volumes of protein sample were mixed with 1 volume of Laemmli 4X buffer and heated 5 min at 95°C. Proteins were stacked in the top of a NuPAGE gel in a stacking band (Life Technologies) before in-gel digestion with trypsin, as described in (Milbradt et al., 2014). Peptides were analysed by online nanoLC-MS/MS (UltiMate 3000 coupled to LTQ-Orbitrap Velos Pro, Thermo Scientific) using a 120-min gradient (method: 120min_non-linear_AMH). MS and MS/MS data were acquired using Xcalibur software. Spray voltage was set at 1.4 kV; heated capillary was adjusted to 200°C. Survey full-scan MS spectra (m/z=400–1600) were acquired in the Orbitrap with a resolution of 60,000 after accumulation of 10⁶ ions (maximum filling time 500 ms). The 20 most intense ions from the preview survey scan delivered by the Orbitrap were fragmented by collision-induced dissociation (collision energy 35%) in the linear trap quadrupole (LTQ) after accumulation of 10⁴ ions (maximum filling time 100 ms). Peptides and proteins were identified and quantified using MaxQuant (version 1.5.2.8) (Cox and Mann, 2008) through concomitant searches against Uniprot (*Mus musculus* taxonomy, 20151221 version) and the frequently observed contaminant database embedded in

MaxQuant. Trypsin was chosen as the enzyme and 2 missed cleavages were allowed. Precursor mass error tolerances were set respectively at 20 ppm and 4.5 ppm for first and main searches. Fragment mass error tolerance was set to 0.5 Da. Minimum peptide length was set to 7 amino acids. Minimum number of peptides, razor + unique peptides and unique peptides were all set to 1. LFQ and iBAQ values were calculated from MS intensities of “unique” peptides. For statistical analyses, protein LFQ intensities (Cox and Mann, 2008) were compared between conditions, two conditions at a time (ECS and SHAM). For each comparison, only proteins exhibiting 6 LFQ values for at least one condition were considered. The following steps were performed using the Perseus toolbox (version 1.5.2.6) available in the MaxQuant environment. Data were filtered and reverse proteins and contaminants were eliminated. After log₂ transformation of LFQ values and missing data imputation (replacing missing values from normal distribution as described in (Deeb et al., 2012), protein expression differences were tested using t-testing (Welch t-test) with a permutation-based false discovery rate (FDR) to correct for multiple hypothesis testing (FDR threshold value set to 0.05).

BrdU and EdU staining

For the study of cell proliferation mice were injected with 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) or 5-Ethynyl- deoxyuridine (EdU) (100mg/kg), at D3 post treatment (2 injections separated by 6 h) and at D4 (1 injection). Mice were sacrificed 2 h after the last BrdU/EdU injection.

For the study of cell survival, mice were injected with BrdU/EdU (50mg/kg) once a day for 4 days, 2 weeks before the beginning of ECS treatment and were sacrificed at day 3 post treatment. After anaesthesia with pentobarbital (360mg/kg), mice were perfused transcardially with 4% paraformaldehyde. Brains were post-fixed for 10h, cryoprotected in 15% sucrose, 30% sucrose, sliced in coronal free-floating sections (30µm). Brain slices were stored in PBS with 0.01% NaN₃ for BrdU, and in PBS with 0.01% Thimerosal for EdU. For BrdU immunohistochemistry staining, endogenous peroxidase activity was blocked using 1% hydrogen peroxide for 10 min at room temperature. Free-floating sections were then washed, blocked and permeabilized 2h (with PBS 0.1% Tween 20 0.5% Triton X100 and 5% of normal goat serum) and subjected to antigen retrieval (1h of 2N HCl solution at 37°C) and neutralized with two Borate (0.1 M) washes. Sections were incubated overnight at 4°C with primary antibody for BrdU (1:8000 dilution of rat AbC117-7513 from Abcys). After washing with PBS 0.1% Tween 20, sections were incubated for 1h with biotinylated donkey anti-rat secondary antibody (1:1000; 712-065-153 form Jackson Laboratories). Signal amplification was performed using a Vectastain Elite Avidin-Biotin kit (Vector Laboratories PK6100) for 1

h and visualization was done using diaminobenzidine (Fast Methal enhancer from Sigma D0426) for 7 min. For EdU staining, free-floating sections were washed and permeabilized 1h30 (with PBS 0.1% Tween 20 0.5% Triton X100). EdU labeled cells were visualized by 15 min click reaction (5% Tris 2M pH7, 80.95% H₂O, 4% CuSO₄ 100mM, 0.05% Cyanine 3 Azide 1mM, 10% Ascorbic acid 1M) and washed 3 times (with PBS 0.3% Triton X100).

BrdU or EdU labeled nuclei were counted (using Zeiss axioskop) within dentate gyrus every 4 sections through the rostro-caudal extent of the hippocampus.

DCX immunolabelling

DCX immunocytochemistry staining was done on free-floating sections from brains used for the survival study. First, endogenous peroxidase activity was blocked using 1% hydrogen peroxide for 10 min at room temperature. Free-floating sections were then washed and blocked (with PBS 0.1% Tween 20 0.5% Triton X100 and 5% of normal goat serum). Sections were incubated overnight at 4°C with primary antibody for DCX (guinea-pig at 1:10000; AB2253 Millipore). After washing with PBS 0.1% Tween 20, sections were incubated for 1h with biotinylated donkey anti-guinea-pig secondary antibody (1:1000; BA-7000 Vector). Signal amplification was performed using a Vectastain Elite Avidin-Biotin kit (Vector Laboratories PK6100) for 1 h and visualization was done using diaminobenzidine (Fast Methal enhancer from Sigma D0426) for 5 min.

DCX labeled cells were counted (using Zeiss axioskop) within dentate gyrus on 8 sections through the rostro-caudal extent of the hippocampus (4 slices for each part of the hippocampus: the dorsal and the ventral).

Virus experiments

Virus injection

The retroviral vector (pCAG-IRES-GFP) was produced in the lab of Dr. Christophe Heinrich. The concentrated viral solution (10⁸ pfu/ml) was prepared with human embryonic kidney 293T as a package cell line and collected through ultra-speed centrifugation. The virus solution was delivered to the dentate gyrus of the mouse hippocampus through stereotaxic surgery. Mice were anesthetized with Chloral Hydrate solution (400 mg/kg). Mice received a total volume of 500 nl of the vector preparation, administered at a rate of 0.4 µl/min. The injection site for adult mice was determined by previous work in the lab, by using the position of the bregma as reference: anteroposterior: -2,1 mm; lateral: +/-1,42 mm; ventral: -1,9 mm (from skull). The virus was injected 4 weeks before the end of the ECS treatment.

GFP immunolabeling

For GFP signal, a GFP immunolabeling was performed. Mice were sacrificed at day 3 post ECS treatment. After anaesthesia with pentobarbital (360mg/kg), mice were perfused transcardially with 4% paraformaldehyde. Brains were post-fixed for 10h, cryoprotected in 15% sucrose, 30% sucrose, sliced in coronal free-floating sections (45µm). Free-floating sections were blocked and permeabilized 1h (with PBS 0.1% Tween 20 0.5% Triton X100 and 5% of normal goat serum). Sections were then incubated overnight at 4°C with primary antibody rabbit anti-GFP (1:1000 dilution of 1122 from invitrogen). After washing with PBS 0.1% Tween 20, sections were incubated for 1h with secondary antibody anti-rabbit HRP-coupled (1:1000; Jackson Laboratories).

Sholl Analysis

Neuron Image stacks were acquired on a Zeiss LSM 510 confocal microscope using an X20 objective. Image stacks were enhanced with a DoG filter and segmented. Single neuron was recovered using the “Find connected region” plugin from Fiji software (Schindelin et al., 2012). The resulting stack was used for Sholl analysis (Ferreira et al., 2014) with a starting radius and step size of 5µm.

Spines analysis

Stacks of serial optical sections were produced for each neuron (using x63 objective) and NeuronStudio software (0.9.92 version) was then used to generate 3D reconstructions of dendritic arbors and spines allowing to measure spines density (Rodriguez et al., 2006, 2008). Images were realized on the distal part of the dendritic arbors of the new-born neurons labelled with GFP.

Dendritic spine quantification

Spine analysis was performed with MAP6 KO Thy1-eYFP-H mouse line (Porrero et al., 2010) in the motor cortex. In this area some neurons express YFP transgene allowing the detection of spines of individual neuron.. Stacks of serial optical sections were produced for each neuron and NeuronStudio software (0.9.92 version) was then used to generate 3D reconstructions of dendritic arborization and spines allowing to measure spines density (Rodriguez et al., 2006, 2008). For each mouse, 6 or more dendritic segments were used for quantification.

BDNF dosage

Mice were killed by cervical dislocation, 3 or 4 days after the last ECS and bilateral hippocampi were rapidly dissected on ice, placed in Eppendorf tube, frozen in liquid nitrogen and stored at – 80°C.

For real-time qRT-PCR, RNA was isolated and quantified by reading the absorbance at 260 nm (NanoPhotometer, IMPLEN) using Mini RNeasy kit (Qiagen), then converted to cDNA using 1 µg RNA and a QuantiTect Reverse Transcription kit (Qiagen) according to manufacturer's instructions. PCR was carried out with the LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche Applied Science) with 1 µL cDNA using the following oligonucleotides (QuantiTect Primer Assays, Qiagen): BDNF (QT00375998) and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH, QT001199633). Quantitative RT-PCR was performed with a Roche LC480 Light Cycler (Roche Applied Science) following the manufacturer's instructions. Relative mRNA values were calculated using the LC480 software and GAPDH as the housekeeping gene. PCR was performed in replicate of 3. The results are expressed as means ± standard error of mean.

BDNF proteins were analyzed by Elisa Kit (BDNF E_{max} ImmunoAssay System from Promega G7610) from brain homogenate according to manufactory instruction. Each well of 96-well polystyrene plate (Immulon 4 HBX from Thermo scientific Labsystems) was incubated without shaking overnight at 4 °C with 100µL anti-BDNF monoclonal antibody (mAb) diluted 1:1000 in carbonate coating buffer (25 mM sodium bicarbonate and 25 mM sodium carbonate, pH 9.7). Unadsorbed mAb was removed and plates were washed once with TBST wash buffer (20 mM Tris-HCl (pH 7.6), 150 mM NaCl and 0.05% Tween 20). Plates were blocked using 200 µL Promega 1X Block and Sample buffer followed by incubation for 1 h at room temperature. During blocking step, frozen hippocampi were lysed in lysis buffer according to (Szapacs et al., 2004) (100 mM PIPES (pH 7), 500 mM NaCl, 0.2% Triton X-100, 0.1% NaN₃, 2% BSA, 2 mM EDTA Na₂ 2H₂O, one cOComplete tablet (from Roche 04 693 159 001) for 10 ml of lysis buffer). After 40 s in freezing water, samples were centrifuged for 15 min at 17000g at 4°C. Supernatants were then incubated with HCl 1N for 15 min, then neutralized by adding 1N NaOH, and pH was confirmed to be ~7.6. Plates were then washed using TBST wash buffer. 100µL of each sample (diluted 1/3) or standard (1000, 750, 500, 400, 300, 200, 100, 0 pg/mL) were added in triplicate to the plates and were incubated for 2 h with shaking (~600 rpm) at room temperature. Plates were then washed five times with TBST wash buffer. Antihuman BDNF polyclonal antibody (pAb) (100µL diluted 1:500 in 1X Block and Sample) was added to each well. Plates were incubated for 2 h with shaking (~600 rpm) at room temperature, then washed again five times using TBST wash buffer. Anti-IgY horseradish peroxidase conjugate (100µL diluted 1:200 in 1X Block and Sample) was then added to each well and plates were incubated for 1 h with shaking (~600 rpm) at room temperature. Plates were emptied again and washed using TBST wash buffer.

Finally, plates were developed using 100 μ L Promega TMB One Solution and the reaction was stopped using 100 μ L 1 N HCl. Absorbance was measured at 450 nm. BDNF levels were normalized to total protein content measured by BCA test (PierceTM BCA Protein Assay Kit from Thermo scientific #23227).

Electrophysiological measurements

Hippocampal slices were prepared as described in (Lanté et al., 2015). Briefly slices (400 μ m) were cut in ice-cold oxygenated (95% O₂ / 5% CO₂) solution containing (in mM): sucrose 234, KCl 2.5, NaH₂PO₄ 1.25, MgSO₄ 10, CaCl₂ 0.5, NaHCO₃ 26, glucose 11 (pH 7.4). For recovery, slices were then incubated for 1 hour in warm (37 \pm 1 $^{\circ}$ C) oxygenated standard artificial cerebrospinal fluid (ACSF) containing (in mM): NaCl 119, KCl 2.5, NaH₂PO₄ 1.25, MgSO₄ 1.3, CaCl₂ 2.5, NaHCO₃ 26, glucose 11 and then stored at room temperature. Slices were visualized in a chamber on an upright microscope (Slicescope, Scientifica Ltd) and were perfused with the oxygenated ACSF at 30 \pm 1 $^{\circ}$ C. Field excitatory post-synaptic potentials (fEPSPs) were recorded in the stratum radiatum of the CA1 region and stimuli delivered to the Schaeffer Collateral Pathway by a bipolar electrode. For LTP analysis, the first third of the fEPSP slope was calculated in baseline condition (15 minutes prior to induction protocol delivery and for 45-60 minutes post-induction). The average baseline value was normalized to 100% and all values of the experiment were normalized to this baseline average (one minute bins). LTP was induced using a high frequency stimulation protocol: 2*100Hz (2*100 pulses for 1 s each, separated by 20s). Experiments were pooled per condition and presented as mean \pm s.e.m. Signals were amplified with an EPC 10 Amplifier Patchmaster Multi-channel (HEKA Elektronik Dr. Schulze GmbH, Wiesenstrasse, Germany). For PTP, the first 30 seconds (15 s bins) after the induction protocol were used for statistical analysis.

Statistic analysis

Statistics were performed using the Prism 5.0 software (GraphPad Software) or XLSTAT 2016 using tests as indicated in each figure.

Results

MAP6 KO mice exhibit several behavioural and biological defects reminiscent of some hallmark characteristics of depression including social withdrawal (Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Volle et al., 2013), anhedonia (Fournet et al., 2012), reduced motivation (Fournet et al., 2010). At the biological level, the defects include diminished neurotrophic markers, impaired excitatory and monoaminergic transmissions (Andrieux et al., 2002; Brun et al., 2005; Fournet et al., 2010, 2012). In this study, an ECS treatment consisting in 10 sessions over 2 weeks was applied to MAP6 KO mice and the consequence of the treatment was assayed on several behavioural, anatomical and physiological parameters.

ECS treatment improves the depressive/anxiety-like status of MAP6 KO mice

MAP6 KO mice has been shown to exhibit strong social withdrawal in the resident intruder test under various paradigms (Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Volle et al., 2013). In this study, social interaction was defined as the sniffing investigation time displayed by the resident mouse in response to the presentation of an anaesthetized intruder mouse. MAP6 KO mice exhibited strong deficits as compared to WT mice (Figure 1A) with an exploration time of 73.4 ± 5.8 s as compared to 105.7 ± 8.3 s for WT mice. For both genotypes, the overall investigation time is higher as compared to previously published values (Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010; Volle et al., 2013), the difference is most probably due to specific experimental conditions and exacerbated by the actual enriched housing conditions.

We next evaluated the effect of ECS on this social ability, on MAP6 KO as compared to WT mice. At D3 after the end of ECS treatment, the time spent by MAP6 KO resident mice to investigate the intruders was similar to the investigation time spent by WT mice (Figure 1B) indicating an alleviation of MAP6 KO mice deficits. We further analysed the behavioural improvement over time and found that at D9 after the end of the treatment, MAP6 KO mice were still behaving as WT mice. In contrast at D21 and D30, after the end of the treatment, the time spent, by MAP6 KO mice, at intruder investigation was significantly reduced, as compared to WT mice (Figure 1B, 35.7 ± 5.2 s versus 71.2 ± 7.9 s and 41 ± 4.8 s versus 78.3 ± 8.9 s, respectively). Thus, ECS treatment was able to alleviate social withdrawal of MAP6 KO mice and the positive effect of ECS lasted for at least 9 days following the end of the treatment.

We next monitored the depressive/anxiety-like status of MAP6 KO mice using the novelty suppressed feeding test (NSF) where the mice motivation to eat is competing with the aversive signal carried by a very bright illumination. The latency to eat was measured and

MAP6 KO mice displayed a significant higher latency to eat with 235.1 ± 19 s as compared to 171.1 ± 14.5 s for WT mice (Figure 1C). For further evaluation of ECS efficacy we used only MAP6 KO mice either treated by the ECS protocol or by a sham protocol. In these conditions, we found that the ECS treatment significantly reduced by 45.3%, 69.9% and 68.2% the latency time as compared to sham treatment when measured at D4, D10 and D17 after the end of the treatment, respectively (Figure 1D). When the test was performed at D28 and D33 after the end of the treatment, the latency time to eat for ECS-treated MAP6 KO mice was no longer significantly different from the time exhibited by sham-treated MAP6 KO mice (Figure 1D). Thus, ECS treatment was able to alleviate the depressive/anxiety-like state of MAP6 KO mice and the positive effect of ECS lasted for at least 17 days following the end of the treatment.

Finally, we analysed the effect of ECS treatment on the despair behaviour of MAP6 KO mice, using the forced swimming test, a standardized paradigm for the assessment of despair behaviour, which analyse immobility scores in inescapable aversive situation. In the forced swimming test, MAP6 KO mice have been shown to display an increased immobility time and a decreased number of climbing as compared to WT mice (Fournet et al., 2012a; Fournet et al., 2012b). Here, MAP6 KO mice were either ECS or sham treated (Figure 1E-F). At D1 after the end of the treatment, ECS-treated mice displayed a lower despair behavior characterized by a 34.3 % reduction of immobility time and a 78.6 % increase in number of climbing attempts (Figure 1E) as compared to sham-treated mice. The beneficial effect of ECS treatment on the despair behavior was not longer visible at D8 (Figure 1F).

Altogether this battery of behavioural tests clearly demonstrates a beneficial effect of ECS treatment on several constitutive behavioural defects displayed by MAP6 KO mice. Remarkably, the behavioural relapse occurred at different time points depending on the behaviour considered.

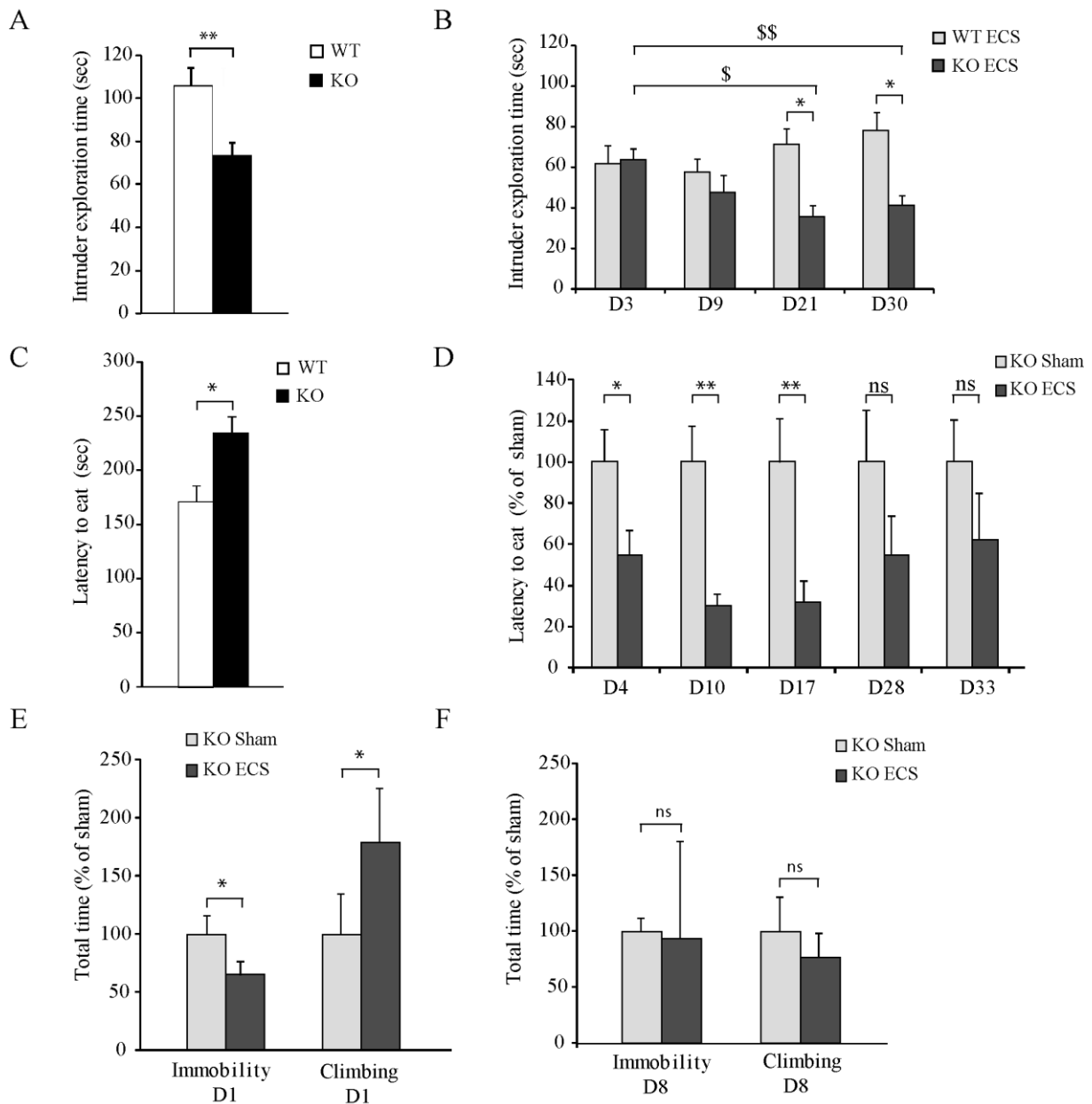


Figure 1: Behavioral effects of ECS treatment

(A) MAP6 KO mice exhibit a social withdrawal in the resident-intruder test, with reduced time spent at investigating an anesthetized intruder. (means \pm s.e.m.) WT n= 7; MAP6 KO n=9. Mann-Whitney test: ** p < 0.01

(B) Repeated ECS treatment rescued social interaction of MAP6 KO mice. The time spent by the resident sniffing the intruder was quantified 3 days (D3), 9 days (D9), 21 days (D21) and 30 days (D30) after the end of ECS-treatment in WT and KO mice (means \pm s.e.m.). D3: n=6 for WT and n=13 for KO; D9: n=8 for WT and n=13 for KO; D21: n= 8 for WT and n=12 for KO; D30: n=15 for WT and n=11 for KO. Mann-Whitney test: \$ p < 0.05, \$\$ p < 0.01, comparison between DX and D3; * p < 0.05, comparison between WT and KO.

(C) MAP6-KO mice exhibited higher latency to eat compare to wild-type mice in the Novelty Suppressed Feeding (NSF) test. (means \pm s.e.m.) WT n= 7; MAP6 KO n= 9. Unpaired Student's t test: * p < 0.05; ** p < 0.01.

(D) ECS treatment decrease latency to eat in ECS-treated MAP6 KO mice as compared to sham-treated MAP6 KO mice (means \pm s.e.m.). D4: n=13 for sham and n=13 for ECS; D10: n=13 for sham and n=13 for ECS; D17: n=7 for sham and n=7 for ECS; D18: n=7 for sham and n=8 for ECS; D33: n=7 for sham and n=8 for ECS. Unilateral Mann-Whitney test: * p < 0.05, ** p < 0.01.

(E-F) ECS treatment decreased immobility time in the Forced Swim test (FST). The total duration of immobility and climbing were quantified 1 day (D1) and 8 days (D8) after the end of ECS treatment. (means \pm s.e.m.). D1: n=10 for sham and n=11 for ECS; D8: n=10 for sham and n=10 for ECS. Unilateral Mann-Whitney test: * p < 0.05

ECS treatment did not induce major modification of protein expression pattern

In order to identify possible molecular mechanisms involved in the beneficial effect of ECS on MAP6 KO mice we analysed the proteomic profiles of brain samples prepared from MAP6 KO mice treated by ECS or sham protocols. Total brain and hippocampal protein extracts were prepared from 3 MAP6 KO mice, 3 days after ECS or sham treatment. All samples were subjected to mass spectrometry analysis and the relative amount of each protein was measured (protein LFQ intensities). Differential analyse was conducted using a Welch t-test and 16 and 19 proteins passed the cut-off for total brain and hippocampal samples, respectively (Figure S1). However, the ratio of expression levels of these proteins compared to control samples was very low and not in favour of real differentially-expressed proteins. Accordingly, when alternative statistical strategies were used, none of these proteins was anymore found as differentially expressed. Thus, overall, this analysis indicated that ECS treatment did not induce detectable modification of brain proteins expression pattern, when assayed by quantitative mass spectrometry.

ECS treatment enhances adult hippocampal neurogenesis

ECS treatment has been shown to enhance neuronal progenitor proliferation in the hippocampus in both rodent and non-human primate models (Madsen et al., 2000; Malberg et al., 2000; Perera et al., 2007) prompting us to perform an in-depth analysis of hippocampal neurogenesis, in MAP6 KO mice after ECS/sham treatment.

At first, we investigated the proliferation rate of progenitors in MAP6 KO and WT mice. Mice were administered with EdU to label proliferating cells and the number of EdU positive cells in the entire hippocampus was measured. The total number of proliferating cells was not significantly different between WT and MAP6 KO mice (Figure 2A). The absence of difference was still observed when the EdU positive cells were counted separately in the dorsal and ventral parts of the hippocampus. We next investigated the effects of ECS on progenitor proliferation by comparing ECS and sham treatment in MAP6 KO mice. BrdU was administrated to MAP6 KO mice after the end of ECS/sham treatments according to the chronogram shown figure 2B. Positive cells were analyzed and counted on brain slices, covering the entire hippocampus, as illustrated figure 2C. Quantification of BrdU positive cells in the dorsal and ventral hippocampus as well as in the total hippocampus in ECS-treated mice compared to sham-treated mice revealed a 46% increase of the number of positive cells

(Figure 2D). These results indicated that ECS enhanced the proliferation of hippocampal progenitors.

Second, we determined if ECS also triggered the differentiation of progenitors to neuroblasts/immature neurons. DCX immunolabelling was performed 3 days after the end of the treatment to identify neuroblasts/immature neurons as illustrated Figure 2E. ECS treatment of MAP6 KO mice, as compared to sham treatment, resulted in a 127% increase of DCX positive cells in the total hippocampus (Figure 2F).

Third, as the neuroblasts/immature neurons should integrate the preexisting neuronal network, we investigated the integration rate of newborn neurons. Mice were administered with BrdU to label spontaneous proliferating cells and 4 weeks later the number of BrdU positive cells corresponding to new-born mature neurons was measured (Figure 3A). The number of newly born neurons was strongly reduced in MAP6 KO mice as compared to WT (Figure 3A; 200 ± 17 and 340 ± 26 cells for MAP6 KO and WT respectively). We next investigated the effects of ECS/sham treatments on the rate of spontaneously new born neurons in the hippocampus of MAP6 KO mice. BrdU was administrated to MAP6 KO mice 4 weeks prior the end of ECS treatment according to the chronogram shown Figure 3B. Positive cells were analyzed and counted on brain slices, covering the entire hippocampus, as illustrated figure 3C. Quantification of BrdU positive cells in the dorsal and ventral hippocampus as well as in the total hippocampus in MAP6 KO mice treated by ECS compared to sham-treated mice revealed 73% increase of the number of positive cells in total hippocampus (Figure 3D). These results indicated that ECS strongly enhanced the integration rate of hippocampal new-born neurons.

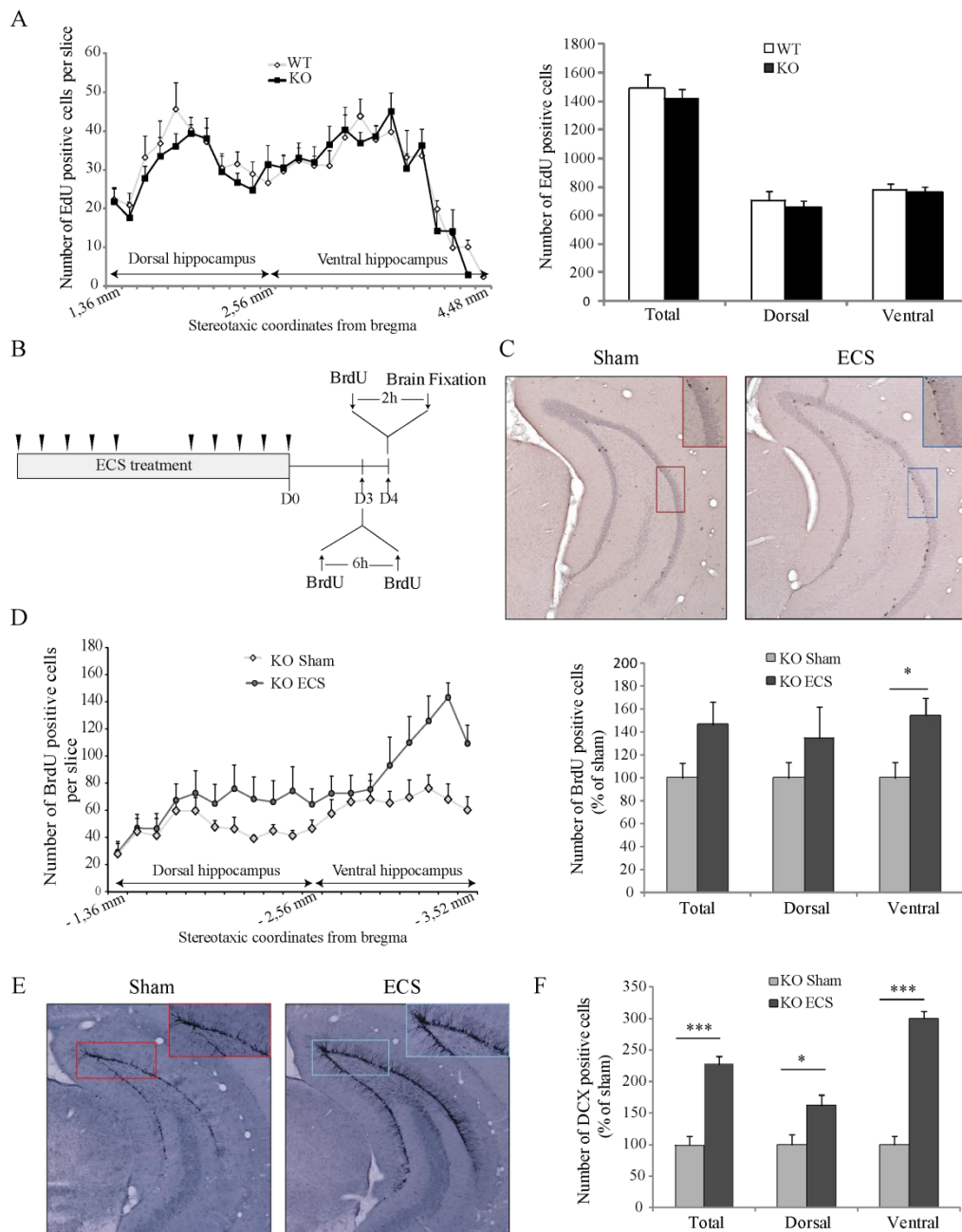


Figure 2: Effects of ECS treatment on hippocampal progenitors proliferation

(A) Assay of progenitor proliferation in adult MAP6 KO and WT mice hippocampus. Left panel: Number of EdU positive cells per slice (means \pm s.e.m.) along the hippocampal rostro-caudal axis. Right panel: Number of EdU positive cells per hippocampi (means \pm s.e.m.) in the whole hippocampus (Total), in the dorsal part (Dorsal) and the ventral part (Ventral). WT $n=7$ and MAP6 KO mice $n=7$.

(B) Representative diagram of ECS and BrdU administrations. MAP6 KO mice were treated with 10 ECS (arrow head), once a day during 2 weeks. MAP6-KO mice were injected with BrdU twice a day, on day 3 (D3) and day 4 (D4) after the last ECS.

(C) Representative photographs of BrdU peroxidase immunolabeled cells in the dentate gyrus of sham-treated and ECS-treated MAP6 KO for histological slice at -3.40 mm from Bregma.

(D) ECS treatment increased the number of BrdU positive cells in the sub-granular zone (SGZ) of the hippocampus. Left panel: Number of BrdU positive cells per slice (means \pm s.e.m.) along the hippocampal rostro-caudal axis. Right panel: Number of BrdU positive cells per hippocampi (means \pm s.e.m.) in the whole hippocampus, in the dorsal part and the ventral part in sham-treated ($n=6$) and ECS-treated ($n=7$) MAP6 KO mice. Unilateral Mann-Whitney test: * $p < 0.05$

(E) Representative photographs of DCX immunolabeled cells in the dentate gyrus of sham-treated and ECS-treated MAP6-KO mice for histological slice at 3.16 mm from Bregma.

(F) ECS treatment increased the number of DCX positive cells in the granular cell layer (GCL) of the hippocampus. Number of DCX positive cells per hippocampi (means \pm s.e.m.) in the whole hippocampus (Total), in the dorsal part (Dorsal) and the ventral part (Ventral) in sham-treated ($n=8$) and ECS-treated ($n=8$) MAP6 KO mice. Unilateral Mann-Whitney test: ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

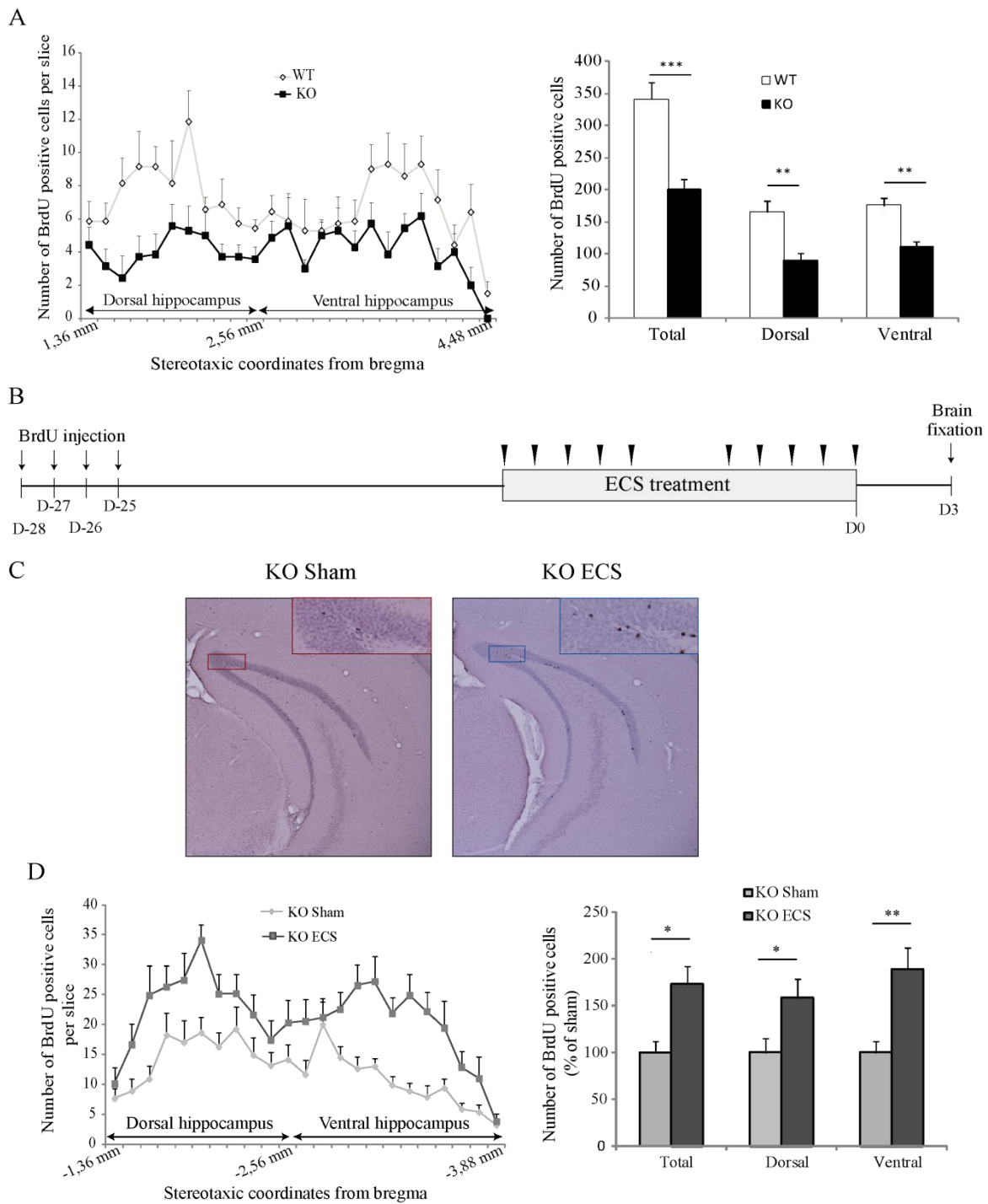


Figure 3: Effects of ECS treatment on hippocampal new-born neurons integration

(A) MAP6 KO mice exhibited a decrease survival of newborn neurons. Left panel: Number of BrdU positive cells per slices (means \pm s.e.m.) along the hippocampal rostro-caudal axis in MAP6 KO mice and wild-type mice. Right panel: Number of BrdU positive cells per hippocampi (means \pm s.e.m.) in the whole hippocampus, in the dorsal part and the ventral part. WT n=7 and MAP6 KO n=7. Unilateral Mann-Whitney test: ** p < 0.01

(B) Representative diagram of ECS and BrdU administrations. MAP6 KO mice were treated with 10 ECS, once a day during 2 weeks. MAP6-KO mice were injected with BrdU once a day during 4 days starting 28 days (D - 28) before the last ECS. Brain fixation was performed three days (D3) after the last electroconvulsive stimulation.

(C) Representative photographs of BrdU peroxidase immunolabeled cells in the dentate gyrus of sham-treated (n=8) and ECS-treated (n=9) MAP6-KO mice for histological slice at -3.28 mm from Bregma.

(D) ECS treatment increased the number of BrdU positive cells in the SGZ of the hippocampus. Left panel: Number of BrdU positive cells per slices (means \pm s.e.m.) along the hippocampal rostro-caudal axis in sham and ECS treated MAP6 KO mice. Right panel: Number of BrdU positive cells per hippocampus (means \pm s.e.m.) in the whole hippocampus, in the dorsal part and the ventral part in sham-treated (n=8) and ECS-treated (n=8) MAP6-KO mice. Unilateral Mann-Whitney test: * p < 0.05, ** p < 0.01.

ECS treatment induces long-range hippocampal new-born neuron survival

ECS treatment induced some behavioral amelioration for at least 17 days following the end of the treatment (Figure 1D) we thus evaluated the effect of ECS on the survival rate of spontaneously new-born neurons over time. Mice were administered with EdU to label proliferating cells 4 weeks before the end of ECS/sham treatment and the number of EdU positive cells was evaluated at several time points after the end of the ECS/sham treatment (Figure 4). When evaluated at D11, D18 and D40 after the end of the treatment, the number of surviving newborn neurons was significantly increased by 77% at D11, by 108 % at D18 and by 68 % at D40 (Figure 4) was significantly higher in ECS treated mice as compared to sham treated mice (Figure 4; 414 ± 70 and 734 ± 77 cells for sham and ECS condition, respectively at D11; 266 ± 29 and 553 ± 42 cells for sham and ECS condition at D18, respectively and 147 ± 15 and 247 ± 27 cells for sham and ECS condition at D40, respectively). To note at D40 the number of positive cells in ECS-treated group is below the value of sham-treated group at D11 (Figure 4; 247 versus 414 neurons). These results indicated that ECS induces an enhanced integration rate of hippocampal new-born neurons during several weeks, a duration which paralleled the time course of the alleviation of the depressive/anxiety behavior estimated using the novelty suppressed feeding (NSF) test. To note, the kinetic of new-born neuron death seemed to be similar after ECS or sham treatment.

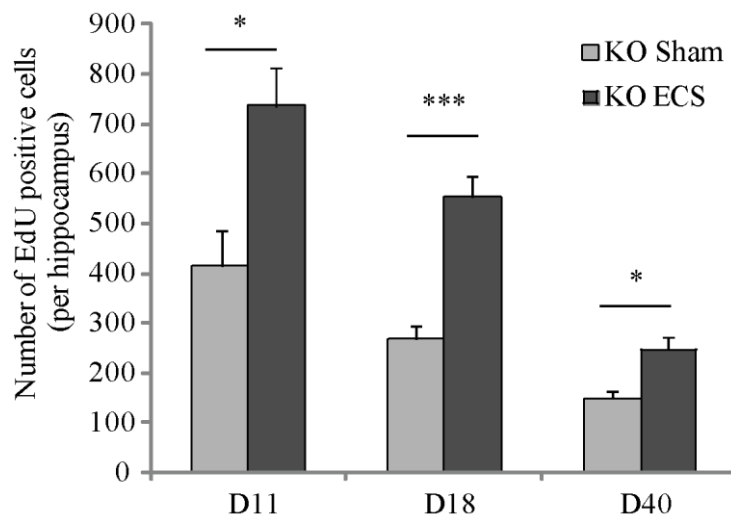


Figure 4: Time course of hippocampal new-born neurons integration after ECS treatment

Number of EdU positive cells (means \pm s.e.m.) in the whole hippocampus at 11 days (D11), 18 days (D18) and 40 days (D40) after the last ECS. D11: n=7 for sham and n=6 for ECS; D18: n=7 for sham and n=7 for ECS; D40: n=5 for sham and n=6 for ECS.

Unilateral Mann-Whitney test: * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$

ECS treatment induces new-born neuron maturation

The new-born neurons should mature and integrate into the pre existing neuronal network. To investigate these parameters we performed retroviral injection (pCAG-IRES-GFP virus) in the dentate gyrus of MAP6 KO mice according to the chronogram shown Figure 5A. As BrdU/EdU, the retrovirus targeted proliferating progenitors and when observed 4 weeks later the GFP staining allow to identify and visualize newborn neurons. The neuronal morphology including dendritic organization and complexity can be visualized as illustrated in Figure 5B. Skeletisation of the neuronal arborization was performed allowing to quantify dendritic organization and complexity (Figure 5C). Sholl analysis of the neuronal dendritic arborization showed that ECS treatment increase the dendritic complexity with 30% increase of the number of dendritic intersections (Figure 5D). In addition quantification of dendritic spines density in the distal part of new-born neurons indicated an increase of 22% after ECS treatment (Figure 5E, 1.4 ± 0.2 versus 1.7 ± 0.1 spines/ μm for sham and ECS treatment, respectively). Moreover we quantified spines density in the three main categories morphology; thin, stubby and mushroom spines, after sham and ECS treatment (Figure 5F). We found no difference in density of thin and stubby spines between treatment wherese the density of mushroom-like spines was significantly higher after ECS treatment compared to sham (Figure 5F, 0.07 ± 0.01 and 0.17 ± 0.01 for sham and ECS treatment, respectively). These results indicated that ECS treatment induce an increased maturation of new born neurons.

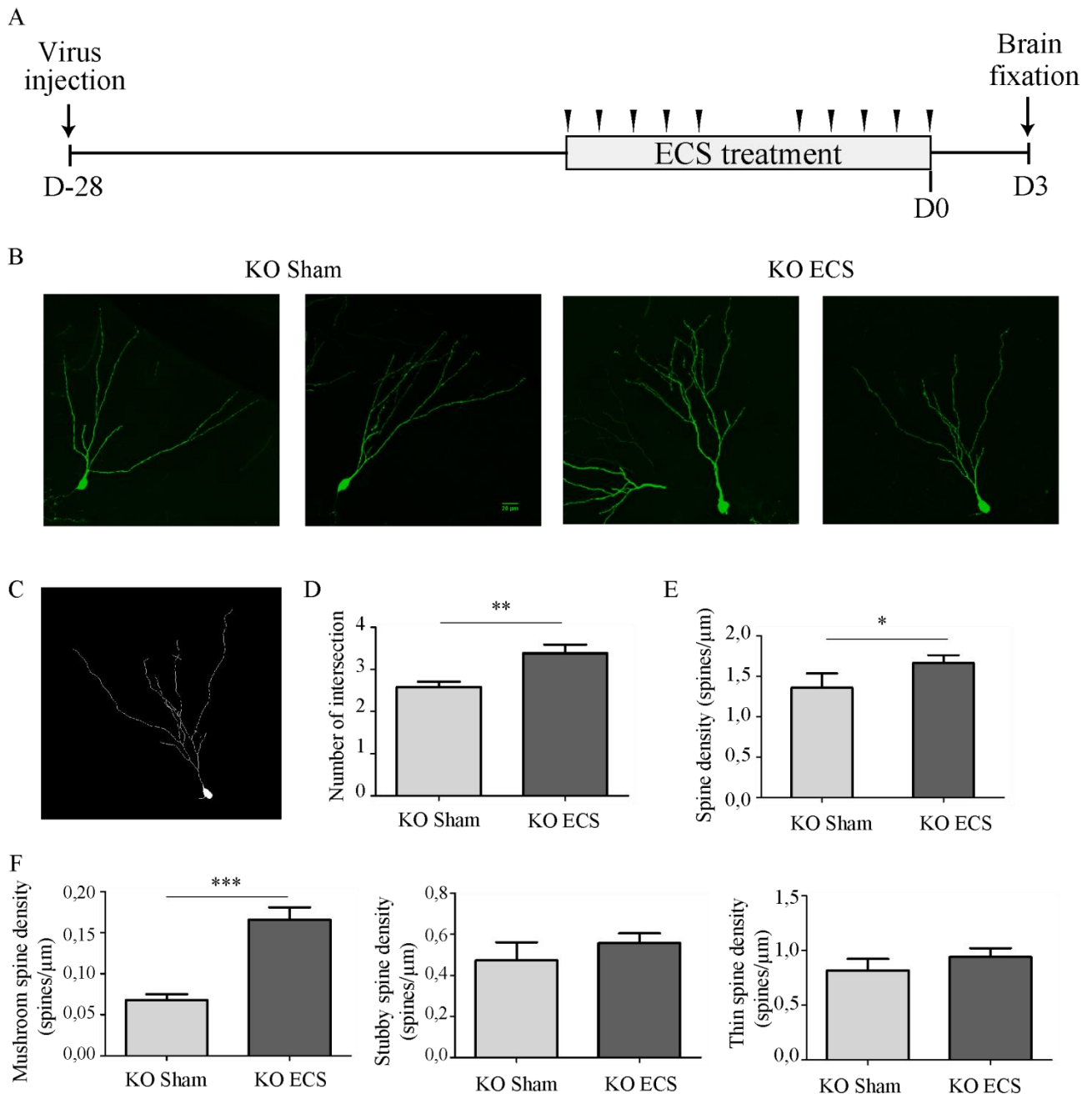


Figure 5: Effects of ECS treatment on hippocampal new-born neurons maturation

(A) Representative diagram of ECS and virus administrations. MAP6 KO mice were treated with 10 ECS, once a day during 2 weeks. MAP6 KO mice were injected with retroviral solution 28 days (D-28) before the last ECS. Brains were fixed at D3 after the last ECS.

(B) Representative photographs of GFP staining in newborn neurons in the dentate gyrus of sham-treated and ECS-treated MAP6 KO mice.

(C) Illustration of neuronal skeletonisation used for dendritic arborization analysis.

(D) Quantification of the dendritic arborization complexity by Sholl analysis. Data were from 11 neurons of 2 sham-treated and 8 neurons of 3 ECS-treated MAP6 KO mice. Unilateral Mann-Whitney test: ** $p < 0.01$

(E-F) ECS treatment increased total spine density in newborn neurons (E) and mushroom-like spine density (F). Data were from 10 segments of 2 Sham-treated and from 19 segments of 3 ECS-treated MAP6-KO mice. Unilateral Mann-Whitney test: * $p < 0.05$

ECS treatment increases BDNF expression

BDNF has been shown to support postnatal hippocampal neurogenesis (Foltran and Diaz, 2016), we thus wondered whether hippocampal levels of BDNF could be modified after ECS administration to MAP6 KO mice. We found that, at D3 and D4 after the end of the treatment, respectively, hippocampal BDNF mRNA and protein levels were significantly increased by 108.9% and 66.3 % in ECS-treated MAP6 KO mice compared with sham-treated mice, respectively (Figure 6A). These results indicated that ECS enhanced the level of expression of the trophic factor, BDNF.

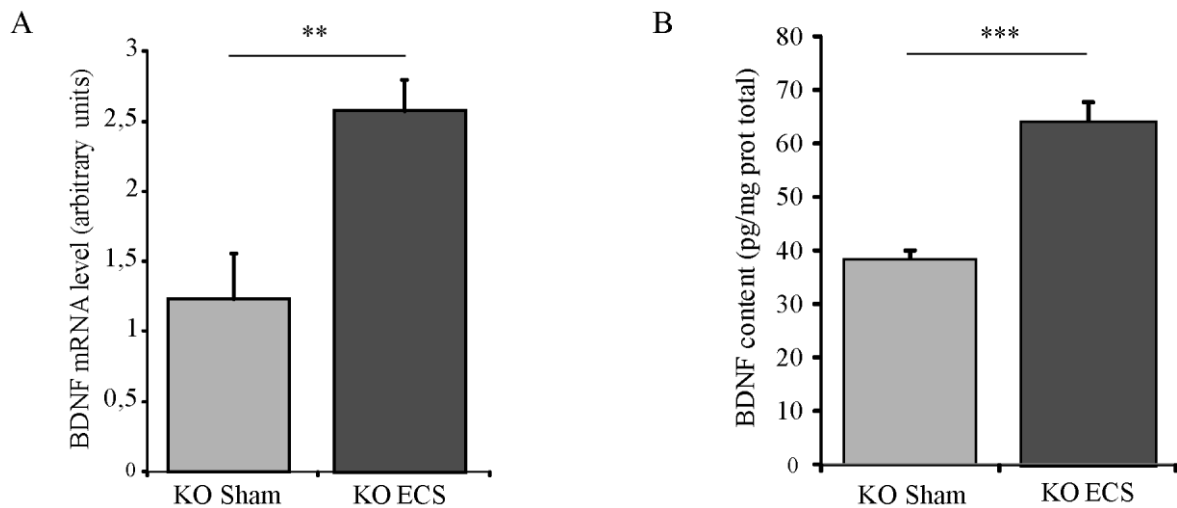


Figure 6: Effects of ECS treatment on hippocampal BDNF expression

(A) ECS treatment increased BDNF mRNA level in the hippocampus of MAP6-KO mice at D3 after the last ECS. Sham-treated (n=7) and ECS-treated (n=7) MAP6-KO mice. Student t test: ** p<0.01

(B) ECS treatment increased BDNF protein expression in the hippocampus of MAP6-KO mice 4 days after the last ECS. Sham-treated (n=12) and ECS-treated (n=10). Student t test: *** p < 0.001.

ECS treatment does not modify synaptic plasticity

MAP6 KO mice exhibit strong deficits in synaptic plasticity affecting both short and long term plasticity including defective long-term potentiation (LTP) and post-tetanic potentiation (PTP) in CA1 region of the hippocampus (Andrieux et al., 2002; Fournet et al., 2010). Here, we performed LTP and PTP evaluation on MAP6 KO mice after either ECS or sham treatment following the chronogram as indicated Figure 7A. Analysis of PTP and LTP on MAP6 KO mice treated by ECS did not show significant difference with sham-treated mice (Figure 7B-C) when measured at D3.

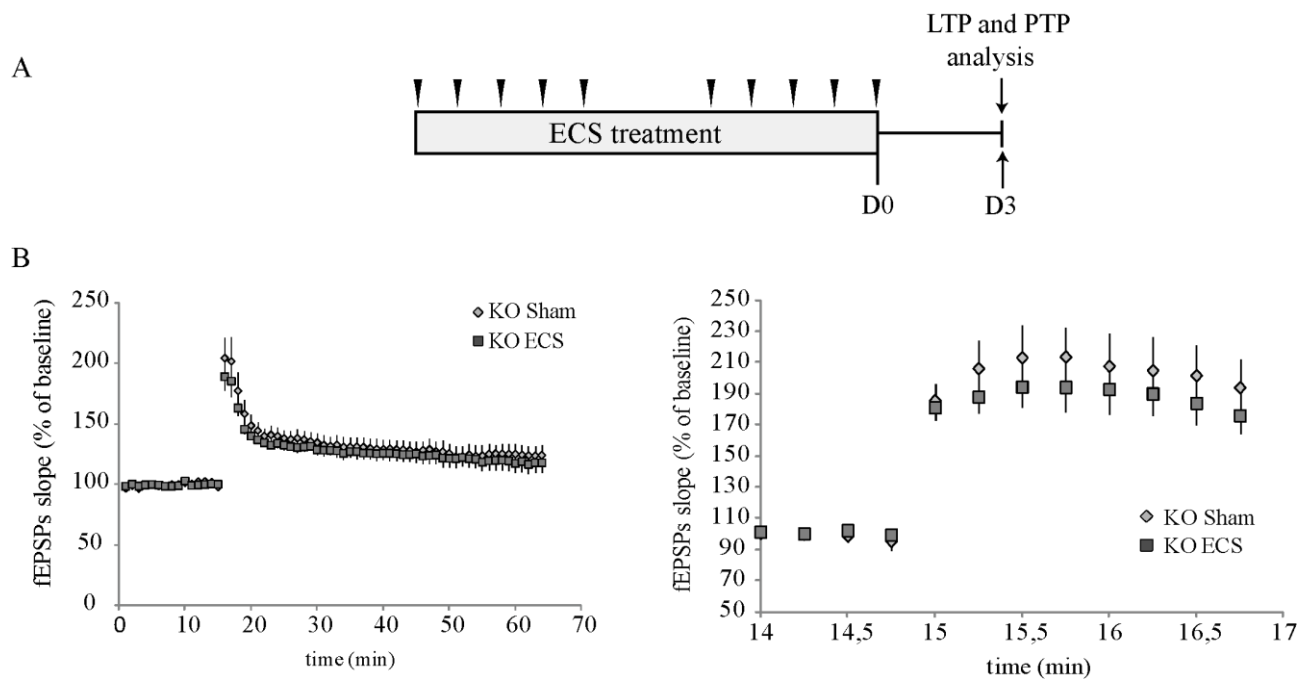


Figure 7: Effects of ECS treatment on synaptic plasticity

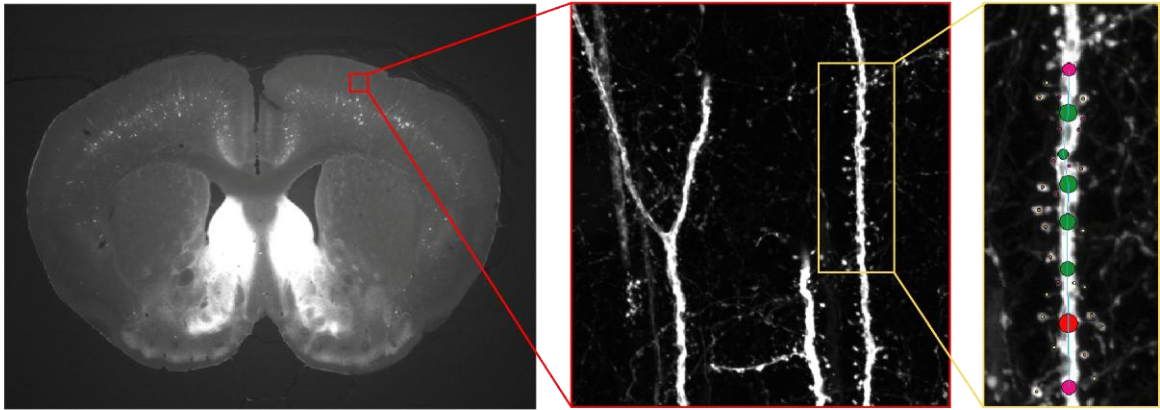
(A) Representative diagram of ECS administrations and LTP analysis.

(B) Left panel: LTP experiments at Schaffer collateral-CA1 pyramidal cell synapses. Data were from 5 sham-treated MAP6 KO mice and 5 ECS-treated MAP6 KO mice (total of 15 slices). Unpaired Student's t-test: $p > 0.05$ is considered non significant. Right panel: Post-tetanic potentiation (PTP) of Schaffer collateral synaptic transmission. Data were from 5 Sham-treated MAP6 KO mice and 5 ECS-treated MAP6 KO mice (total of 15 slices). Unpaired Student's t-test: $p > 0.05$ is considered non significant.

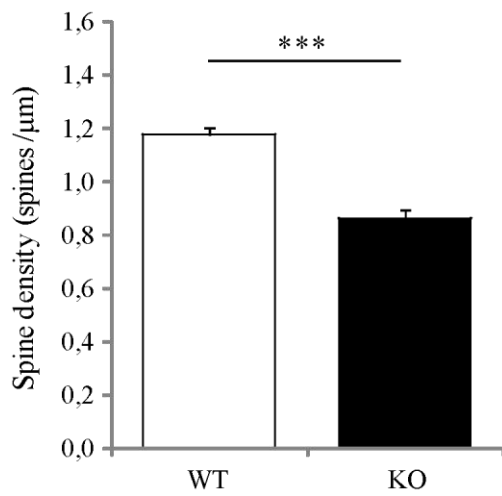
ECS treatment increases dendritic spines density

Reduction of dendritic spines density has been reported on animal model of depression (Donohue et al., 2006; Licznerski and Duman, 2013). Using the Thy1-eYFP-H transgene, dendritic spine density can be directly assayed *in vivo*, in cortical neurons of MAP6 KO mice (Feng et al., 2000; Porrero et al., 2010). Dendritic spines were analyzed on WT and MAP6 KO brain slices using confocal images (Figure 8A). MAP6 KO neurons expressed significantly less dendritic spines than WT neurons (Fig. 8B; 1.18 ± 0.04 and 0.91 ± 0.04 spines/ μm for WT and MAP6 KO neurons, respectively). We next evaluated the effect of ECS treatment on spine density as compared to sham treatment. ECS treatment significantly increased by 29% the spine density as compared to sham treatment (Figure 8C). These results indicated that ECS enhanced the dendritic spine density *in vivo*.

A



B



C

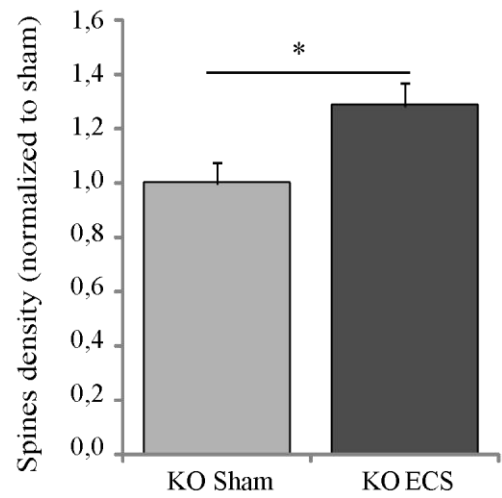


Figure 8: Effects of ECS treatment on dendritic spine density

(A) Illustration of the technique used for spine quantification with NeuronStudio on confocal images.

(B) MAP6KO mice exhibited decrease spine density in the cortex compared to wild-type mice. Data were from 50 segments of 4 Wild-type and from 29 segments of 4 MAP6 KO mice. Unpaired Student's t test. *** $p < 0.001$

(C) ECS treatment rescued spine density deficit. Data were from 17 segments of 3 Sham-treated and from 26 segments of 3 ECS-treated MAP6-KO mice. Unilateral unpaired Student's t test: * $p < 0.05$

Discussion

In this study we demonstrate that ECS treatment, when applied to animals with constitutive defects related to depressive status, is able to restore both behavioral and biological deficits. Indeed the severe social withdrawal and anxiety/deficits exhibited by MAP6 KO mice were alleviated by ECS treatment. Interestingly, the behavioral relapse did not occur similarly for each behavior indicating that ECS treatment most probably triggers several biological pathways. Indeed, several biological mechanisms can underline the behavioral improvements including some identified in this study such as the increased expression of the trophic factor BDNF, the increased dendritic spine density and the general enhancement of adult hippocampal neurogenesis.

The main result of this study concerns the increase of adult hippocampal neurogenesis triggered by ECS treatment. Both in animal models and in human, in depressive conditions the adult hippocampal neurogenesis is known to be reduced (David et al., 2009). In our study we found, as already described for other animal models, that ECS treatment strongly increases the proliferation of neuronal progenitors. However, the effect of ECS on progenitor proliferation during the treatment cannot be responsible of the immediate behavioral improvement. Rather, for the first time, in this study we clearly demonstrate that ECS treatment, on top of boosting progenitor proliferation also directly and quickly increases the survival rate of the new-born neurons, and promote their maturation and their integration in the pre-existing neuronal network.

Despite the integration of new born neurons triggered by ECS, a behavioral relapse was observed. In our study, this relapse correspond at the time point when the number of new born neurons which are still alive reached the number of neurons present in sham conditions at the end of the treatment (around 400 neurons in our study). We can thus propose that in depressive conditions (MAP6 KO mice) the ratio of integrated neurons measured by BrdU/EdU injection is under a threshold compatible with normal behavior, that ECS stimulated the integration rate to reach a number of new neurons compatible with normal behavior and that behavioral relapse occurred when the number of surviving new born neurons fall under the threshold.

The similarities between the human and mouse brain and our faithful replication of clinical procedures suggest that similar changes occur in the brains of patients treated with ECT. In human, maintenance sessions (for example 1 ECT session a week) are most of the time

beneficial (Petrides et al., 2011). These effects of maintenance sessions may be due to the stimulation of new-born neurons integration and such a hypothesis can be tested in our model. Our results clearly indicate that ECS enhance the maturation of new born neurons with increased dendritic complexity as well as dendritic spines density. These features will provide better connectivity with the pre-existing neuronal network at a critical period for integration. Interestingly in our study the outcome of mature new born neurons did not seem to be modify by the ECS treatment applied 4 weeks before as the time course of neuronal death is similar in sham and ECS treated animals.

The ability of ECS treatment to increase the efficacy of all hippocampal neurogenesis steps including proliferation, survival and integration most probably largely contribute to the alleviation of the depressive behaviors. Thus, the rapidity of action of ECS could be explained by the net increase in new-born neurons due to enhanced survival of spontaneously newly generated neurons. Moreover the increased proliferation of progenitors triggered by ECS can result in an increased in number of integrated neurons when maintenance sessions are applied. Our results indicate that ECS treatment increase dendritic density in new-born neurons in the hippocampus as well as in cortical neurons suggesting a general increase in synaptic plasticity. The direct measurement of synaptic plasticity by electrophysiology did not reveal alleviation of LTP and PTP defects but the assay has been performed three days after the end of the treatment. A beneficial effect of ECS on synaptic plasticity cannot be ruled out, at later time points, when possible deleterious effects of the overstimulation of neurotransmitter release will be lost. Moreover, we observed an increase of BDNF expression in the hippocampus. Together the increase in hippocampal dendritic spine density, BDNF expression and neurogenesis might result in an enhanced glutamatergic transmission. The increase in dendritic spines density observed in cortical neurons is probably general to all glutamatergic neurons including hippocampal glutamatergic neurons. Even if the cellular pathways are not currently deciphered, it can be suggested a prominent role of BDNF in boosting the integration of new born neurons. Indeed, BDNF has been shown to have a pivotal role in regulating spine density and survival of newborn neurons (Sairanen et al., 2005; Liu et al., 2012). In depressive conditions, the HPA axis is known to be hyper active. HPA axis is under the negative control of the hippocampus, we might thus propose that an increased efficacy of hippocampal glutamatergic neurotransmission might tuned down the hyperactivation of the HPA axis and thus act favorably on the depressive/anxiety deficits. To note ECS treatment strongly increases the proliferation of progenitor in the ventral part of the hippocampus, and will promote the birth of new neurons in ventral hippocampus, neurons

known to be highly connected to amygdala and prefrontal cortex emotions (Canteras and Swanson, 1992; Namura et al., 1994; Fanselow and Dong, 2010). Thus, such a preferential contribution of ventral hippocampal neurogenesis might positively affect neuronal networks crucial for the control of emotive and social behavior.

Overall our study demonstrates that the main biological event rapidly triggered by ECS treatment is the increased integration rate of mature newborn neurons in the hippocampus.

- Andrieux, A.; Salin, P. A.; Vernet, M.; Kujala, P.; Baratier, J.; Gory-Fauré, S.; Bosc, C.; Pointu, H.; Proietto, D.; Schweitzer, A.; et al. The Suppression of Brain Cold-Stable Microtubules in Mice Induces Synaptic Defects Associated with Neuroleptic-Sensitive Behavioral Disorders. *Genes Dev.* **2002**, *16* (18), 2350–2364.
- Bégou, M.; Volle, J.; Bertrand, J.-B.; Brun, P.; Job, D.; Schweitzer, A.; Saoud, M.; D’Amato, T.; Andrieux, A.; Suaud-Chagny, M.-F. The Stop Null Mice Model for Schizophrenia Displays Cognitive and Social Deficits Partly Alleviated by Neuroleptics. *Neuroscience* **2008**, *157* (1), 29–39.
- Bolwig, T. G. How Does Electroconvulsive Therapy Work? Theories on Its Mechanism. *Can. J. Psychiatry Rev. Can. Psychiatr.* **2011**, *56* (1), 13–18.
- Brun, P.; Bégou, M.; Andrieux, A.; Mouly-Badina, L.; Clerget, M.; Schweitzer, A.; Scarna, H.; Renaud, B.; Job, D.; Suaud-Chagny, M.-F. Dopaminergic Transmission in STOP Null Mice. *J. Neurochem.* **2005**, *94* (1), 63–73.
- Canteras, N. S.; Swanson, L. W. Projections of the Ventral Subiculum to the Amygdala, Septum, and Hypothalamus: A PHAL Anterograde Tract-Tracing Study in the Rat. *J. Comp. Neurol.* **1992**, *324* (2), 180–194.
- Cox, J.; Mann, M. MaxQuant Enables High Peptide Identification Rates, Individualized P.p.b.-Range Mass Accuracies and Proteome-Wide Protein Quantification. *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26* (12), 1367–1372.
- David, D. J.; Samuels, B. A.; Rainer, Q.; Wang, J.-W.; Marsteller, D.; Mendez, I.; Drew, M.; Craig, D. A.; Guiard, B. P.; Guilloux, J.-P.; et al. Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron* **2009**, *62* (4), 479–493.
- Deeb, S. J.; D’Souza, R. C. J.; Cox, J.; Schmidt-Supprian, M.; Mann, M. Super-SILAC Allows Classification of Diffuse Large B-Cell Lymphoma Subtypes by Their Protein Expression Profiles. *Mol. Cell. Proteomics* **2012**, *11* (5), 77–89.
- Delotterie, D.; Ruiz, G.; Brocard, J.; Schweitzer, A.; Roucard, C.; Roche, Y.; Suaud-Chagny, M.-F.; Bressand, K.; Andrieux, A. Chronic Administration of Atypical Antipsychotics Improves Behavioral and Synaptic Defects of STOP Null Mice. *Psychopharmacology (Berl.)* **2010**, *208* (1), 131–141.
- Donohue, H. S.; Gabbott, P. L. A.; Davies, H. A.; Rodríguez, J. J.; Cordero, M. I.; Sandi, C.; Medvedev, N. I.; Popov, V. I.; Colyer, F. M.; Peddie, C. J.; et al. Chronic Restraint Stress Induces Changes in Synapse Morphology in Stratum Lacunosum-Moleculare CA1 Rat Hippocampus: A Stereological and Three-Dimensional Ultrastructural Study. *Neuroscience* **2006**, *140* (2), 597–606.
- Duman, C. H. Chapter One - Models of Depression. In *Vitamins & Hormones*; Gerald Litwack, Ed.; Hormones of the Limbic System; Academic Press, 2010; Vol. Volume 82, pp 1–21.
- Fanselow, M. S.; Dong, H.-W. Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron* **2010**, *65* (1), 7–19.
- Feng, G.; Mellor, R. H.; Bernstein, M.; Keller-Peck, C.; Nguyen, Q. T.; Wallace, M.; Nerbonne, J. M.; Lichtman, J. W.; Sanes, J. R. Imaging Neuronal Subsets in Transgenic Mice Expressing Multiple Spectral Variants of GFP. *Neuron* **2000**, *28* (1), 41–51.
- Ferreira, T. A.; Blackman, A. V.; Oyrer, J.; Jayabal, S.; Chung, A. J.; Watt, A. J.; Sjöström, P. J.; van Meyel, D. J. Neuronal Morphometry Directly from Bitmap Images. *Nat. Methods* **2014**, *11* (10), 982–984.

- Foltran, R. B.; Diaz, S. L. BDNF Isoforms: A Round Trip Ticket between Neurogenesis and Serotonin? *J. Neurochem.* **2016**, *138* (2), 204–221.
- Fournet, V.; Jany, M.; Fabre, V.; Chali, F.; Orsal, D.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; Messanvi, F.; Giros, B.; Hamon, M.; et al. The Deletion of the Microtubule-Associated STOP Protein Affects the Serotonergic Mouse Brain Network. *J. Neurochem.* **2010**, *115* (6), 1579–1594.
- Fournet, V.; Schweitzer, A.; Chevarin, C.; Deloulme, J.-C.; Hamon, M.; Giros, B.; Andrieux, A.; Martres, M.-P. The Deletion of STOP/MAP6 Protein in Mice Triggers Highly Altered Mood and Impaired Cognitive Performances. *J. Neurochem.* **2012**, *121* (1), 99–114.
- Gregus, A.; Wintink, A. J.; Davis, A. C.; Kalynchuk, L. E. Effect of Repeated Corticosterone Injections and Restraint Stress on Anxiety and Depression-like Behavior in Male Rats. *Behav. Brain Res.* **2005**, *156* (1), 105–114.
- Jiménez Vasquez, P. A.; Salmi, P.; Ahlenius, S.; Mathé, A. A. Neuropeptide Y in Brains of the Flinders Sensitive Line Rat, a Model of Depression. Effects of Electroconvulsive Stimuli and D-Amphetamine on Peptide Concentrations and Locomotion. *Behav. Brain Res.* **2000**, *111* (1-2), 115–123.
- Lanté, F.; Chafai, M.; Raymond, E. F.; Pereira, A. R. S.; Mouska, X.; Kootar, S.; Barik, J.; Bethus, I.; Marie, H. Subchronic Glucocorticoid Receptor Inhibition Rescues Early Episodic Memory and Synaptic Plasticity Deficits in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Neuropsychopharmacology* **2015**, *40* (7), 1772.
- Licznanski, P.; Duman, R. S. Remodeling of Axo-Spinous Synapses in the Pathophysiology and Treatment of Depression. *Neuroscience* **2013**, *251*, 33–50.
- Liu, R.-J.; Lee, F. S.; Li, X.-Y.; Bambico, F.; Duman, R. S.; Aghajanian, G. K. Brain-Derived Neurotrophic Factor Val66Met Allele Impairs Basal and Ketamine-Stimulated Synaptogenesis in Prefrontal Cortex. *Biol. Psychiatry* **2012**, *71* (11), 996–1005.
- Madsen, T. M.; Treschow, A.; Bengzon, J.; Bolwig, T. G.; Lindvall, O.; Tingström, A. Increased Neurogenesis in a Model of Electroconvulsive Therapy. *Biol. Psychiatry* **2000**, *47* (12), 1043–1049.
- Malberg, J. E.; Eisch, A. J.; Nestler, E. J.; Duman, R. S. Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus. *J. Neurosci.* **2000**, *20* (24), 9104–9110.
- Milbradt, J.; Kraut, A.; Hutterer, C.; Sonntag, E.; Schmeiser, C.; Ferro, M.; Wagner, S.; Lenac, T.; Claus, C.; Pinkert, S.; et al. Proteomic Analysis of the Multimeric Nuclear Egress Complex of Human Cytomegalovirus. *Mol. Cell. Proteomics* **2014**, *13* (8), 2132–2146.
- Murray, F.; Smith, D. W.; Hutson, P. H. Chronic Low Dose Corticosterone Exposure Decreased Hippocampal Cell Proliferation, Volume and Induced Anxiety and Depression like Behaviours in Mice. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *583* (1), 115–127.
- Namura, S.; Takada, M.; Kikuchi, H.; Mizuno, N. Topographical Organization of Subicular Neurons Projecting to Subcortical Regions. *Brain Res. Bull.* **1994**, *35* (3), 221–231.
- Newton, S. S.; Collier, E. F.; Hunsberger, J.; Adams, D.; Terwilliger, R.; Selvanayagam, E.; Duman, R. S. Gene Profile of Electroconvulsive Seizures: Induction of Neurotrophic and Angiogenic Factors. *J. Neurosci.* **2003**, *23* (34), 10841–10851.

Perera, T. D.; Coplan, J. D.; Lisanby, S. H.; Lipira, C. M.; Arif, M.; Carpio, C.; Spitzer, G.; Santarelli, L.; Scharf, B.; Hen, R.; et al. Antidepressant-Induced Neurogenesis in the Hippocampus of Adult Nonhuman Primates. *J. Neurosci.* **2007**, *27* (18), 4894–4901.

Petrides, G.; Tobias, K. G.; Kellner, C. H.; Rudorfer, M. V. Continuation and Maintenance Electroconvulsive Therapy for Mood Disorders: Review of the Literature. *Neuropsychobiology* **2011**, *64* (3), 129–140.

Porrero, C.; Rubio-Garrido, P.; Avendaño, C.; Clascá, F. Mapping of Fluorescent Protein-Expressing Neurons and Axon Pathways in Adult and Developing Thy1-eYFP-H Transgenic Mice. *Brain Res.* **2010**, *1345*, 59–72.

Rodriguez, A.; Ehlenberger, D. B.; Hof, P. R.; Wearne, S. L. Rayburst Sampling, an Algorithm for Automated Three-Dimensional Shape Analysis from Laser Scanning Microscopy Images. *Nat. Protoc.* **2006**, *1* (4), 2152–2161.

Rodriguez, A.; Ehlenberger, D. B.; Dickstein, D. L.; Hof, P. R.; Wearne, S. L. Automated Three-Dimensional Detection and Shape Classification of Dendritic Spines from Fluorescence Microscopy Images. *PLoS ONE* **2008**, *3* (4), e1997.

Sairanen, M.; Lucas, G.; Ernfors, P.; Castrén, M.; Castrén, E. Brain-Derived Neurotrophic Factor and Antidepressant Drugs Have Different But Coordinated Effects on Neuronal Turnover, Proliferation, and Survival in the Adult Dentate Gyrus. *J. Neurosci.* **2005**, *25* (5), 1089–1094.

Sartorius, A.; Mahlstedt, M. M.; Vollmayr, B.; Henn, F. A.; Ende, G. Elevated Spectroscopic Glutamate/??-Amino Butyric Acid in Rats Bred for Learned Helplessness: *NeuroReport* **2007**, *18* (14), 1469–1473.

Schindelin, J.; Arganda-Carreras, I.; Frise, E.; Kaynig, V.; Longair, M.; Pietzsch, T.; Preibisch, S.; Rueden, C.; Saalfeld, S.; Schmid, B.; et al. Fiji: An Open-Source Platform for Biological-Image Analysis. *Nat. Methods* **2012**, *9* (7), 676–682.

Schloesser, R. J.; Orvoen, S.; Jimenez, D. V.; Hardy, N. F.; Maynard, K. R.; Sukumar, M.; Manji, H. K.; Gardier, A. M.; David, D. J.; Martinowich, K. Antidepressant-like Effects of Electroconvulsive Seizures Require Adult Neurogenesis in a Neuroendocrine Model of Depression. *Brain Stimulat.* **2015**.

Segi-Nishida, E.; Warner-Schmidt, J. L.; Duman, R. S. Electroconvulsive Seizure and VEGF Increase the Proliferation of Neural Stem-like Cells in Rat Hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105* (32), 11352–11357.

Szapacs, M. E.; Mathews, T. A.; Tessarollo, L.; Ernest Lyons, W.; Mamounas, L. A.; Andrews, A. M. Exploring the Relationship between Serotonin and Brain-Derived Neurotrophic Factor: Analysis of BDNF Protein and Extraneuronal 5-HT in Mice with Reduced Serotonin Transporter or BDNF Expression. *J. Neurosci. Methods* **2004**, *140* (1–2), 81–92.

Volle, J.; Brocard, J.; Saoud, M.; Gory-Faure, S.; Brunelin, J.; Andrieux, A.; Suaud-Chagny, M.-F. Reduced Expression of STOP/MAP6 in Mice Leads to Cognitive Deficits. *Schizophr. Bull.* **2013**, *39* (5), 969–978.

A

Protein IDs	p value	Fold change	Peptides	Unique peptides	Sequence coverage [%]	Mol. weight [kDa]	Score
tr Q80Y52 Q80Y52_MOUSE	0.0005	1.1244	46	30	55.9	84.787	311.63
sp P08553 NFM_MOUSE	0.0014	1.1766	34	29	44.6	95.915	323.31
tr Q71LX8 Q71LX8_MOUSE	0.0004	1.1339	47	29	56.6	83.28	323.31
tr Q6PAC1 Q6PAC1_MOUSE	0.0016	1.2522	11	11	24.6	80.762	55.906
tr A2RSV8 A2RSV8_MOUSE	0.0013	1.1692	14	14	57.4	19.53	69.044
sp P46660 AINX_MOUSE	0.0002	1.1555	31	26	58.9	55.382	323.31
tr Q497I3 Q497I3_MOUSE	0.0004	1.2470	12	12	83.7	15.137	78.941
tr Q3U4H0 Q3U4H0_MOUSE	0.0015	1.1802	7	7	44.8	30.016	33.471
tr D3YWR7 D3YWR7_MOUSE	0.0003	1.1755	8	8	65.1	20.008	124.16
tr A2ATP5 A2ATP5_MOUSE	0.0017	1.1982	8	8	22.7	59.543	31.782
tr Q3V1R3 Q3V1R3_MOUSE	0.0007	1.1796	11	11	27.9	61.877	80.385
sp Q8R164 BPHL_MOUSE	0.0007	1.1755	9	9	36.4	32.851	28.373
tr A5GZX3 A5GZX3_MOUSE	0.0015	1.1354	12	12	60.3	20.809	50.706
sp Q9CQZ5 NDUA6_MOUSE	0.0012	1.2199	5	5	45.8	15.283	19.536
sp Q9CY64 BIEA_MOUSE	0.0002	1.1995	9	9	40.3	33.524	29.874
tr B1AU25 B1AU25_MOUSE	0.0006	1.1701	14	14	34	66.113	59.309

B

Protein IDs	p value	Fold change	Peptides	Unique peptides	Sequence coverage %	Mol. weight [kDa]	Score
sp P03995 GFAP_MOUSE	0.0007	1.27	31	29	65.3	49.899	323.31
sp P07759 SPA3K_MOUSE	0.0008	0.60	13	13	36.4	46.879	162.93
tr Q8C5H2 Q8C5H2_MOUSE	0.0006	0.79	7	6	34.9	30.038	14.164
sp P17426 AP2A1_MOUSE	0.0005	0.89	36	28	49.7	107.66	161.41
tr Q8C6E3 Q8C6E3_MOUSE	0.0008	0.81	7	7	22.6	59.835	20.334
tr Q545M7 Q545M7_MOUSE	0.0002	0.74	2	2	19.1	11.93	9.1056
tr Q544B1 Q544B1_MOUSE	0.0000	0.75	18	18	46.2	56.537	100.6
tr Q58EV2 Q58EV2_MOUSE	0.0007	0.65	5	5	22.2	23.022	11.59
sp Q60902 EP15R_MOUSE	0.0010	0.80	8	8	16.1	99.307	67.276
sp Q61699 HS105_MOUSE	0.0000	1.17	29	27	44.6	96.406	323.31
tr A2ACL9 A2ACL9_MOUSE	0.0005	1.17	8	8	24.8	47.117	111.46
tr D3Z4T6 D3Z4T6_MOUSE	0.0008	0.85	6	6	26.1	36.208	66.566
sp Q8BHB9 CLIC6_MOUSE	0.0002	0.43	3	2	7.6	62.885	16.467
sp Q8BWT1 THIM_MOUSE	0.0000	0.77	13	13	58.4	41.829	126.52
tr Q0P5W2 Q0P5W2_MOUSE	0.0005	0.75	5	5	23.6	37.131	12.174
sp Q99LC5 ETFA_MOUSE	0.0012	0.88	9	9	41.1	35.009	66.472
tr Q544F6 Q544F6_MOUSE	0.0011	1.23	6	6	51.4	15.944	38.751
tr K3W4L0 K3W4L0_MOUSE	0.0004	1.25	19	19	12.9	230.99	63.802
sp Q9R1T4 SEPT6_MOUSE	0.0003	0.90	20	12	50.9	49.619	284.46

Figure S1: Fold change of proteomic content from brain and hippocampal extracts of ECS- versus Sham-treated MAP6 KO mice.

(A) Analysis of the whole brain extract. Differential analysis was conducted using a Welch t-test and a FDR control of 5%. 16 proteins passed the cut-off: Q80Y52: Heat shock protein 90 alpha; NFM: Neurofilament medium polypeptide; Q71LX8: Heat shock protein 84b; Q6PAC1: Gelsolin; A2RSV8: Cytochrome c oxidase subunit 4; AINX: Alpha-internexin; Q497I3: Fatty acid binding protein 5; Q3U4H0: Microtubule-associated protein RP/EB family member 1; D3YWR7: Dihydropteridine reductase; A2ATP5: Myelin expression factor 2; Q3V1R3: Lgi3; BPHL: Valacyclovir hydrolase; A5GZX3: Lactoylglutathione lyase; NDUA6: NADH dehydrogenase 1 alpha subcomplex subunit 6; BIEA: Biliverdin reductase A; B1AU25: Apoptosis-inducing factor 1. (B) Analysis of the hippocampus extract. Differential analysis was conducted using a Welch t-test and a FDR control of 5%. 19 proteins passed the cut-off: GFAP: Glial fibrillary acidic protein; SPA3K: Serine protease inhibitor A3K; Q8C5H2: Calb1 gene; AP2A1: AP-2 complex subunit alpha-1; Q8C6E3: Catalase; Q545M7: Parvalbumin alpha; Q544B1: Aldehyde dehydrogenase 2 mitochondrial; Q58EV2: ApoA1 protein; EP15R: Epidermal growth factor receptor substrate 15-like; HS105: Heat shock protein 105 kDa; A2ACL9: Neuronal pentraxin 1; D3Z4T6: Neuronal growth regulator 1; CLIC6: Chloride intracellular channel protein 6; THIM: 3-ketoacyl-CoA thiolase, mitochondrial; Q0P5W2: Tmx4 gene; ETFA: Electron transfer flavoprotein subunit alpha, mitochondrial; Q544F6: Coactosin-like protein; K3W4L0: Unconventional myosin-XVIIIa; SEPT6: Septin-6.

Article 2

Résumé de l'article « **Microtubule-associated protein 6 mediates neuronal connectivity through Semaphorin 3E-dependent signaling for axonal growth** »

par JC Deloulme, S Gory-Fauré, F Mauconduit, S Chauvet, **J Jonckheere**, B Boulan, E Mire, J Xue, M Jany, C Maucler, AA Deparis, O Montigon, A Daoust, EL Barbier, C Bosc, N Deglon, J Brocard, E Denarier, I Le Brun, K Pernet-Gallay, I Vilgrain, PJ Robinson, H Lahrech, F Mann & A Andrieux.

Nat Commun. 2015 Jun 3;6:7246. doi: 10.1038/ncomms8246.

Des altérations de l'anatomie cérébrale et des connectivités neuronales ont été observées de nombreuses fois chez des patients atteints de pathologies psychiatriques, dont la schizophrénie (Kanaan et al., 2005; Shepherd et al., 2012; Fitzsimmons et al., 2013). L'intégrité d'un des éléments du cytosquelette, les microtubules, est nécessaire au bon développement du système nerveux et notamment dans la morphologie et la formation des connectivités neuronales. En effet, l'altération de certains régulateurs des microtubules induit des pathologies du développement cérébrales tel que la lisencéphalie et la microcéphalie (Kuijpers and Hoogenraad, 2011; Bradshaw and Porteous, 2012; Bahi-Buisson et al., 2013). Parmi les régulateurs des microtubules, on peut citer MAP1, MAP2, Tau et MAP6.

Les souris déficientes pour la protéine MAP6 (KO-MAP6) sont viables mais présentent des troubles comportementaux. Ces altérations réminiscentes de celles retrouvées chez des patients atteints de pathologies psychiatriques tel que la schizophrénie, sont améliorées suite à la prise d'antipsychotiques (Andrieux et al., 2002; Bégou et al., 2008; Delotterie et al., 2010). En association avec ces altérations comportementales, les souris KO-MAP6 présentent des défauts de l'anatomie cérébrale, telles qu'une forte diminution des projections sérotoninergiques et une diminution de taille du thalamus et du cortex (Fournet et al 2010, Powel et al 2007). Cependant une étude détaillée de la morphologie cérébrale et de l'intégrité des connectivités restait à faire.

Cette étude montre que la délétion de MAP6 cause une réduction du volume cérébral total, avec une augmentation de la taille des ventricules. De plus l'absence de MAP6 entraîne des altérations sévères de la connectivité neuronale. Le défaut de connectivité le plus important est l'absence de la partie post-commissurale du fornix. Le fornix est responsable de la connexion de l'hippocampe à l'hypothalamus, l'absence de MAP6 induit donc une rupture de communication entre ses deux structures et ceci est en accord avec l'hypothèse de dis-connectivité neuronale de la schizophrénie.

Connaissant le rôle essentiel de la sémaphorine 3E (Sema 3E) dans la formation du fornix (Chauvet et al., 2007), le rôle de MAP6 dans la signalisation de la Sema 3E a été analysé. L'étude a montré que MAP6 joue un rôle clef dans cette signalisation. Son absence abolit toute stimulation de la croissance axonale en réponse à la Sema3E. De plus, l'étude montre que le rôle de MAP6 dans cette signalisation est médié par sa capacité à interagir avec des effecteurs connus de type SH3, en aval des récepteurs de la Sema3E. Ainsi ce travail montre un rôle crucial de MAP6 dans la formation d'un tract cognitif, rôle médié non pas par ses propriétés microtubulaires mais plutôt par ses propriétés de signalisation.

Dans le but de démontrer une interaction génétique entre MAP6 et la voie de signalisation Sema 3E, des animaux doubles hétérozygotes pour MAP6 et Sema 3E ont été générés. Nous avons pu ainsi démontrer, un retard du développement de la post-commissure du fornix chez ces doubles hétérozygotes en comparaison des animaux simple hétérozygote correspondants. Mon travail a consisté à développer un protocole d'étude histologique afin de pouvoir visualiser et quantifier le retard de développement du fornix, basé sur des critères neuro-anatomiques. Cette étude a été effectuée dans le cadre de la version révisée de l'article scientifique. Les résultats que j'ai obtenus sont présentés dans la figure S5 de l'article.

ARTICLE

Received 2 Oct 2014 | Accepted 22 Apr 2015 | Published 3 Jun 2015

DOI: 10.1038/ncomms8246

OPEN

Microtubule-associated protein 6 mediates neuronal connectivity through Semaphorin 3E-dependent signalling for axonal growth

Jean-Christophe Deloulme^{1,2}, Sylvie Gory-Fauré^{1,2}, Franck Mauconduit^{1,2}, Sophie Chauvet³, Julie Jonckheere^{1,2}, Benoit Boulan^{1,2}, Erik Mire³, Jing Xue⁴, Marion Jany^{1,2}, Caroline Maucler^{1,2}, Agathe A. Deparis^{1,2}, Olivier Montigon^{1,2,5,6}, Alexia Daoust^{1,2}, Emmanuel L. Barbier^{1,2}, Christophe Bosc^{1,2}, Nicole Deglon^{7,8}, Jacques Brocard^{1,2}, Eric Denarier^{1,2,10}, Isabelle Le Brun^{1,2}, Karin Pernet-Gallay^{1,2}, Isabelle Vilgrain^{2,9,10}, Phillip J. Robinson⁴, Hana Lahrech^{1,2,11,*}, Fanny Mann^{3,*} & Annie Andrieux^{1,2,10}

Structural microtubule associated proteins (MAPs) stabilize microtubules, a property that was thought to be essential for development, maintenance and function of neuronal circuits. However, deletion of the structural MAPs in mice does not lead to major neurodevelopment defects. Here we demonstrate a role for MAP6 in brain wiring that is independent of microtubule binding. We find that MAP6 deletion disrupts brain connectivity and is associated with a lack of post-commissural fornix fibres. MAP6 contributes to fornix development by regulating axonal elongation induced by Semaphorin 3E. We show that MAP6 acts downstream of receptor activation through a mechanism that requires a proline-rich domain distinct from its microtubule-stabilizing domains. We also show that MAP6 directly binds to SH3 domain proteins known to be involved in neurite extension and semaphorin function. We conclude that MAP6 is critical to interface guidance molecules with intracellular signalling effectors during the development of cerebral axon tracts.

¹INSERM, U836, F-38000 Grenoble, France. ²Univ. Grenoble Alpes, Grenoble Institut Neurosciences, F-38000 Grenoble, France. ³Aix-Marseille Université, CNRS, IBDM UMR 7288, 13288 Marseille, France. ⁴Cell Signalling Unit, Children's Medical Research Institute, University of Sydney, Wentworthville, New South Wales 2145, Australia. ⁵Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble, IRMaGe, 38043 Grenoble, France. ⁶CNRS, UMS 3552, 38042 Grenoble, France. ⁷Lausanne University Hospital (CHUV), Department of Clinical Neurosciences (DNC), Laboratory of Cellular and Molecular Neurotherapies (LCMN), 1011 Lausanne, Switzerland. ⁸Lausanne University Hospital (CHUV), Neuroscience Research Center (CRN), 1011 Lausanne, Switzerland. ⁹INSERM, U1036, 38054 Grenoble, France. ¹⁰CEA, IRTSV, F-38000 Grenoble, France. ¹¹CEA, LETI, CLINATEC, MINATEC Campus, F-38054 Grenoble, France. * These authors contributed equally to this work. Correspondence and requests for materials should be addressed to A.A. (email: annie.andrieux@ujf-grenoble.fr) or to J.-C.D. (email: deloulme@ujf-grenoble.fr).

Appropriate adult brain function depends on the complex architecture of neuronal networks and synaptic connections that are elaborated during neurodevelopment. Convergent data show that abnormal anatomical and functional connectivity occurs in the brain of patients suffering from psychiatric diseases such as schizophrenia or bipolar disorder^{1–6}. For proper brain connectivity, neuronal morphogenesis and differentiation requires a coordinated and dynamic organization of cytoskeletal elements, including the microtubular network. Microtubules (MTs) play key roles in these processes and determine axon formation⁷ and regulate the dynamics of dendritic spines⁸. Impairment of certain MT effectors causes severe neurodevelopmental disorders including lissencephaly, double cortex syndrome or microcephaly^{9–11}. Among the MT regulators is a family of structural MAPs, including MAP1, MAP2, Tau and MAP6, which were first described as MT-stabilizing proteins^{12–15}. Acute inhibition of any structural MAP in neuronal cells lines have led to impaired neuritic outgrowth providing the idea that MT stabilization would be crucial for normal neuronal differentiation during brain formation^{16–19}. However and very strikingly, none of the knockout of structural MAP genes has led to lethal phenotypes due to massive neuronal differentiation impairments^{20–23}. These findings raise the possibility of alternative roles of the structural MAPs during neurodevelopment, which still need to be identified.

Within the structural MAPs, MAP6 (also known as STOP for Stable-Tubule-Only-Polypeptide) was first characterized as a MT cold-stabilizing factor whose activity was inhibited by interaction with Ca²⁺-calmodulin²⁴. The two main isoforms of MAP6 MAP6-E, which is expressed during neurodevelopment and in the adult brain, and MAP6-N, which is expressed postnatally^{16,25}, exhibit pronounced axonal localization^{26,27}. MAP6 null mice (MAP6 KO) are viable but display severe behavioural disorders associated with synaptic plasticity impairments and exhibit alterations in multiple neurotransmission^{23,28–30}. Their behavioural and biological alterations resemble schizophrenia-related symptoms, and indeed, long-term treatment with antipsychotic drugs alleviates several of the behavioural and biological defects^{23,31,32}. Their behavioural impairments may also rely on axonal disconnectivity, as some evidence points to structural changes in brain anatomy and connectivity of MAP6-KO mice^{26,28,33,34}. However, a global and detailed analysis of brain alterations is as yet missing.

Here we examined the organization and structural integrity of the white matter in MAP6-KO mice. We found that MAP6 deletion causes severe hypoplasia of cerebral commissures and long-distance projecting axon tracts. The most striking defect is the absence of the post-commissural part of the fornix, producing neuronal disconnectivity between the hippocampus and the hypothalamus. Fornix formation is known to be dependent on signalling by the axon guidance cue *Sema3E*^{35,36}. We demonstrated here that MAP6 plays a pivotal role downstream of *Sema3E* in promoting axonal growth and attractive guidance. MAP6-E binds to components of the *Sema3E* receptor complex and mediates interactions with downstream effectors through a proline-rich domain that is distinct from domains required of MT stabilization. Therefore, MAP6 is crucial for the establishment of functional *Sema3E*-dependent neural circuits via a MAP6 signalling function integrating semaphorin signalling, independent of microtubule binding. This reveals a previously unrecognized signalling function for MAP6, acting as a positional scaffold protein interfacing microtubule network and signalling events triggered by guidance cue receptors for the neuronal wiring.

Results

MAP6 deletion induces reduced brain volume. To examine how MAP6 controls brain organization, we first used *in vivo* magnetic resonance imaging (MRI) to monitor the brain size of MAP6-KO mice from three genetic backgrounds (Fig. 1). Representative coronal T2-weighted images from wild-type (WT) and MAP6-KO mice were used to quantify the whole brain volume (Fig. 1a). Adult MAP6-KO mice from each genetic background showed reduced brain volume: 14% in homogeneous inbred C57BL/6/129 SvPas-F1 mice, 19% in pure 129 SvPas mice and 24% reduction in heterogeneous non-inbred BALBc/129 SvPas-F2 mice, compared with WT littermates (Fig. 1b). A longitudinal study performed on BALBc/129 SvPas-F2 mice showed that the brain volume remained unchanged between 3 and 12 months of age, suggesting that the reduced brain volume was not progressive with age (Fig. 1b). Associated with the volume reduction was a global ventricle enlargement (Fig. 1a,c). All subsequent data were obtained using WT and KO mice on a homogeneous inbred 50% C57BL/6/50% 129SvPas-F1 genetic background. We then used diffusion tensor imaging (DTI) to discriminate between grey matter (GM), mostly composed of neuronal cell bodies, and white matter (WM), mostly composed of myelinated axonal tracts. We focused on the forebrain that encompasses the major limbic cerebral structures implicated in the control of behaviours. Typical maps of fractional anisotropy (FA) values are shown in Fig. 1d, bright structures correspond to high FA values, that is, fibre bundles of WM and dark structures correspond to low FA values, that is, GM and ventricles. In all forebrain images of KO and WT mice, the brain was delineated and the total number of voxels (pixels x thickness of the slice) was calculated for both genotypes. We observed a 15% reduction of voxel number in the forebrain of MAP6-KO mice as compared with WT mice (Fig. 1e), which is in agreement with the 14% total brain volume reduction obtained using anatomical T2-weighted MRI (Fig. 1b). The reduced voxel number in MAP6-KO mice was not homogeneously distributed among FA values, being more pronounced for FA values ranging from 0.3 to 0.6 (Fig. 1f). WM can be discriminated from GM by selecting FA values above 0.35 (Fig. 1g) and in MAP6-KO brains the number of voxels are reduced by 31% ($P = 8.6 \times 10^{-3}$) for FA values above 0.35 (WM) and by 7% ($P = 2.5 \times 10^{-5}$) for FA values below 0.35 (GM) (Fig. 1h). Therefore, MAP6-KO mice exhibit reduction in whole brain volume that is associated with strong deficits in axonal fibre tracts.

MAP6 is required for axonal tracts integrity. We next use the DTI colour map, which graphically illustrates the direction of fibres, to perform a detailed and global examination of axonal tracts within the forebrain (Fig. 2a,b, Table 1). Analysis of FA colour maps from MAP6-KO as compared with WT brains revealed a severe diminution of the size of the corpus callosum (Fig. 2b, Table 1, 25 to 35%), the cingulum (Fig. 2b, Table 1, up to 26%), the internal capsule (not shown, Table 1, 44%), the anterior commissure (not shown, Table 1, 26 to 27%), and the cerebral peduncle (not shown, Table 1, 24 to 34%). Other tract sizes were less affected, such as the fimbria (not shown, Table 1, up to 11%) or unaffected, such as the mammillary tract or the dorsal fornix (Fig. 2b, Table 1). Thus, MAP6 deletion induced a non-uniform alteration of axonal tracts. To avoid a possible under-estimation of tract sizes due to reduction of FA values we performed a classical histological study on coronal forebrain brain sections to accurately measure fibre track size (Fig. 2c and data not shown). Slices were selected based on morphometric landmarks and stained for myelin with gold chloride and Nissl substance with

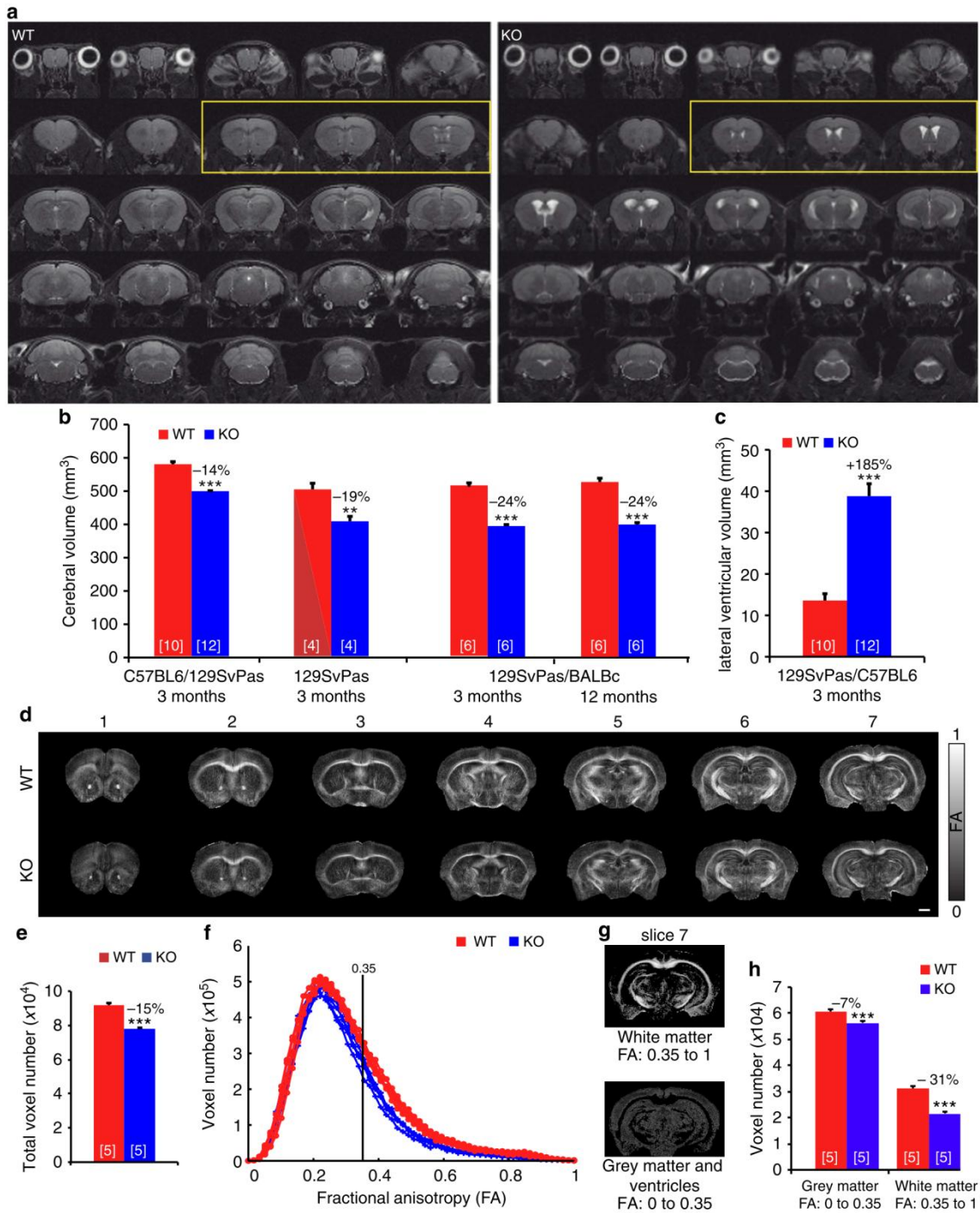


Figure 1 | Reduced brain volume in MAP6-KO mice associated with deficits in axonal fibre tracts. (a) Representative galleries of T2-weighted MRI coronal sections used to determine the whole-brain and lateral ventricle volumes from WT and MAP6-KO mice. All sections were used to determine the cerebral volumes shown in b. Sections in the yellow frame were used to determine the lateral ventricle volume shown in c. (b) Cerebral volume in WT and MAP6-KO mice. A systematic decrease of MAP6-KO mice cerebral volume in different genetic backgrounds. (c) Histogram from MRI data showing ventricle enlargement in MAP6-KO mice. (d) Representative fractional anisotropy (FA) maps of the brains of WT and MAP6-KO. Scale bar, 1 mm. (e) Histogram showing a reduction of total voxel number of MAP6-KO brain. (f) Histograms showing the voxel number distribution according to FA values (the histogram of each mouse is individually plotted). FA threshold of 0.35 is used for white matter segmentation. (g) Typical FA maps segmentation from WT mouse. Image with FA > 0.35 corresponds to the white matter imaging and FA < 0.35 to grey matter and ventricles. (h) Histograms of voxel numbers corresponding to FA < 0.35 and FA > 0.35. In all panels, number of analysed mice is between brackets. Values are given as mean ± s.e.m. Percentages of change between KO and WT are indicated. **P < 0.01; ***P < 0.001 (Student's t-test).

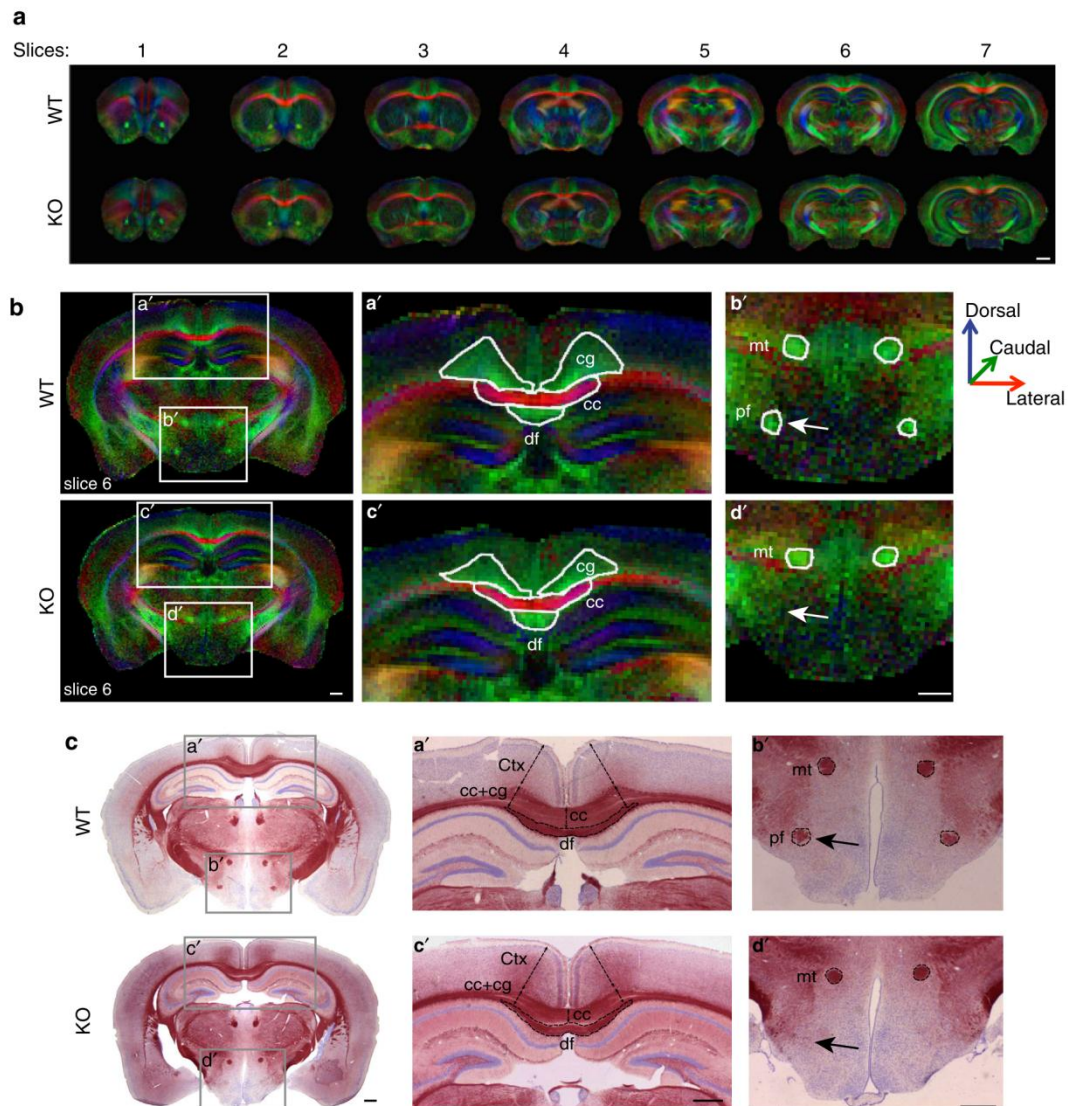


Figure 2 | Axonal tracts are defective in MAP6-KO mice. (a) Representative galleries of FA colour maps in which the colour code indicates the spatial direction of the free diffusion along the axons with medial-lateral (red), ventral-dorsal (blue) and rostral-caudal (green) orientations. Scale bar, 1 mm. (b) Representative FA colour-maps (slices 6 from a) used to draw each axonal tract. FA values and region of interest (ROI) surface areas for each tract are reported in Table 1. Scale bar, 500 μm . (c) Representative coronal brain sections of WT and MAP6-KO forebrain stained with gold chloride and counterstained with cresyl violet used to measure the area and the thickness of axonal tracts and brain regions. Scale bar, 500 μm . Note in panels b' and d' that the post-commissural part of fornix (arrow, pf) is undetectable in the MAP6-KO brain slice after gold staining or DTI images. cc = corpus callosum; cg = cingulum; Ctx = cortex; df = dorsal fornix; mt = mammillary tract and pf = post-commissural fornix.

cresyl violet (Fig. 2c). This analysis revealed that axonal tracts are differentially affected, with a severe reduction of the area for the corpus callosum (Fig. 2c, up to 32%, $P = 7 \times 10^{-5}$), the anterior commissure (not shown, up to 61%, $P = 1.1 \times 10^{-05}$) and of the internal capsule (not shown, up to 49%, $P = 3.5 \times 10^{-05}$), whereas other tracks are less severely affected such as the fasciculus retroflexus (not shown, 29%, $P = 1.4 \times 10^{-3}$) or the fimbria (not shown, up to 23%, $P = 4.0 \times 10^{-3}$).

One striking observation of both FA colour maps and histological slices was the absence of the ventral part of the fornix, defined as the post-commissural fornix (pf) in MAP6-KO brains (Fig. 2b,c, arrows).

To assess fibre integrity, we compared the FA values between WT and MAP6-KO for each axonal tract (Table 1). FA values, for several axon tracts with reduced dimension, including the anterior commissure, the corpus callosum and the cingulum, are significantly affected in KO mice, with an average reduction of 15, 13 and 18%, respectively (Table 1). By contrast, FA values for the cerebral peduncle were not affected, despite size reduction. In addition, FA values of the dorsal fornix, the mammillary tract, the supraoptic and optic tracts were not affected. To properly interpret the FA changes, which are sensitive to myelin integrity, density and to the intra- and extracellular compartment volumes, we used transmission electron microscopy to investigate the

Table 1 | FA values and ROI surface are expressed as mean \pm s.e.m.

Slices	2		3		4		5		6		7		KO
	KO	WT	KO	WT	KO	WT	KO	WT	KO	WT	KO	WT	
<i>Corpus callosum (cc)</i>													
FA		0.60 \pm 0.03	0.53 \pm 0.02 *(-12)	0.61 \pm 0.02	0.53 \pm 0.02 *(-13)	0.64 \pm 0.01	0.50 \pm 0.01 ***(-22)	0.64 \pm 0.02	0.52 \pm 0.01 **(-18)	0.73 \pm 0.02	0.72 \pm 0.02	0.76 \pm 0.02	0.67 \pm 0.01 **(-12)
SURFACE (mm ²)		1.46 \pm 0.06	1.08 \pm 0.07 **(-26)	0.92 \pm 0.05	0.70 \pm 0.02 **(-24)	0.75 \pm 0.04	0.56 \pm 0.03 **(-25)	0.54 \pm 0.05	0.35 \pm 0.03 **(-35)	0.44 \pm 0.21	0.32 \pm 0.04 *(-27)	0.91 \pm 0.06	0.82 \pm 0.07
<i>Cingulum (cg)</i>													
FA				0.41 \pm 0.01	0.33 \pm 0.01 ***(-20)	0.42 \pm 0.01	0.34 \pm 0.01 **(-19)	0.44 \pm 0.01	0.37 \pm 0.01 **(-16)	0.54 \pm 0.01	0.49 \pm 0.02 *(-9)	0.58 \pm 0.02	0.44 \pm 0.02 ***(-24)
SURFACE (mm ²)				0.39 \pm 0.03	0.38 \pm 0.03	0.43 \pm 0.02	0.37 \pm 0.04 **(-26)	0.37 \pm 0.04	0.27 \pm 0.04	0.29 \pm 0.03	0.22 \pm 0.03 *(-24)	0.17 \pm 0.03	0.13 \pm 0.01
<i>Anterior commissure (ac)</i>													
FA	0.71 \pm 0.03 *(-17)	0.59 \pm 0.02	0.68 \pm 0.003 *(-6)	0.64 \pm 0.01	0.47 \pm 0.01 ***(-21)	0.37 \pm 0.02							
SURFACE (mm ²)	0.07 \pm 0.01	0.069 \pm 0.003	0.11 \pm 0.01 *(-27)	0.08 \pm 0.01	0.42 \pm 0.03 *(-26)	0.31 \pm 0.04							
<i>Fimbria (fi)</i>													
FA						0.46 \pm 0.02 *(-20)	0.37 \pm 0.02	0.52 \pm 0.01	0.48 \pm 0.02				
SURFACE (mm ²)						1.91 \pm 0.19	2.15 \pm 0.18	1.18 \pm 0.05	1.05 \pm 0.03 *(-11)				
<i>Internal capsule (ic)</i>													
FA								0.41 \pm 0.01 *(-10)	0.37 \pm 0.008				
SURFACE (mm ²)								1.65 \pm 0.14 **(-44)	0.92 \pm 0.07				
<i>Dorsal fornix (df)</i>													
FA								0.55 \pm 0.01	0.48 \pm 0.05	0.58 \pm 0.03	0.57 \pm 0.03		
SURFACE (mm ²)								0.10 \pm 0.02	0.10 \pm 0.01	0.11 \pm 0.01	0.10 \pm 0.01		
<i>Mammillary tract (mt)</i>													
FA										0.66 \pm 0.02	0.67 \pm 0.04		
SURFACE (mm ²)										0.032 \pm 0.002	0.025 \pm 0.004		
<i>Post commissural fornix (pf)</i>													
FA								0.49 \pm 0.01	ND	0.57 \pm 0.02	ND		
SURFACE (mm ²)								0.032 \pm 0.006	ND	0.032 \pm 0.003	ND		
<i>Supraoptic decussation optic tract (sox/opt)</i>													
FA								0.69 \pm 0.02	0.62 \pm 0.04	0.81 \pm 0.01	0.70 \pm 0.04		
SURFACE (mm ²)								0.35 \pm 0.03	0.24 \pm 0.01 *(-31)	0.29 \pm 0.03	0.20 \pm 0.04		
<i>Cerebral peduncle (cp)</i>													
FA										0.78 \pm 0.02	0.77 \pm 0.02	0.70 \pm 0.02	0.70 \pm 0.05
SURFACE (mm ²)										0.58 \pm 0.02	0.44 \pm 0.03 **(-24)	0.71 \pm 0.02	0.47 \pm 0.01 ***(-34)

Abbreviations: FA = fractional anisotropy; KO = knockout; ND = not determined; WT = wild type; ROI = region of interest. Percentages of significant changes between WT and KO mice are indicated in parentheses. $n = 5$ WT and 5 KO. Student's t -test: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$.

microstructure of fibres from the corpus callosum. No ultra-structural axonal differences were evident (Supplementary Fig. 1a). Quantification of the thickness and perimeter of myelin sheaths as well as of myelinated axonal surfaces revealed no difference between WT and MAP6-KO axons (Supplementary Fig. 1b). Thus, FA changes indicate possible axonal density reduction with an increase of extra-axonal compartment volume or defasciculation defects in some tracts rather than myelination defects.

Altogether this analysis indicates that MAP6 deletion induces heterogeneous defects affecting both the size and the integrity of the axonal tracts and highlighted an apparently specific function of MAP6 in one specific tract: the post-commissural fornix.

MAP6 is required for fornix integrity. The post-commissural fornix is the major efferent pathway of the hippocampal projection that originates from the subiculum³⁷ and terminates at the posterior hypothalamus in the mammillary body (Fig. 3a). To characterize in greater detail the changes in the anatomy of the post-commissural fornix in adult, the *Thy1-eYFP-H* transgene^{38,39}, which is expressed by subicular neurons, was introduced in MAP6-KO mice by breeding. On coronal sections

of hippocampal formation including the dorsal subiculum (DS) from WT/ *Thy1-eYFP-H* and MAP6 KO/*Thy1-eYFP-H* adult mice, subicular neurons expressing eYFP were comparably distributed in the subiculum of both genotypes (Supplementary Fig. 2a,b) without change in density (Supplementary Fig. 2c). This indicates that subicular neurons, which project their axons in post-commissure, persist in MAP6-KO mice.

To visualize the entire fornix and analyze its axon bundling, we prepared sagittal slices with a cutting angle of 30° (Fig. 3b, coronal diagram). Panoramic views showed that the dorsal and the pre-commissural fornices, which contain fibres from Ammon's horn and septal part of the subiculum, are similar in WT and MAP6-KO mice (Fig. 3b, green framed panels). In contrast, the post-commissural fornix was shorter and thinner in MAP6-KO brain (Fig. 3b; green framed panels; observed in 3/3 MAP6-KO mice). Many MAP6-KO axons split unusually off from the fornix pathway and exhibit a chaotic organization with disordered and defasciculated axons as compared with WT (Fig. 3b, orange and blue framed panels). Accordingly, electron microscopy analysis of micro-dissected post-commissural fornices revealed clear axonal bundle defects in MAP6-KO brains (Fig. 3c). In MAP6-KO mice, most of the fornix fibres terminate scattered in the anterior hypothalamus, with only very few of

them able to reach their final target, the mammillary body (Fig. 3b, yellow framed panels and Supplementary Fig. 2d–g).

We then examined the morphology of single axons from the fornix by performing stereotaxic injections of lentivirus expressing GFP into dorsal subiculum neurons (Fig. 3d). WT mice exhibit straight axonal projections with a smooth aspect, while MAP6-KO projections are abnormal, more tortuous and present many varicosities (Fig. 3e,f; observed in 3/3 MAP6 KO mice). Again, in MAP6-KO mice, only very few fibres reach the mammillary body (Fig. 3g).

Together these results demonstrate a clear neuronal discontinuity in adult MAP6-KO mice brain, with the subiculum not properly connected to the hypothalamus.

MAP6 regulates the embryonic development of the fornix.

We next asked whether defects in the descending post-commissural fornix reflect abnormal development or neurodegenerative processes. For this, we analysed the post-commissural fornix during neuro-development at embryonic day (E) 18.5 when the post-commissural fibres have reached their targets in the mammillary bodies. WT and MAP6-KO forebrains were double-immunostained with antibodies against the ubiquitous L1-CAM axonal marker and neuropilin1 (Nrp1), a semaphorin receptor enriched in subicular projections³⁶. Results reveal that the post-commissural fornix is altered in KO embryos with a progressive reduction of axonal density from the column to the post-commissural part of the fornix and an absence of axonal projections after the anterior commissure (Fig. 4a and Supplementary Fig. 3; phenotype observed in 4/4 MAP6-KO mice and 0/4 WT mice). Similar results were obtained using DiI tracing of subicular neurons (Fig. 4b–e, phenotype observed in 2/2 MAP6 KO and 0/3 WT mice). Altogether, the post-commissural fornix does not form properly during neurodevelopment in the absence of MAP6 protein.

MAP6 is involved in *Sema3E*- growth promoting activity. The absence of the postcommissural fornix in MAP6 KO is reminiscent of the phenotype of *Sema3E*-KO embryos³⁶. *Sema3E* acts as an attractive and growth-promoting signal for axons of subicular neurons³⁶. We therefore evaluated MAP6 function in the axonal response to *Sema3E* in cultured subicular neurons, which predominantly expressed the MAP6-E isoform (Supplementary Fig. 4a).

As previously reported³⁶, application of *Sema3E* (5 nM) to WT cultured subicular neurons electroporated with siRNA control for

24 h, induced a 1.3-fold increase in axon length (Fig. 5a). When subicular neurons were treated with MAP6 siRNAs to knockdown MAP6 proteins (Supplementary Fig. 4b) they failed to respond to *Sema3E* (Fig. 5a). The co-electroporation of siRNAs and a cDNA coding for MAP6-E (resistant to siRNA) rescued the stimulation effect of *Sema3E* (Fig. 5a). Experiments performed with WT and MAP6-KO subicular neurons yielded to similar results with a 1.5-fold increase in the axon length in WT and no response in MAP6-KO neurons (Fig. 5b). The transfection of MAP6-E cDNA into MAP6-KO subicular neurons fully rescued the growth-promoting activity of the *Sema3E* (Fig. 5c). To determine whether MAP6 is involved in axonal guidance, explants of subiculum from WT and MAP6 KO brains were co-cultured with aggregates of HEK293T17 cells expressing *Sema3E* (Fig. 5d). Whereas WT subicular axons were attracted to *Sema3E*, MAP6-KO axons were unresponsive to this cue. These results clearly indicate that MAP6 protein contributes to the *Sema3E*-induced growth and guidance of subicular axons.

Sema3E is a bifunctional molecule, which in addition to its promoting effect on subicular axons can also inhibit growth of cortical axons³⁶. However, despite a similar expression pattern of MAP6 isoforms between cultured subicular and cortical neurons (Supplementary Fig. 4a), the inhibition of MAP6 expression using siRNAs or the absence of MAP6 in KO neurons did not alter *Sema3E* responsiveness of cultured cortical neurons (Fig. 5e,f).

Together these results indicate a specific role for MAP6 in the growth promoting and attractive activity of *Sema3E* on subicular neurons and not in cortical neurons.

To estimate a possible *in vivo* genetic cooperation between MAP6 and *Sema3E* during fornix development, we performed analyses of trans-heterozygous animals. The fornix was analysed, from anterior commissure to mammillary bodies at P1. A strong delay of fornix formation was observed in double *Sema3E*/MAP6 heterozygous animals stronger than in single MAP6 or *Sema3E* heterozygous mice (Supplementary Fig. 5a–c). Furthermore, the defect in post commissural fornix persisted in P21 double heterozygous with a strong defasciculation (Supplementary Fig. 5d, arrows).

The fornix defects found in double heterozygous animals, but not in single heterozygous mice, are strong indicators of *in vivo* cooperation of MAP6 and *Sema3E* during fornix development.

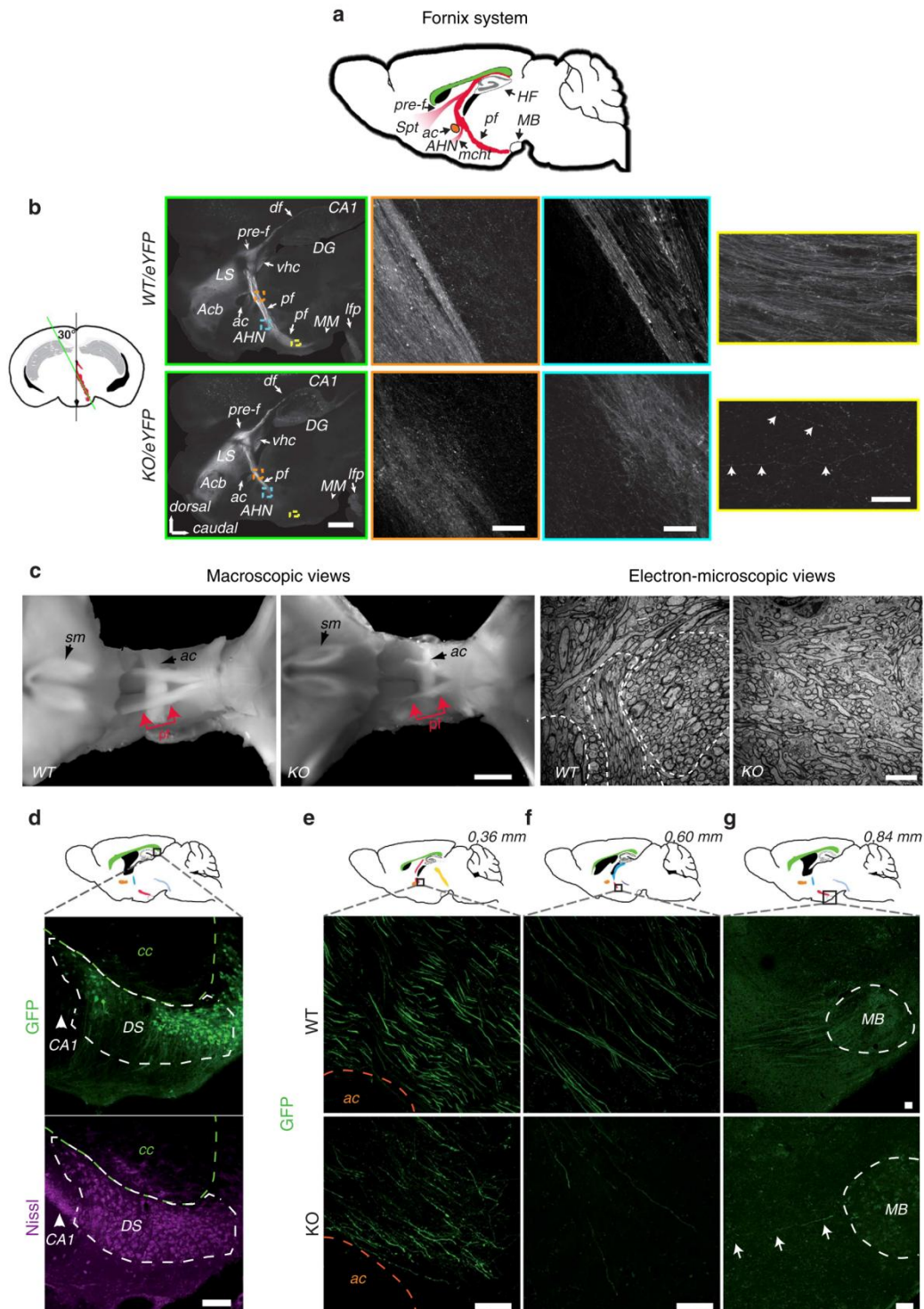
The *Sema3E* receptors are functional in MAP6-KO mice.

To begin to understand the mechanism by which MAP6 controls axonal response to *Sema3E*, we examined the expression of the

Figure 3 | Disruption of the post-commissural fornix in MAP6-KO mice. (a) Schematic representation of the fornix system (in red) on a sagittal diagram. (b) Diagram showing in red, the projection stack of post-commissural fornix. The green line indicates the plane of the transverse sections (30°) shown in panels framed in green. Panoramic views of epifluorescence observed in WT/Thy1-eYFP-H (upper) and MAP6-KO/Thy1-eYFP-H brains (lower) are shown in green framed panels, scale bar, 1 mm. Orange, blue and yellow-framed panels represent confocal images corresponding to coloured squares drawn in the panoramic view. Images are the maximal projection stack of 10 confocal sections, separated by 0.95 µm. In yellow framed panels, arrows indicated the presence of some rare axonal projections reaching the mammillary body. Scale bars, 20 µm. (c) Dorsal macroscopic views showing the hypoplasia of MAP6-KO post-commissural fornices. Portions of post-commissural fornix used for electron microscopy studies are indicated in red, scale bar, 0.5 mm. Representative electron-microscopic views of transverse sections of post-commissure fornices of WT and MAP6-KO mice. In WT tight clusters of axons can be seen (dotted areas) not in MAP6-KO mice, scale bars, 5 µm. (d) A schematic sagittal section indicates the site of lentivirus stereotaxic injection in dorsal subiculum (square). Confocal images of the injection site (2 weeks post injection) show GFP-expressing pyramidal neurons in dorsal subiculum (green) and Nissl counterstaining (cyan). Scale bar, 100 µm. (e–g) Schematic diagrams of sagittal planes at 0.36, 0.60 and 0.84 mm interaural code indicate the position of microscopic fields corresponding to confocal images (black square). Major neuronal tracts are schematized (colour code in Supplementary Fig. 3). Confocal images show the post-commissural axonal projections expressing GFP (green) in WT and MAP6-KO mice. In MAP6-KO mice, only some rare axons reached the mammillary body (g, arrows). Scale bars, 40 µm. Acb = accumbens nucleus; ac = anterior commissure; AHN = anterior hypothalamic nucleus; CA1 = field Corn d'Ammon1 of the hippocampus; df = dorsal fornix; DS = dorsal subiculum; DG = dentate gyrus; HF = hippocampal formation; LS = lateral septal nucleus; mcht = medial corticohypothalamic tract; lfp = longitudinal fasciculus of the pons; MB = mammillary bodies; MM = medial mammillary nucleus medial part; pre-f = pre-commissural fornix; pf = post-commissural fornix; sm = stria medularis; Spt = septum; vhc = ventral hippocampal commissure.

Sema3E receptor complex in MAP6-KO mice. Attractive effect of Sema3E on axonal growth depends on binding to a receptor complex composed of PlexinD1 (PlxD1), Neuropilin1 (Nrp1) and the vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR2); PlxD1 being the binding subunit and VEGFR2 the signal

transducing subunit³⁵. We determined PlxD1 receptor expression in the subiculum of WT and MAP6 KO E17.5 embryos by *in situ* hybridization and found no obvious differences (Fig. 6a). Accordingly, we observed a clear binding of Sema3E-alkaline phosphatase fusion protein (Sema3E-AP) to brain sections of WT



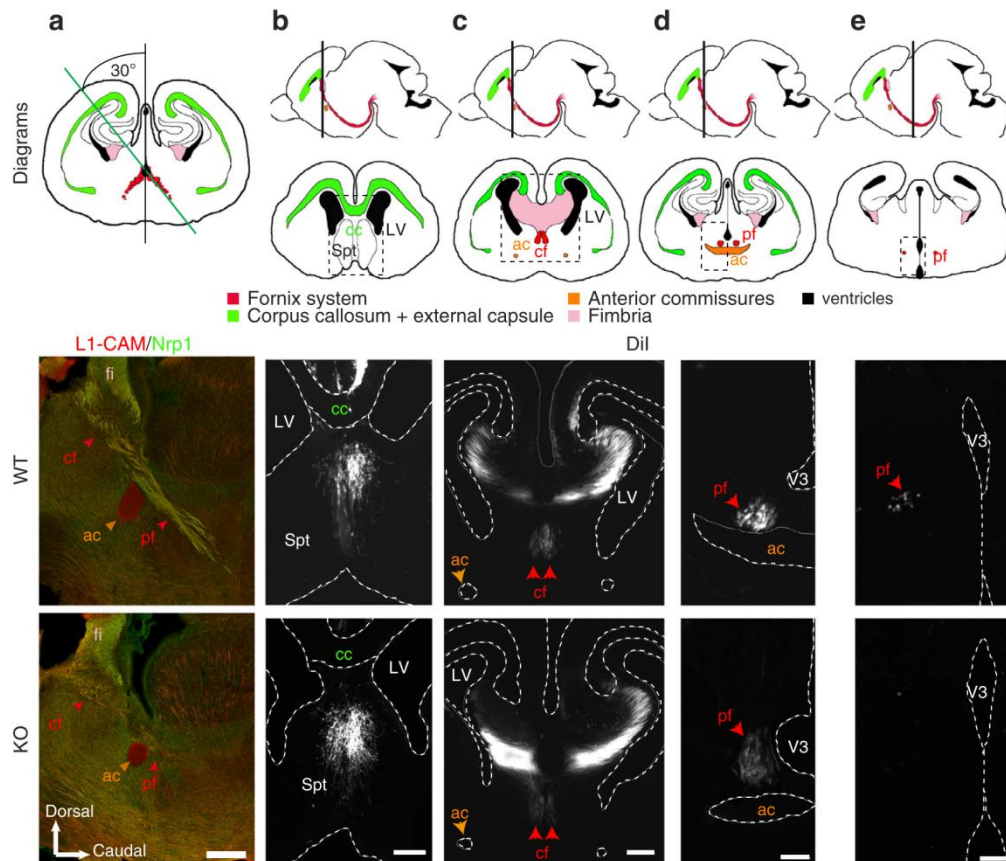


Figure 4 | Absence of the post-commissural fornix in E18.5 MAP6-KO embryos. (a) Sagittal sections with a cutting angle of 30° of E18.5 WT and KO brain were double immunostained with anti L1 CAM and Neuropilin1 (Nrp1). A diagram shows the projection stack of post-commissural fornix in red on a coronal plan. The green line indicates the plane of the sagittal sections. Note that the size of the anterior commissure is strongly reduced and the post-commissural fornix is absent. Scale bars, 300 μ m. (b-e) Coronal section of E18.5 WT and MAP6-KO brain after anterograde Dil tracing of the fornix from the subiculum. For each panel, a sagittal diagram shows the projection stack of post-commissural fornix in red and a grey line indicates the level of coronal plan. Dashed square indicates the position of microscopic field. Scale bars, b, c 100 μ m; d, e 50 μ m. ac = anterior commissure; cc = corpus callosum; cf = column of the fornix; fi = fimbria; LV = lateral ventricle; pf = post-commissural fornix; Spt = septum; V3 = third ventricle.

and MAP6-KO embryos. Sema3E-AP labelled several axonal tracts, including anterior commissure, mammillo-thalamic tract and post commissural part of the fornix (Fig. 6b), although the staining was less intense in MAP6-KO brain slices due to the size reductions of axonal tracts. Thus, Sema3E can properly bind to its receptor in MAP6-KO brain. We then investigated the expression pattern of PlxD1, Nrp1 and VEGFR2 proteins, in MAP6-KO subicular neurons by quantitative immunofluorescence (Fig. 6c). In the absence of MAP6, PlxD1, Nrp1 and VEGFR2 expression levels were not altered (Fig. 6c).

In subicular neurons, Sema3E initiates intracellular signalling through VEGFR2, with phosphorylation of VEGFR2 tyrosine-1175 being an early event³⁵. Using quantitative immunofluorescence, we found that Sema3E exposure increases VEGFR2 phosphorylation in both WT and MAP6-KO neurons (Fig. 6d). Therefore, the functional defect in MAP6-KO subicular neurons is likely to occur in post-receptor signalling.

MAP6 interacts with components of the Sema3E receptor complex. We next looked for a possible interaction of MAP6 with the Sema3E receptor complex. PlxD1, Nrp1 and VEGFR2 cDNAs were simultaneously expressed in HEK293T17 cells in

combination with MAP6-E-GFP. In PlxD1 immunoprecipitates, we were able to detect Nrp1, VEGFR2 and MAP6-E-GFP proteins (Fig. 7a and Supplementary Fig. 6). Similar results were obtained when the immunoprecipitation was performed with an Nrp1 antibody (Supplementary Fig. 7a). In additional experiments PlxD1, Nrp1 and VEGFR2 cDNAs were individually expressed in HEK293T17 cells in combination with MAP6-E-GFP. We were able to detect MAP6 protein in PlxD1, Nrp1 and VEGFR2 immunoprecipitates (Supplementary Fig. 7b). We next determined whether the interaction of MAP6 with the Sema3E receptor occurs in cultured subicular neurons. Indeed, we were able to detect Nrp1 in MAP6 immunoprecipitates (Fig. 7b and Supplementary Fig. 7c). In control experiments using MAP6-KO neurons, Nrp1 was not detected. Together the data indicate that MAP6 is associated with the Sema3E tripartite receptor.

MAP6 proline-rich domains and Sema3E promoting growth ability. To determine whether MAP6 participates in Sema3E signalling through its MT-binding inactivity we performed rescue experiments on cultured MAP6 KO subicular neurons using GFP-tagged MAP6-E mutants (Fig. 7c and Supplementary Fig. 8). As found previously (Fig. 5c), MAP6-E-GFP was able to rescue

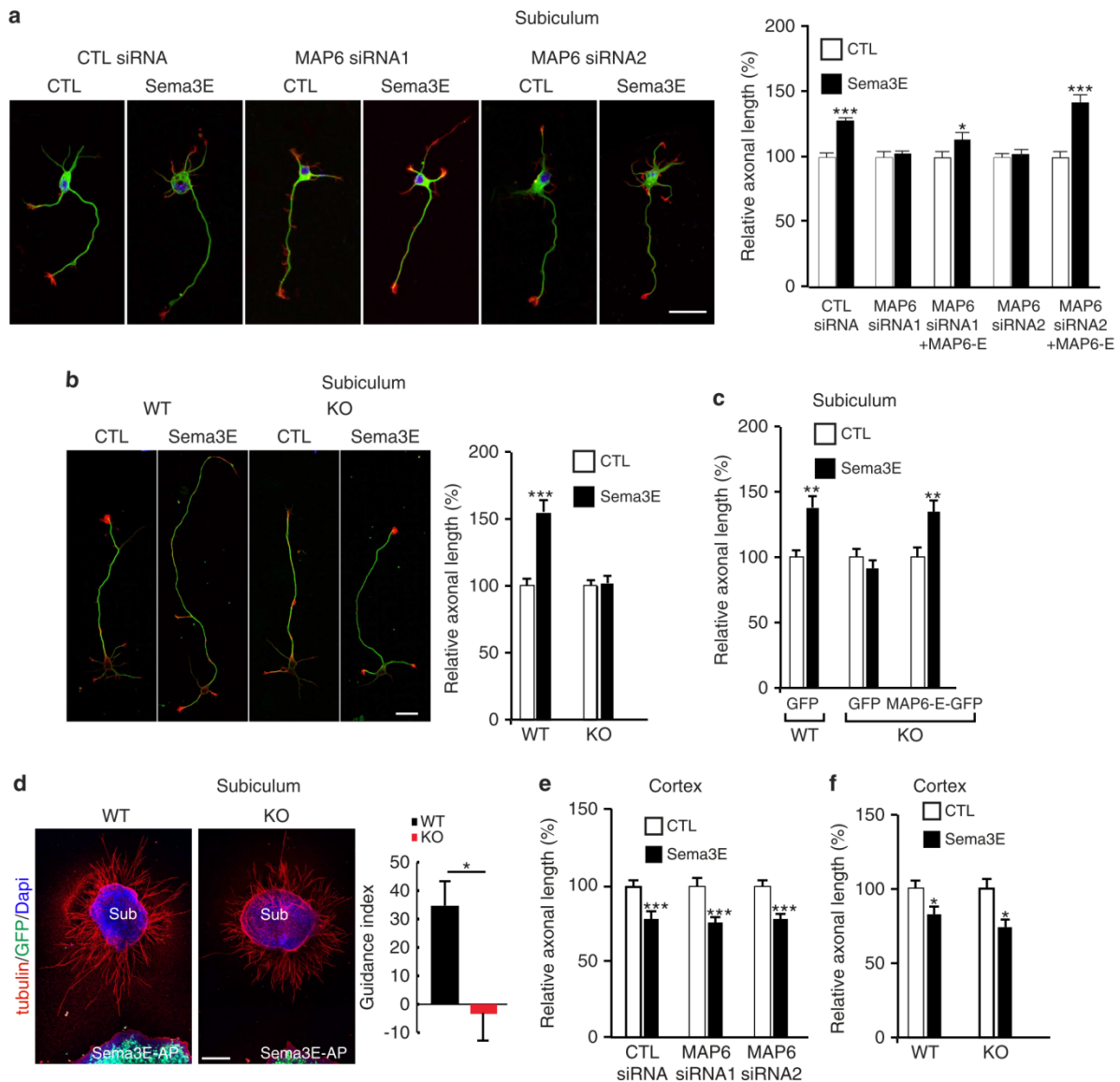


Figure 5 | MAP6 is required for the growth-promoting activity of Sema3E on subicular neurons. (a) Typical images of subicular neurons cultured in the absence (CTL) or in the presence of 5 nM Sema3E for 24 h, electroporated with GFP-expressing vector and control siRNA or MAP6 siRNAs. To measure the axon length, neurons were stained with anti- α -tubulin (green) and phalloidin (red). Scale bar, 30 μ m. The histogram shows quantifications of the relative axonal length in subicular neurons in the absence (CTL) or the presence of 5 nM recombinant Sema3E (Sema3E). Error bars, s.e.m., values corresponded to mean axonal length (measured in at least 60 neurons for each condition) and normalized to 100% for values obtained in control conditions. (b) Typical images of WT and MAP6-KO dissociated subicular neurons cultured in the absence (CTL) or the presence of 5 nM Sema3E. Scale bar, 30 μ m. The histogram shows quantifications of relative axonal length of cultured subicular neurons in the absence (CTL) or the presence of 5 nM recombinant Sema3E. Error bars, s.e.m., values corresponded to mean axonal length (measured in at least 60 neurons for each condition) and normalized to 100% for values obtained in control conditions. (c) The histogram shows quantifications of relative axonal length after exogenous expression of rat MAP6-E-GFP. Error bars, s.e.m., values corresponded to mean axonal length (measured in at least 60 neurons for each condition) and normalized to 100% for values obtained in control conditions. (d) Sema3E axonal guidance response. Representative images of subiculum (Sub) explants from E17.5 WT or KO embryo co-cultured in a plasma clot with an aggregate of HEK cells transfected with Sema3E-AP and GFP. Scale bar, 200 μ m. Quantification of the guidance response, graph shows mean guidance index (see methods) calculated for each condition (WT, $n = 11$ and KO, $n = 8$). Positive values indicate attraction. (e) Quantifications of axonal length in cultured cortical neurons in the absence or the presence of 5 nM recombinant Sema3E electroporated with GFP-expressing vector and control siRNA or MAP6 siRNAs. Error bars, s.e.m. Values corresponded to mean axonal length (measured in at least 60 neurons for each condition) and normalized to 100% for values obtained in control conditions. (f) Quantifications of axonal length in cultured WT and MAP6-KO cortical neurons in the absence (CTL) or the presence of 5 nM recombinant Sema3E. Error bars, s.e.m., values corresponded to mean axonal length (measured in at least 60 neurons for each condition) and normalized to 100% for values obtained in control conditions. All quantifications have been repeated at least three times using independent neuronal cultures yielding consistent results. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; Student's t -test (5a,b,c,e,f); non-parametric Mann-Whitney U -test (5d).

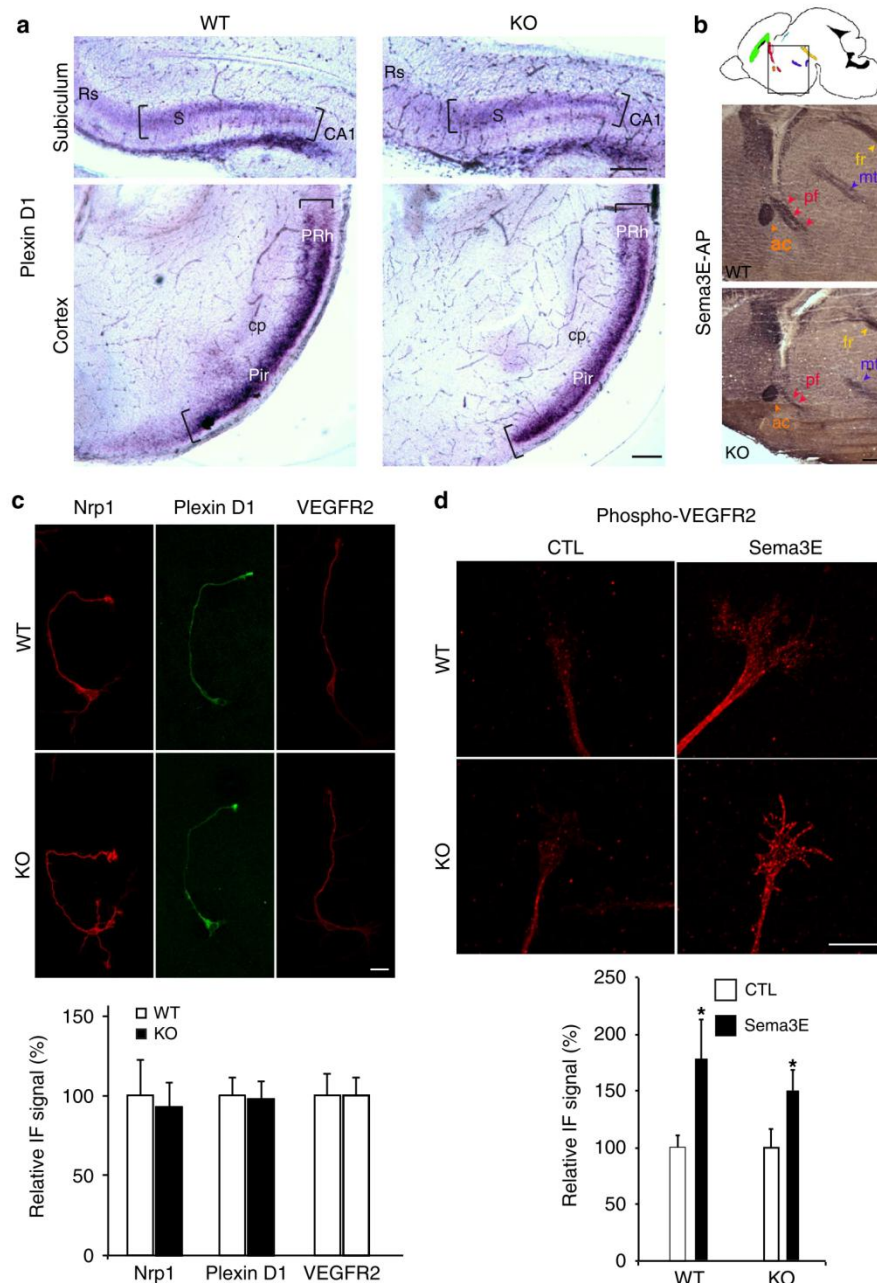


Figure 6 | The Sema3E receptors (PlexinD1/Neuropilin1/VEGFR2) expression in developing MAP6-KO brain and in cultured subicular neurons. (a) Coronal brain slices of WT and MAP6-KO E17.5 embryos were hybridized with probes for PlxD1. PlxD1 mRNA is expressed in the subiculum and in the ventrolateral part of the cortex including the piriform cortex and the perirhinal cortex. Scale bar, 100 μ m. S = subiculum; CA1 = Ammon's Horn; cp = cerebral peduncle; Rs = retrosplenial cortex; Pir = piriform cortex; PRh = perirhinal cortex. **(b)** Binding of sema3E along the fornix. Schematic diagram of a sagittal section with major neuronal tracts indicated (colour code in supplementary Fig. 3). The square indicates the position of microscopic field shown below. The atrophic fornix post-commissural part (pf) observed in MAP6-KO embryos binds Sema3E-AP. **(c)** Immunolabelling of subicular neurons using anti-PlxD1, -Nrp1 and -VEGFR2 antibodies. Histogram shows quantification of the relative immunofluorescence signal. The values represent the mean pixel intensity of the staining (number of neurons \geq 60). Scale bar, 20 μ m. **(d)** Immunolabelling of growth cones from subicular neurons using anti-phosphotyrosine antibody to Tyr1175 in VEGFR2 after 15 min of treatment with 10 nM of Sema3E. Histogram shows the mean pixel intensity of phospho-VEGFR2 staining relative to CTL conditions (number of growth cones \geq 20). Scale bar, 10 μ m. Error bars, s.e.m. * P < 0.05 Student's *t*-test.

growth-promoting activity of Sema3E, whereas GFP control protein could not rescue (Fig. 7c). We then designed MAP6-E mutants devoid of MT-binding domains and evaluated their

ability to rescue the growth-promoting activity of Sema3E. MAP6 proteins contain two types of MT-binding domains, the Mc modules in the central domain (in grey, Fig. 7c) and the Mn

modules (in orange, Fig. 7c). As expected mutant lacking both sets of modules, MAP6-E- Δ Mn Δ Mc-GFP, failed to bind MTs (Supplementary Fig. 8). However, this mutant rescued the growth-promoting activity of Sema3E (Fig. 7c). Similarly, MAP6-E lacking either MT-binding domain Mn or Mc (MAP6-E- Δ Mn-GFP or MAP6-E- Δ Mc-GFP) also rescued the growth-promoting activity of Sema3E (Fig. 7c). These results clearly indicate that MAP6 ability to bind MTs is not required for its role in Sema3E growth promotion.

MAP6 interacts with SH3 domain containing proteins. Sema3E growth promotion involves VEGFR2 activation, which triggers the recruitment and the activation of SH2 and/or SH3 domain containing proteins such as PI3K^{35,40,41}. In its N-terminal domain, MAP6-E contains stretches of proline residues, which are likely candidates for interaction with SH3-containing proteins, and it is known that MAP6 binds to the SH3-A domain of intersectin⁴². We therefore deleted a proline-rich domain (PRD) of MAP6-E (MAP6-E- Δ PRD₃₉₋₅₇). This mutant retains a MT-binding activity (Supplementary Fig. 8) but failed to rescue the growth-promoting activity of the Sema3E (Fig. 7c). Therefore, the ability of MAP6 to mediate Sema3E signalling via Plx/D1/Nrp1/VEGFR2 requires the proline-rich domain (PRD₃₉₋₅₇) and suggests that MAP6 interaction with SH3 domain-containing proteins is crucial for Sema3E growth-promoting activity.

We then performed a large screen to identify SH3 domain-containing proteins able to interact with MAP6 (Fig. 7d and data not shown). Lysates of isolated mouse brain were incubated with a variety of recombinant GST-SH3 protein domains. The two neuronal MAP6 isoforms (MAP6-E and MAP6-N) that both contain the PRD domain interacted with a broad range of SH3 domains to markedly varying extents. MAP6 strongly interacted with two SH3 domains of intersectin1 (ITSN1) and with the p85 subunit of PI3K (Fig. 7d), a protein involved in the neuronal VEGFR2 signalling pathway³⁵.

We further analysed MAP6 interaction with intersectin1 and the p85 subunit of PI3K using the converse pull-down assays. A fragment of MAP6 protein corresponding to the N-terminal part of the protein (LNt fragment) that contains the proline-rich domain (PRD₃₉₋₅₇) coupled to GST was produced. Analysis of pull-downs performed with brain lysates revealed that GST-LNt fragment associated with intersectin1 isoforms and with the p85 subunit of PI3K (Fig. 7e). Furthermore, as p85 subunit of PI3K is endogenously expressed in HEK 293T17 cells, we analysed its presence in MAP6 immunoprecipitates performed on HEK 293T17 cells and detected it as shown in Supplementary Fig. 7d. As the PI3K effector, Akt is phosphorylated in the Sema3E pathway³⁵, we then measured Akt phosphorylation following Sema3E exposure in WT and MAP6-KO subicular neurons. While Sema3E application increased the phosphorylation of Akt in WT neurons, it had no effect on MAP6-KO neurons (Fig. 7f). These results suggest that following Sema3E exposure, MAP6 might couple the Sema3E receptors to PI3K for activation of the Akt pathway.

Discussion

Our study reveals a signal transduction role for MAP6, a protein previously known mainly for its MT stabilization ability, in promotion of axon growth in specific axon tracts in the developing brain. MAP6 associates with the Sema3E receptor complex and MAP6 PRD₃₉₋₅₇ domain is crucial for Sema3E signalling. The ability of MAP6 to interact with multiple SH3 domain-containing proteins including PI3K and intersectin, known to be triggered in signalling cascades after Sema3E

receptors activation, is most probably crucially involved in Sema3E signalling. This signalling role for MAP6 explains the specific phenotype observed in MAP6-KO mice. The mice did not exhibit generalized deficits expected to be associated with loss of MT stabilization, but rather they fail to develop a highly specific axonal tract involved in cognitive deficits due to the loss of MAP6's ability to transduce signals from the Sema3E receptors complex in subicular neurons. Our data potentially explain the cognitive defects in MAP6-KO mice and highlight the major role of this signalling pathway in a key element of brain development.

MAP6-KO mice displayed a large spectrum of behavioural and cognitive impairments associated with neurotransmission and synaptic alterations^{23,28,30,43}, which have been shown to positively respond to long-term typical and atypical neuroleptic treatment^{23,31,32}. These features are reminiscent of human psychiatric diseases and MAP6-KO mice have been proposed to be a useful animal model for some aspects of the pathophysiology of psychiatric diseases including schizophrenia. Before the present study, nothing was known about how MAP6 contributes to these key neurodevelopmental processes. By performing the first precise analysis of MAP6-KO mice brain anatomy, we showed that MAP6 deletion strongly reduced brain volume and is accompanied by ventricle enlargement. Alteration of brain size is well documented in human psychiatric disorders^{1,2}. Our general DTI data showed that the reduction of brain volume is associated with white matter defect, affecting several axonal tracts within the brain. Similar white matter abnormalities and related abnormal connectivity are also found in some brain regions of schizophrenic or bipolar patients³⁻⁶. This suggests that the anatomical changes observed in MAP6-KO mice may account for their schizophrenia-like behavioural and cognitive impairments.

Images from DTI and histological analyses revealed key defects in neuronal connectivity in MAP6-KO mice. Indeed, some axonal tracks such as the anterior commissure, the internal capsule, the cerebral peduncle and the fornix are severely affected either in their size and/or in their microstructures as detected by FA changes. The fornix is mostly composed from the axons of subicular neurons and was the most deficient tract, with a quasi disappearance of the post-commissural part. The inability of subicular neurons to sense Sema3E signalling in the MAP6-KO mice is likely to be the main contributor to the posterior fornix defect. Indeed, subicular neurons failed to respond to Sema3E growth promoting activity and axonal guidance. Furthermore the double Sema3E/MAP6 heterozygous animals exhibited a delay in fornix formation and a strong defasciculation in the posterior part of the fornix in adult mice. The fornix defects in MAP6-KO brain are more severe than those observed in Sema3E-KO mice, which exhibit only latency in fornix formation associated with a defasciculation, strongly suggesting that additional molecular defects might be involved.

Our results indicate that MAP6 is not involved in the repulsive growth activity of Sema3E on cortical neurons; however, some cortical tracts were found abnormal with defasciculation (corpus callosum, internal capsule) indicating possible additional functions for MAP6.

Fornix disruption in MAP6-KO brains resulted in a disconnection between the hippocampus and the hypothalamus and this impaired connectivity most likely contributes to the observed behavioural disorders. The fornix belongs to the Papez circuit known to be involved in cognitive and memory abilities for review⁴⁴. MRI and in particular DTI methods in humans report similar connectivity defects in schizophrenic patients with disrupted fornix integrity⁴⁵⁻⁴⁹ associated with alterations of resting state functional connectivity⁵⁰ and defective memory organization^{51,52}. Other links between abnormal neuronal axonal

tract formation and specific genes have been reported in both animal models and patients. For example, defective schizophrenia-related genes such as *DISC1*^{53,54}, *dysbindin*^{55,56} and *neuregulin*⁵⁷ are linked to abnormal brain connectivity. Thus, abnormal tract formation and white matter defects, easily detectable by the DTI technique in humans, might be seen as a convergent consequence of a specific gene mutation in psychiatric disorders.

Sema3E binds to the PlexinD1 receptor both in cortical and subicular neurons, but signalling from here depends on a variety of co-receptor configurations. Thus, in cortical neurons PlexinD1 receptors act alone and promote growth cone collapse mainly through deactivation of R-Ras⁵⁸. In contrast, Plexin D1 in subicular neurons is associated with both Neuropilin1 and VEGFR2, the signalling component being VEGFR2 rather than PlexinD1. MAP6-KO cortical neurons responded normally to Sema3E, whereas the subicular neurons did not respond, indicative of a defect in the VEGFR2 transducing pathway. We found that Sema3E is unable to trigger the PI3K/Akt pathway in MAP6-KO neurons, which is required for increased axonal growth. Our results suggest Sema3E binding to the extracellular domain of Plexin D1 allows the transactivation of VEGFR2 as indicated by its auto-phosphorylation, and the binding of MAP6 to the tripartite PlxD1/Nrp1/VEGFR2 receptor. Furthermore, MAP6, through a proline-rich domain, can recruit to the receptor some signalling SH3 domain-containing proteins, including the p85 subunit of PI3K, to facilitate lipid phosphorylation and consequent recruitment and activation of the Akt kinase signalling pathway for the promotion of axonal growth.

MAP6 protein contains several stretches of proline residues and we demonstrate the importance of the PRD₃₉₋₅₇ domain in Sema3E signalling. We also showed that MAP6 is able to interact with several SH3 domains-containing proteins, including intersectin1 and p85 (PI3K). This ability of MAP6 to bind SH3 domains-containing proteins is shared with other structural MAPs. MAP2 and tau bind SH3 domain proteins such as Grb2, Fyn and cSrc⁵⁹⁻⁶¹ but the physiological relevance of such interactions for neuronal function has never been clearly established. In the case of MAP6, we identify a physiological mechanism that involves the interaction between a structural MAP and SH3 domain signalling proteins. Indeed the PRD₃₉₋₅₇ domain of MAP6 is required to allow Sema3E growth-promoting activity on subicular neurons and fornix formation. By interacting with the tripartite PlxD1/Nrp1/VEGFR2 receptor and SH3 domain proteins, MAP6 might couple receptor activation to downstream Akt signalling pathways, providing a potential molecular explanation for its novel role in development of the fornix.

The requirement of MAP6 protein for proper axonal extension of subicular neurons through the integration of guidance cues might be shared by other MAPs. Indeed some MAPs have been

reported to influence axonal growth and axonal tracts formation such as doublecortin and MAPIB, which regulate hippocampal and corpus callosal development^{62,63}, but the implication or not of their ability to bind MTs in these functions was not specifically analysed.

Overall, our study demonstrates a new axon guidance cue integration role for MAP6 in mediating signal transduction from a specific PlxD1/Nrp1/VEGFR2 receptor complex that mediates axonal growth in neurons possessing this unique receptor combination. MAP6 signalling is required for growth of a subset of brain neurons, notably the subicular axons, which in turn are required for wiring of the post-commissural part of the fornix during brain development. Together our data implicate MAP6 in neurodevelopment of specific brain axon tracts that are involved in cognitive abilities throughout life.

Methods

Animals. Homogeneous inbred C57BL6/129SvPas-F1 mice were obtained by crossing MAP6 pure heterozygote 129SvPas male or female mice with MAP6 pure heterozygote C57BL6 male or female mice. The heterogeneous non-inbred BALBc/129 SvPas-F2 mice were obtained first by crossing BALBc with pure heterozygote 129SvPas MAP6 mice, then by crossing heterozygote BALBc/129 SvPas-F1 offspring together. Th1-eYFP line H mice⁸⁸ were obtained from Jackson Labs (B6.Cg-Tgn (Thy-YFP-H) 2Jrs) and crossed with pure heterozygote C57BL6 MAP6 mice to generate C57BL6/Thy1-eYFP MAP6 mice colony. These mice were then crossed with heterozygote 129SvPas MAP6 to generate WT/ and KO/Thy1-eYFP-H littermate mice in homogeneous inbred C57BL6/129 SvPas-F1. Double heterogeneous Sema3E/MAP6 mice were obtained either by the crossing of C57BL6 Sema3E^{+/-} and 129vPas MAP6^{+/-} mice or C57BL6 Sema3E^{+/-} and C57BL6/Thy1-eYFP MAP6^{+/-} mice. Male and/or females mice were used between 2-4 months old. In accordance with the policy of the Institut des Neurosciences of Grenoble (GIN) and the French legislation, experiments were done in compliance with the European Community Council Directive of 24 November, 1986 (86/609/EEC). The research involving animals was authorized by the Direction Départementale de la protection des populations—Préfecture de l'Isère-France (Deloume J. C., PhD, permit number 380822) and by the ethics committee of GIN n 004 accredited by the French Ministry for of Research.

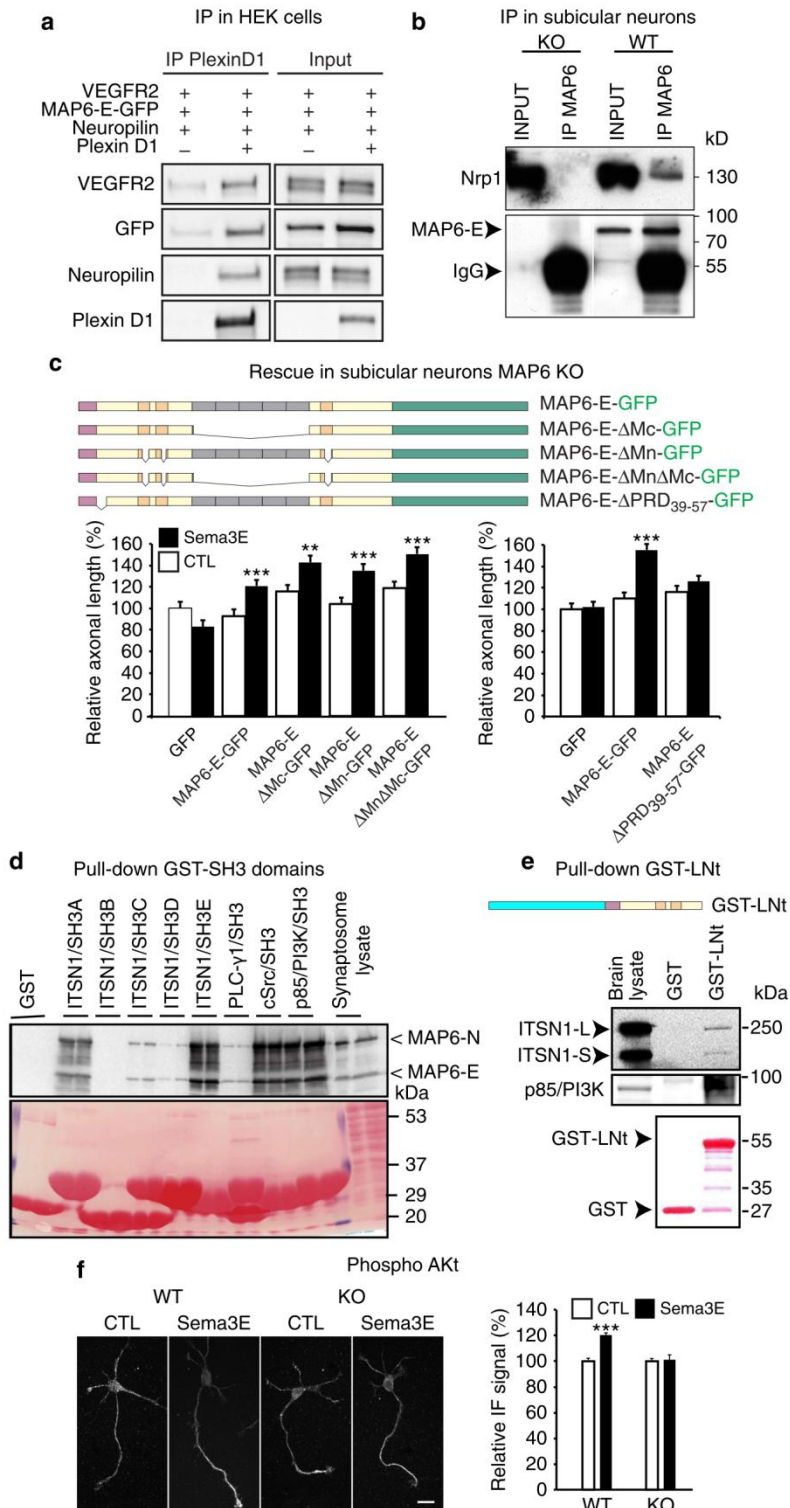
Magnetic resonance imaging. MRI was performed at 7T Bruker Biospec Avance III using a volume transmit/surface receive coil combination. The anesthetized animal (1.5% isoflurane in air) was placed in heated cradle whose temperature was regulated at 37 °C. T2-weighted spin-echo images (TR/TE = 5,000/42 ms, field of view = 25 × 25 mm², slice thickness = 0.6 mm, 29 slices) were obtained across the entire brain (from the cerebellum to olfactory bulb). The scan duration was 11 min/animal. Subsequently, the following contours were manually delineated on the T2-weighted images: brain, ventricles.

Diffusion tensor imaging. DTI experiments were carried out with the same MRI equipment. The DTI technique is based on water diffusion measurements in different spatial directions to assess the medium anisotropy. The FA parameter is derived from DTI measurements and describes voxel by voxel, the rate of anisotropy of water mobility that can be free or restricted in a given spatial direction. In GM and ventricles, water molecules diffuse without preferential direction and the FA value tends toward 0 while in white matter the FA value tends towards 1 describing a high medium anisotropy. Indeed water diffusion is free along fibre bundles (maximal diffusivity) and restricted perpendicularly (minimal diffusivity). Technically, adult WT and MAP6-KO mice were perfused transcardially with

Figure 7 | MAP6 protein is involved in the Sema3E signalling pathway. (a) Immunoprecipitation of MAP6-E-GFP and Sema3E receptor proteins. HEK 293T17 cells were transfected with MAP6-E-GFP, VEGFR2, Plexin D1 or Neuropilin1 cDNAs. Immunoprecipitation was performed using a polyclonal anti-PlxD1 antibody. In control experiments, Plexin D1 cDNA was omitted. (b) Immunoprecipitation of endogenous MAP6-E from subicular neurons using an anti-MAP6 23N antibody. (c) Rescue experiments on MAP6-KO neurons by MAP6-E-GFP constructs and Sema3E response. Schematic representation of MAP6-E-GFP, MAP6-E-ΔMnΔMc-GFP, MAP6-E-ΔMc-GFP, MAP6-E-ΔMn-GFP and MAP6-E-ΔPRD₃₉₋₅₇-GFP constructs. Values correspond to mean axonal length and were normalized to 100% for values obtained in control conditions (GFP without Sema3E). All quantifications have been repeated at least three times using independent neuronal cultures yielding consistent results (number of neurons ≥ 70 in all conditions). Error bars, s.e.m. ***P* < 0.01; ****P* < 0.001 Student's *t*-test. (d) Immunoblot analysis of synaptosomal proteins eluted from glutathione-Sepharose columns containing GST or GST fused to SH3 domains from intersectin (ITSN1/SH3A-E domains), PLC-γ1, cSrc, and p85/PI3K. The blot was stained with Ponceau red and probed with 23N antibody. (e) Immunoblot analysis of postnatal brain proteins eluted from glutathione-Sepharose columns containing GST and GST-MAP6 LNT fragment containing the PRD₃₉₋₅₇ domain. Blots were stained with Ponceau Red and probed with anti-p85 or anti-intersectin antibodies. (f) Immunolabelling, using anti-phospho-Akt antibodies, of subicular neurons treated 15 min with 10 nM of Sema3E. Histogram shows the relative immunofluorescence signal of phospho-Akt staining within axons and growth cones (number of neurons ≥ 60). Error bars, s.e.m. ****P* < 0.001.

saline followed by 4% paraformaldehyde (PFA) and imaged in an animal bed with ear bars and bite bar head fixation. *Ex vivo* diffusion-weighted images were acquired with a spin echo sequence in which two identical diffusion gradients were applied with a duration of $\Delta = 4$ ms, and a separation time $\Delta = 10$ ms. The repetition time and echo time were set to 2,000 and 35 ms, respectively. Six

diffusion-weighted images were acquired with a b-value of $1,000 \text{ s mm}^2$ and applied along six different orientations: [110], [1-10], [011], [01-1], [101] and [-101]⁶⁴. The reference image was acquired with b around 50 s mm^2 . All images were acquired in a field of view of $15 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ and a matrix of 256×256 leading to an in-plane spatial resolution of $59 \mu\text{m} \times 59 \mu\text{m}$. Seven contiguous coronal slices of 0.7-mm



thickness positioned between -3.2 and 2.7 mm of the Bregma were acquired. Twelve signal averages were used for a total imaging time of ≈ 12 h. All DTI maps pixels by pixels (diffusivity, FA, colour maps, FA-weighted colour maps) were obtained using in house software written in Matlab (The MathWorks, Natick, MA). The ROIs (regions of interest) were carefully delineated on FA-weighted colour map on the basis of histology images guided by the Paxinos atlas of mouse brain⁶⁵.

Brain histology. Brains from adult C57BL6/129SvPas and C57BL6/129SvPas/Thy1-eYFP mice were fixed by transcardiac perfusion of a 4% PFA solution. Brains were extracted and stored in the same fixative solution at 4°C . Brains were sliced at $30\ \mu\text{m}$ using vibratome (Leica, VT1000S) and mounted on Superfrost plus slides (Menzel-Gläser). Coronal sections and transversal sections with a cutting angle of 30° from C57BL6/129SvPas/Thy1-eYFP mice were stained with Nissl Neurotrace stain (Invitrogen) and observed with stereoscopic microscope (Nikon, AZ100M) and with confocal microscope (Zeiss, LSM 710). Coronal sections of C57BL6/129SvPas mice were stained using the gold method⁶⁶ and counterstained with cresyl violet. For the evaluation of subicular neuronal density, coronal section of Thy1-eYFP mice was immunostained with an NeuN antibody and eYFP-positive cells were quantified using an homemade ImageJ macro. In brief the dorsal subiculum ROI was drawn using the NeuN staining image and the eYFP local maxima intensity signal was detected after application of a bandpass filter. All the neuroanatomical abbreviations in this study were from ref.⁶⁵ except for pre-f, precommissural fornix; pf, postcommissural fornix, cf, column of the fornix; PVH, paraventricular hypothalamic nucleus; AHN, anterior hypothalamic nucleus. All morphometric measures were performed using ImageJ software.

Immunohistofluorescence on E18.5 using L1-CAM (Millipore; 1:2,000) and Nrp1 (R&D system; 1:200) and anterograde Dil tracing of the fornix were carried out with small crystals of lipophilic tracer Dil placed in the dorsal hippocampus.

Lentiviral axonal tracing. Lentiviral vectors encoding the green fluorescent protein (GFP) was produced in 293T cells by transient calcium phosphate precipitation of a 4-plasmid system (packaging construct pCMVDR-8.92; pRSV-Rev plasmid, plasmid encoding the VSV-G envelop pMD.G; SIN-W-PGK-GFP transfer vector). In brief, the VSV-G pseudo-typed HIV-1 vector was concentrated by ultracentrifugation and resuspended in PBS with 1% bovine serum albumin. The viral particle content was determined by p24 antigen enzyme-linked immunosorbent assay (RETROtek; Gentaur, Paris, France). The batches were stored at -80°C until use. Concentrated viral batch were thawed on ice and resuspended by vortexing and repeated pipetting and diluted to a concentration of $490\ \text{ng p24 antigen}/\mu\text{l}$. Mice received a total volume of $0.75\ \mu\text{l}$ of the vector preparation, administered at a rate of $0.2\ \mu\text{l min}^{-1}$, injected stereotaxically into the dorsal subiculum of adult WT and KO mice at the following coordinates (mm) anteroposterior (AP), mediolateral (ML) and dorsoventral (DV) relative to Bregma AP/ML/DV: $-3.3/1.55/-1.8$ and $3.2/1.5/-1.65$, respectively. After 2 weeks, brains were removed after intracardial perfusion of 4% PFA, sliced at $30\ \mu\text{m}$ using vibratome (Leica, VT1000S) and mounted on Superfrost plus slides (Menzel-Gläser). Sagittal sections were stained with Nissl Neurotrace stain (Life Technologies) and observed with a confocal microscope (Zeiss, LSM 710).

Plasmids and expression of recombinant proteins. MAP6-E corresponds to amino acids (aa) 1–614 of NP_058900. EGFP-tagged MAP6-E constructs were fused to a C-terminal EGFP, using plasmid pEGFP-N1 (Clontech), with the following modifications: ΔMn = deletion of aa 124–138 + aa 161–171 + aa 527–541; ΔMc = deletion of aa 226–451; $\Delta\text{PRD}39-57$ = deletion of aa 39–57; $\Delta\text{Mn}3$ = deletion of aa 527–541. LNT refers to aa 1–225. GST-LNT refers to LNT fused to a N-terminal GST, using plasmid pGEX-6P-1 (GE Life Sciences). GST-tagged intersectin-SH3 A-E constructs were kindly provided by Peter McPherson (McGill University, Canada). GST-tagged cSrc-SH3 (aa 81–142, rat sequence) was subcloned to pGEX-4T-1. GST-tagged p85-SH3 (aa 1–79, mouse sequence) was subcloned into a pGEX-2T vector. GST-tagged PLC γ -SH3 (aa 790–852, rat sequence) was subcloned into pGEX-6P-1. GST constructs were transformed into *Escherichia coli* strain JM109 by heat shock and the expressed recombinant proteins were bound to glutathione (GSH)-sepharose beads according to the manufacturer's instructions (GE Healthcare).

Electron microscopy. Mice were fixed by perfusion and fornix as well as corpus callosum were dissected before being quickly immersed in fixative (2% PFA and 2% glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer). Samples were then post-fixed with 1% osmium tetroxide, stained in 1% uranyl acetate and dehydrated in ethanol before being embedded in epoxy resin (Fluka). Ultrathin sections of the sample ($60\ \text{nm}$) were stained with uranyl acetate and lead citrate before being viewed under a transmission electron microscope at $80\ \text{kV}$ (JEOL 1200EX). Images were taken with a digital camera (Veleta, Olympus) and morphometric measurements were done with iTEM software (Soft Imaging System).

Production and binding of Sema3E-AP, *in situ* hybridization. HEK293T cells were transfected with the Sema3E-AP vector or empty pAPtag-5 vector as control, using a calcium phosphate kit (Life Technologies). After 3 days of culture in

Opti-MEM serum-free medium (Gibco), the supernatant was collected and concentrated using Centricon filters (Millipore). AP activity was measured using SIGMAFAST™ p-nitrophenyl phosphate tablets (Sigma Aldrich), as per the manufacturer's instructions. Sema3E-AP binding experiments on tissue sections and *in situ* hybridization were performed on $20\ \text{mm}$ cryostat sections from WT and MAP6 KO E17.5 embryos³⁶. PlexinD1 probe was generously provided by Mark Tessier-Lavigne.

Neuron analysis. Brains from WT and KO MAP6 littermate embryos (E17.5–18.5) were dissected to the ventrolateral cortex and the subiculum. Tissue pieces were dissociated and plated onto polylysine/laminin-coated four-well plates (Nunc) in Neurobasal medium supplemented with $1\ \text{mM}$ glutamine, $1:50$ B27 (GIBCO), and control AP or Sema3E-AP supernatants. In some experiments, neurons were electroporated with a GFP-pCAGGS vector alone or together with MAP6-E cDNA or different siRNAs ($100\ \text{pmol}$). Efficient knockdown of MAP6 was obtained using Stealth RNAi (Invitrogen), siRNA1 sequence 5'-GCG AGU ACA GUA AGC AGC UCU UAC A-3' (siRNA1) and 5'-CCA AUA AGC CCA GUG CAG CGG ACA A-3' (siRNA2). In some experiments, neurons were electroporated with control GFP and GFP-MAP6-E full-length or GFP-MAP6 deletion mutants. After 24 h *in vitro*, cultured cells were fixed and immunostained with an anti-tubulin antibody⁶⁷ and labelled with Texas Red-X Phalloidin (1:1,000, Invitrogen). Quantification of axonal growth on cortical and subicular neurons in the presence or in the absence of Sema3E was performed by morphometric measures obtained using ImageJ software. Rescue experiments were obtained after transfection of MAP6 constructs in subicular neurons at plating using Amara transfections. Quantification of receptors and signalling protein expression was performed using anti-Neuropilin, goat anti Plexin D1, goat anti-VEGFR2 (R&D Systems) and anti-phosphoY1175-VEGFR2, anti-phosphoS473-Akt (Cell Signaling Technology).

Co-culture experiments. To produce aggregates of Sema3E-expressing cells, HEK293T cells were trypsinized 4–6 h after transfection with the AP-Sema3E vector and resuspended in $0.2\ \text{ml}$ of culture medium (DMEM-GlutaMAX (Gibco), heat-inactivated fetal bovine serum (1:10), $1\ \text{mM}$ Sodium pyruvate, $100\ \text{U ml}^{-1}$ Penicillin-streptomycin) per $60\ \text{mm}$ well. Drops of the cell suspension were placed onto the lids of $35\ \text{mm}$ dishes, which were inverted and incubated over culture medium for 16 h. Clusters of AP-Sema3E-expressing HEK293T cells were placed on glass coverslips together with explants of subiculum from E17.5 WT or MAP6-KO mouse embryos, and embedded in $15\ \mu\text{l}$ of chicken plasma (Sigma) coagulated with $15\ \mu\text{l}$ of thrombin ($0.2\ \text{mg ml}^{-1}$, $20\ \text{NIHU ml}^{-1}$ Sigma). The co-cultures were incubated in neurobasal medium supplemented with $1\ \text{mM}$ glutamine, B27 (GIBCO) (1:50) for 2 days at 37°C , $5\% \text{CO}_2$ in a humidified incubator. After fixation in 4% PFA, axons were immunostained with mouse anti-tubulin antibody (Sigma T9026, 1:1,000) and donkey anti-mouse Alexa Fluor 568 secondary antibody (Life Technologies A10037, 1:500). The guidance effect was quantified by calculating the P/D Ratio, where P and D represent the length of axons extending in the quadrants proximal and distal to the HEK 293T cell aggregate, respectively. Therefore, a P/D ratio of 1 indicates no bias towards or away from the source of Sema3E.

Biochemical experiments. For Immunoprecipitation experiments, HEK-293 T17 (ATCC) cells were transfected with VEGFR2 and/or PlexinD1 and/or Neuropilin1³⁵ and/or MAP6-E-GFP cDNAs using a calcium phosphate kit (Life Technologies). One day after transfection, cells were scraped with lysis buffer ($20\ \text{mM}$ Tris, $1\ \text{mM}$ EGTA, $1\ \text{mM}$ EDTA, $5\ \text{mM}$ NaF, $1\ \text{mM}$ DTT, $0.27\ \text{M}$ sucrose, 0.5% Triton X-100, pH 7.2) in the presence of protease inhibitors (Complete Cocktail tablets, Roche). After centrifugation of the cell lysate at $12,000\ \text{g}$ for $20\ \text{min}$ at 4°C , the supernatant was diluted $3\times$ with buffer C (2% glycerol, $10\ \text{mM}$ Tris-HCL pH 7.5) and incubated for 4 h at RT with $20\ \mu\text{g}$ Rabbit anti-MAP6 23N²⁵ or $10\ \mu\text{g}$ Goat anti PlexinD1 (R&D Systems) or $10\ \mu\text{g}$ Goat anti Neuropilin (R&D Systems) or $10\ \mu\text{l}$ Rabbit anti VEGFR2 (Cell Signalling). Complexes were precipitated by $35\ \mu\text{l}$ Dynabeads Protein G- (Life Technologies) for $40\ \text{min}$ at RT. The immunoprecipitates were washed successively with buffer A (0.2% NP-40, $150\ \text{mM}$ NaCl, $2\ \text{mM}$ EDTA, 2% glycerol, $10\ \text{mM}$ Tris-HCL pH 7.5) buffer B (0.2% NP-40, $500\ \text{mM}$ NaCl, $2\ \text{mM}$ EDTA, 2% glycerol, $10\ \text{mM}$ Tris-HCL pH 7.5) and buffer C. Complexes were separated by electrophoresis, blotted and revealed using the following antibodies: Rabbit anti-VEGFR2 (1/4,000, Cell Signaling), goat anti-PlexinD1 (1/1,000, R&D Systems), goat anti-Neuropilin (1/1,000, R&D Systems), rabbit anti-GFP (1/1,000 Life Technologies). Similar immunoprecipitates protocol was performed using subicular neurons grown for 3 days *in vitro* and using 23N rabbit polyclonal antibody against MAP6⁶⁸. For pull-down experiments, brain lysates were incubated with the GSH-sepharose beads (GE Healthcare) coated with GST recombinant proteins and bound proteins analysed by western blot.

Statistical analysis. Statistics were performed using the Prism 5.0 software (GraphPad Software) using tests as indicated in each figure.

References

- De Peri, L. *et al.* Brain structural abnormalities at the onset of schizophrenia and bipolar disorder: a meta-analysis of controlled magnetic resonance imaging studies. *Curr. Pharm. Des.* **18**, 486–494 (2012).
- Shepherd, A. M., Laurens, K. R., Matheson, S. L., Carr, V. J. & Green, M. J. Systematic meta-review and quality assessment of the structural brain alterations in schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **36**, 1342–1356 (2012).
- Fitzsimmons, J., Kubicki, M. & Shenton, M. E. Review of functional and anatomical brain connectivity findings in schizophrenia. *Curr. Opin. Psychiatry* **26**, 172–187 (2013).
- McIntosh, A. M., Hall, J., Lymer, G. K., Sussmann, J. E. & Lawrie, S. M. Genetic risk for white matter abnormalities in bipolar disorder. *Int. Rev. Psychiatry* **21**, 387–393 (2009).
- Kanaan, R. A. *et al.* Diffusion tensor imaging in schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **58**, 921–929 (2005).
- Hazlett, E. A., Goldstein, K. E. & Kolaitis, J. C. A review of structural MRI and diffusion tensor imaging in schizotypal personality disorder. *Curr. Psychiatry Rep.* **14**, 70–78 (2012).
- Poulain, F. E. & Sobel, A. The microtubule network and neuronal morphogenesis: Dynamic and coordinated orchestration through multiple players. *Mol. Cell Neurosci.* **43**, 15–32 (2010).
- Jaworski, J. *et al.* Dynamic microtubules regulate dendritic spine morphology and synaptic plasticity. *Neuron* **61**, 85–100 (2009).
- Bahi-Buisson, N. *et al.* New insights into genotype-phenotype correlations for the doublecortin-related lissencephaly spectrum. *Brain* **136**, 223–244 (2013).
- Bradshaw, N. J. & Porteous, D. J. DISC1-binding proteins in neural development, signalling and schizophrenia. *Neuropharmacology* **62**, 1230–1241 (2012).
- Kuijpers, M. & Hoogenraad, C. C. Centrosomes, microtubules and neuronal development. *Mol. Cell Neurosci.* **48**, 349–358 (2011).
- Cleveland, D. W., Hwo, S. Y. & Kirschner, M. W. Purification of tau, a microtubule-associated protein that induces assembly of microtubules from purified tubulin. *J. Mol. Biol.* **116**, 207–225 (1977).
- Goedert, M., Crowther, R. A. & Garner, C. C. Molecular characterization of microtubule-associated proteins tau and MAP2. *Trends Neurosci.* **14**, 193–199 (1991).
- Takemura, R. *et al.* Increased microtubule stability and alpha tubulin acetylation in cells transfected with microtubule-associated proteins MAP1B, MAP2 or tau. *J. Cell Sci.* **103**(Pt 4): 953–964 (1992).
- Margolis, R. L., Rauch, C. T. & Job, D. Purification and assay of a 145-kDa protein (STOP145) with microtubule-stabilizing and motility behavior. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **83**, 639–643 (1986).
- Guillaud, L. *et al.* STOP proteins are responsible for the high degree of microtubule stabilization observed in neuronal cells. *J. Cell Biol.* **142**, 167–179 (1998).
- Caceres, A., Mautino, J. & Kosik, K. S. Suppression of MAP2 in cultured cerebellar macroneurons inhibits minor neurite formation. *Neuron* **9**, 607–618 (1992).
- Brugg, B., Reddy, D. & Matus, A. Attenuation of microtubule-associated protein 1B expression by antisense oligodeoxynucleotides inhibits initiation of neurite outgrowth. *Neuroscience* **52**, 489–496 (1993).
- Hanemaaijer, R. & Ginzburg, I. Involvement of mature tau isoforms in the stabilization of neurites in PC12 cells. *J. Neurosci. Res.* **30**, 163–171 (1991).
- Harada, A. *et al.* Altered microtubule organization in small-calibre axons of mice lacking tau protein. *Nature* **369**, 488–491 (1994).
- Ke, Y. D. *et al.* Lessons from tau-deficient mice. *Int. J. Alzheimer's Dis.* **2012**, 873270 (2012).
- Takei, Y. *et al.* Delayed development of nervous system in mice homozygous for disrupted microtubule-associated protein 1B (MAP1B) gene. *J. Cell Biol.* **137**, 1615–1626 (1997).
- Andrieux, A. *et al.* The suppression of brain cold-stable microtubules in mice induces synaptic defects associated with neuroleptic-sensitive behavioral disorders. *Genes Dev.* **16**, 2350–2364 (2002).
- Job, D., Fischer, E. H. & Margolis, R. L. Rapid disassembly of cold-stable microtubules by calmodulin. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **78**, 4679–4682 (1981).
- Bosc, C. *et al.* Cloning, expression, and properties of the microtubule-stabilizing protein STOP. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **93**, 2125–2130 (1996).
- Richard, M. *et al.* STOP proteins contribute to the maturation of the olfactory system. *Mol. Cell Neurosci.* **41**, 120–134 (2009).
- Couegnas, A., Schweitzer, A., Andrieux, A., Ghandour, M. S. & Boehm, N. Expression pattern of stop lacZ reporter gene in adult and developing mouse brain. *J. Neurosci. Res.* **85**, 1515–1527 (2007).
- Fournet, V. *et al.* The deletion of the microtubule-associated STOP protein affects the serotonergic mouse brain network. *J. Neurochem.* **115**, 1579–1594 (2010).
- Bouvrais-Veret, C. *et al.* Microtubule-associated STOP protein deletion triggers restricted changes in dopaminergic neurotransmission. *J. Neurochem.* **104**, 745–756 (2008).
- Brun, P. *et al.* Dopaminergic transmission in STOP null mice. *J. Neurochem.* **94**, 63–73 (2005).
- Delotterie, D. *et al.* Chronic administration of atypical antipsychotics improves behavioral and synaptic defects of STOP null mice. *Psychopharmacology* **208**, 131–141 (2010).
- Begou, M. *et al.* The stop null mice model for schizophrenia displays cognitive and social deficits partly alleviated by neuroleptics. *Neuroscience* **157**, 29–39 (2008).
- Benardais, K. *et al.* Loss of STOP protein impairs peripheral olfactory neurogenesis. *PLoS ONE* **5**, e12753 (2010).
- Powell, K. J. *et al.* Cognitive impairments in the STOP null mouse model of schizophrenia. *Behav. Neurosci.* **121**, 826–835 (2007).
- Bellon, A. *et al.* VEGFR2 (KDR/Flk1) signaling mediates axon growth in response to semaphorin 3E in the developing brain. *Neuron* **66**, 205–219 (2010).
- Chauvet, S. *et al.* Gating of Sema3E/PlexinD1 signaling by neuropilin-1 switches axonal repulsion to attraction during brain development. *Neuron* **56**, 807–822 (2007).
- Kishi, T. *et al.* Topographical organization of projections from the subiculum to the hypothalamus in the rat. *J. Comp. Neurol.* **419**, 205–222 (2000).
- Feng, G. *et al.* Imaging neuronal subsets in transgenic mice expressing multiple spectral variants of GFP. *Neuron* **28**, 41–51 (2000).
- Porrero, C., Rubio-Garrido, P., Avendano, C. & Clasca, F. Mapping of fluorescent protein-expressing neurons and axon pathways in adult and developing Thy1-eYFP-H transgenic mice. *Brain Res.* **1345**, 59–72 (2010).
- Olsson, A. K., Dimberg, A., Kreuger, J. & Claesson-Welsh, L. VEGF receptor signalling - in control of vascular function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7**, 359–371 (2006).
- Koch, S., Tugues, S., Li, X., Gualandi, L. & Claesson-Welsh, L. Signal transduction by vascular endothelial growth factor receptors. *Biochem. J.* **437**, 169–183 (2011).
- Morderer, D. *et al.* Endocytic adaptor protein intersectin 1 forms a complex with microtubule stabilizer STOP in neurons. *Gene* **505**, 360–364 (2012).
- Volle, J. *et al.* Reduced expression of STOP/MAP6 in mice leads to cognitive deficits. *Schizophr. Bull.* **39**, 969–978 (2013).
- Burgess, N. Spatial cognition and the brain. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1124**, 77–97 (2008).
- Fitzsimmons, J. *et al.* Diffusion tractography of the fornix in schizophrenia. *Schizophr. Res.* **107**, 39–46 (2009).
- Kendi, M. *et al.* Structural and diffusion tensor imaging of the fornix in childhood- and adolescent-onset schizophrenia. *J. Am. Acad. Child. Adolesc. Psychiatry.* **47**, 826–832 (2008).
- Lee, S. H. *et al.* Extensive white matter abnormalities in patients with first-episode schizophrenia: a Diffusion Tensor Imaging (DTI) study. *Schizophr. Res.* **143**, 231–238 (2013).
- Davidson, C. A. *et al.* An MRI study of septi pellucidi in relation to hippocampus volume and fornix integrity in schizophrenia. *Schizophr. Res.* **134**, 165–170 (2012).
- Luck, D., Malla, A. K., Joobar, R. & Lepage, M. Disrupted integrity of the fornix in first-episode schizophrenia. *Schizophr. Res.* **119**, 61–64 (2010).
- Zhou, Y. *et al.* Altered resting-state functional connectivity and anatomical connectivity of hippocampus in schizophrenia. *Schizophr. Res.* **100**, 120–132 (2008).
- Takei, K. *et al.* Disrupted integrity of the fornix is associated with impaired memory organization in schizophrenia. *Schizophr. Res.* **103**, 52–61 (2008).
- Nestor, P. G. *et al.* Episodic memory and neuroimaging of hippocampus and fornix in chronic schizophrenia. *Psychiatry Res.* **155**, 21–28 (2007).
- Ishizuka, K. *et al.* DISC1-dependent switch from progenitor proliferation to migration in the developing cortex. *Nature* **473**, 92–96 (2011).
- Kvajo, M. *et al.* Altered axonal targeting and short-term plasticity in the hippocampus of Disc1 mutant mice. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **108**, E1349–E1358 (2011).
- Lutkenhoff, E. *et al.* Structural and functional neuroimaging phenotypes in dysbindin mutant mice. *NeuroImage* **62**, 120–129 (2012).
- Nickl-Jockschat, T. *et al.* The impact of a Dysbindin schizophrenia susceptibility variant on fiber tract integrity in healthy individuals: a TBSS-based diffusion tensor imaging study. *NeuroImage* **60**, 847–853 (2012).
- McIntosh, A. M. *et al.* The effects of a neuregulin 1 variant on white matter density and integrity. *Mol. Psychiatry* **13**, 1054–1059 (2008).
- Worzfeld, T. *et al.* Genetic dissection of plexin signaling in vivo. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **111**, 2194–2199 (2014).
- Lim, R. W. & Halpain, S. Regulated association of microtubule-associated protein 2 (MAP2) with Src and Grb2: evidence for MAP2 as a scaffolding protein. *J. Biol. Chem.* **275**, 20578–20587 (2000).
- Usardi, A. *et al.* Tyrosine phosphorylation of tau regulates its interactions with Fyn SH2 domains, but not SH3 domains, altering the cellular localization of tau. *FEBS J.* **278**, 2927–2937 (2011).
- Reynolds, C. H. *et al.* Phosphorylation regulates tau interactions with Src homology 3 domains of phosphatidylinositol 3-kinase, phospholipase Cgamma1, Grb2, and Src family kinases. *J. Biol. Chem.* **283**, 18177–18186 (2008).

62. Kappeler, C. *et al.* Magnetic resonance imaging and histological studies of corpus callosal and hippocampal abnormalities linked to doublecortin deficiency. *J. Comp. Neurol.* **500**, 239–254 (2007).
63. Meixner, A. *et al.* MAP1B is required for axon guidance and is involved in the development of the central and peripheral nervous system. *J. Cell Biol.* **151**, 1169–1178 (2000).
64. Basser, P. J. & Pierpaoli, C. A simplified method to measure the diffusion tensor from seven MR images. *Magn. Reson. Med.* **39**, 928–934 (1998).
65. Paxinos, G. & Franklin, K. *The mouse brain in stereotaxic coordinates* (Academic Press, 2001).
66. Schmued, L. *et al.* Introducing Black-Gold II, a highly soluble gold phosphate complex with several unique advantages for the histochemical localization of myelin. *Brain Res.* **1229**, 210–217 (2008).
67. Peris, L. *et al.* Tubulin tyrosination is a major factor affecting the recruitment of CAP-Gly proteins at microtubule plus ends. *J. Cell Biol.* **174**, 839–849 (2006).
68. Galiano, M. R. *et al.* Astrocytes and oligodendrocytes express different STOP protein isoforms. *J. Neurosci. Res.* **78**, 329–337 (2004).

Acknowledgements

We thank O. Sarrault, E. Billet-Hernández, S. Garbit, A. Schweitzer, S. Pierre and all zootechnicians for the animal care and production; M. Champeboux, N. Collomb, D. Divers for technical help, J. Delaroche for electron microscopy expertise and C. Delphin and D. Job for critical reading. We also thank the MRI facility IRMaGe and the electron microscopy facility of the Grenoble Institute of Neurosciences. A.D. and J.J. received stipends from the Région Rhone-Alpes – Cluster HVN-ARC2. This work was supported by INSERM, CEA, Univ. Grenoble Alpes and French National Research Agency Awards 2010Blan120201 CBioS (to A.A.) and grants from the National Health and Medical Research Council of Australia (P.J.R. and J.X.). The MRI facility IRMaGe is partly funded by the French program 'Investissement d'Avenir' run by the French National Research Agency, grant 'Infrastructure d'avenir en Biologie Sante' - ANR-11-INBS-0006.

Author contributions

J.C.D. and A.A. conceived and designed the study. J.C.D. and S.G-F. performed the experiments, with contributions from J.X., J.J., B.B., M.J., S.C., E.M., C.M., A.D., A.D., C.B.; J.B. and E.D. performed statistical analysis and image processing respectively. N.D. provided GFP lenti-virus. I.V. and P.J.R. provided intellectual input regarding VEGFR2 and SH3 proteins. F.M. and S.C. provided intellectual input, expertise and tools for semaphorin study; E.B. supervised anatomical MRI with the help from O.M.; H. L. developed DTI techniques and supervised F.M.; K.P.G. performed electron microscopy analysis with the contribution from I.L.; J.C.D., P.J.R., F.M. and A.A. wrote the manuscript, with contribution from all co-authors.

Additional information

Supplementary Information accompanies this paper at <http://www.nature.com/naturecommunications>

Competing financial interests: The authors declare no competing financial interests.

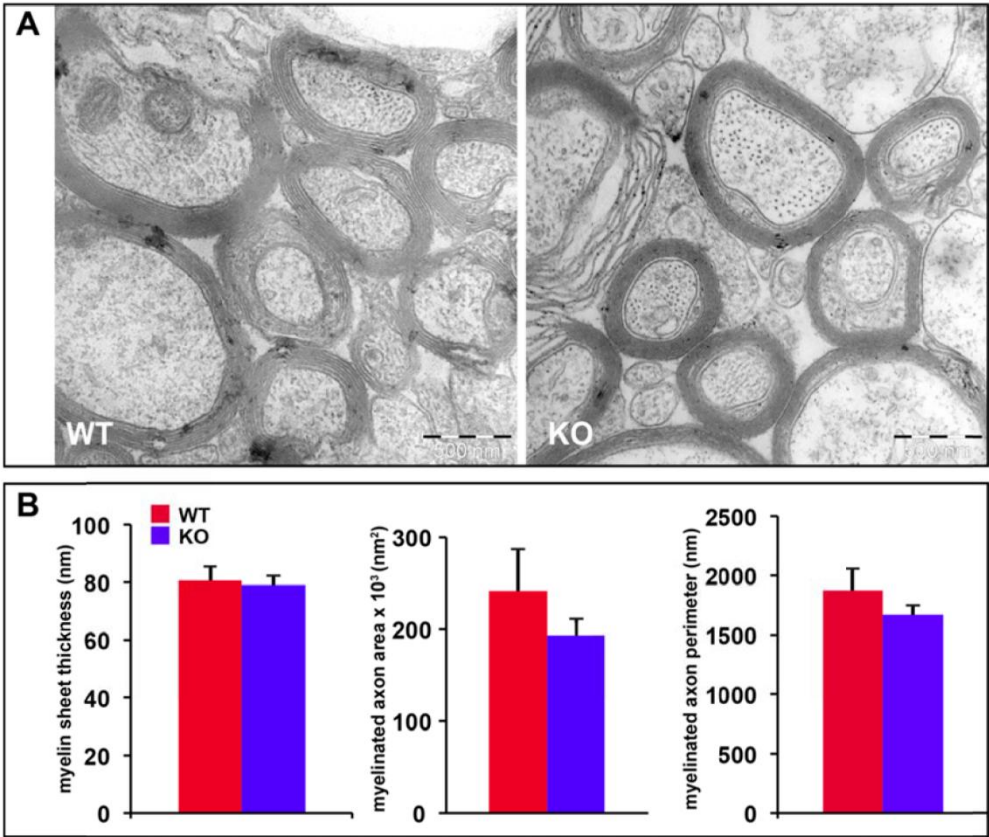
Reprints and permission information is available online at <http://npg.nature.com/reprintsandpermissions/>

How to cite this article: Deloulme, J. C. *et al.* Microtubule-associated protein 6 mediates neuronal connectivity through Semaphorin 3E-dependent signalling for axonal growth. *Nat. Commun.* **6**:7246 doi: 10.1038/ncomms8246 (2015).



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in the credit line; if the material is not included under the Creative Commons license, users will need to obtain permission from the license holder to reproduce the material. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

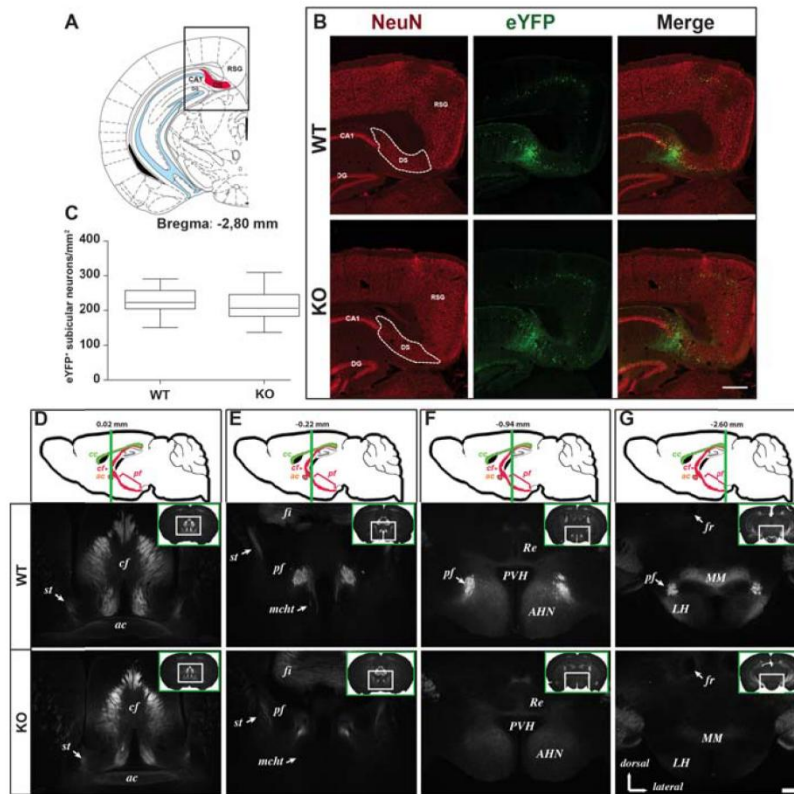
Supplementary Figure 1. The integrity of myelin sheaths is not affected in MAP6 KO mice



(A) Representative ultrastructural images of cross-sectioned axons within the corpus callosum from WT and KO mice.

(B) Quantifications of myelin sheath thickness, axon area and axon perimeter. Values are given as means ± SEM for five animals per genotype ($n \geq 40$ axons measured per animal). No significant statistical differences were found between WT and KO using the Student's t test. Scale bar: 500 nm.

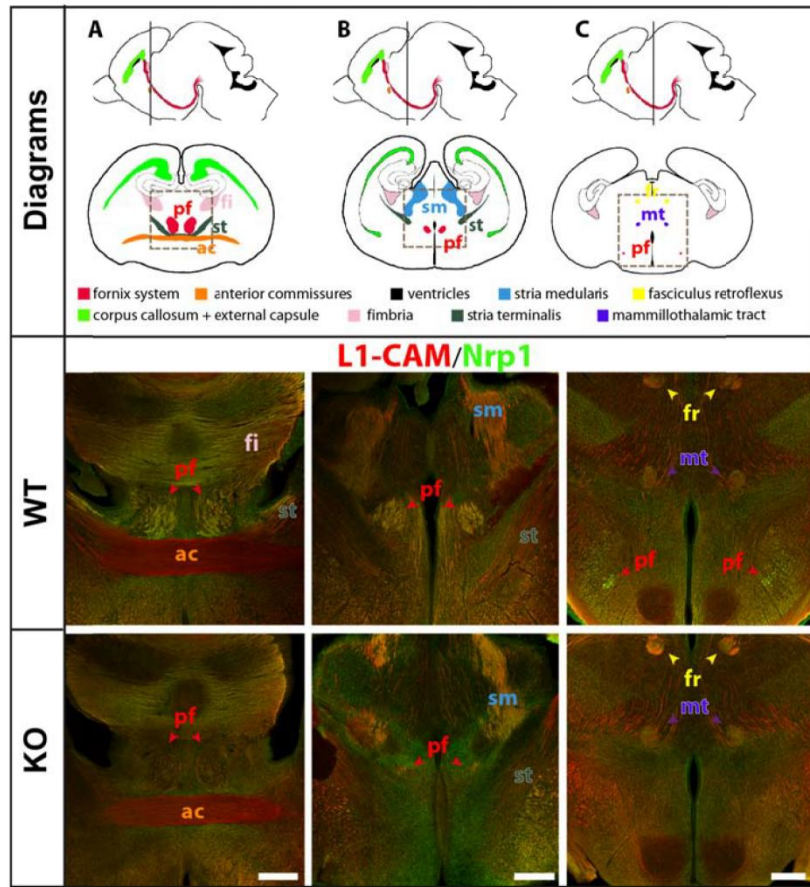
Supplementary Figure 2. MAP6 deletion results in the absence of the post-commissural fornix without obvious modification in subicular neuronal population



(A-C) Coronal sections of hippocampal formation from adult WT/Thy-eYFP-H and MAP6 KO/Thy-eYFP-H. The dorsal subiculum (DS) shown in the diagram of Bregma -2.80mm section (A) was delimited on NeuN immunolabeling slice (B, dashed ROI). The density of eYFP subicular neurons in WT and MAP6 KO dorsal subiculum was quantified and the results shown in (C). No significant difference was observed between genotype (n=5 animals for each genotype). Scale bar 400µm. (D-G) Fluorescence in WT/Thy-eYFP-H and MAP6 KO/ Thy-eYFP-H mice for 4 identical coronal sections. In the sagittal diagrams, the fornix and the post-commissural fornix are indicated in red. The green line indicates the coronal plane (Bregma value in mm). The position of microscopic field appears in insets. Scale bar 200µm.

Abbreviations: P, presubiculum; S, subiculum; DS, dorsal subiculum; cc, corpus callosum; DG, dentate gyrus; CA1, ammon's horn 1; cf, column of the fornix; pf, post-commissural fornix; ac, anterior commissure; st, stria terminalis; fi, fimbria; mcht, medial corticohypothalamic tract; Re, reuniens thalamic nucleus; PVH, paraventricular hypothalamic nucleus; AHN, anterior hypothalamic nucleus; fr, fasciculus retroflexus; MM, medial mammillary nucleus medial part; LH, lateral hypothalamic area.

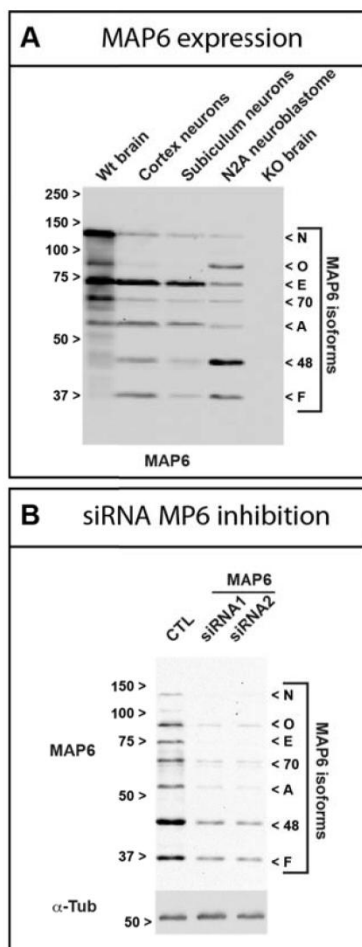
Supplementary Figure 3: MAP6 is necessary for the development of the post-commissural fornix.



(A-C) Coronal sections of E18.5 WT and MAP6 KO brain double-immunostained with anti L1 CAM and neuropilin1 (Nrp1). For each panel, a sagittal diagram shows the projection stack of post-commissural fornix in red and a grey line indicates the level of coronal section. The position of the major neuronal tracts was indicated on a coronal diagram and the dashed square indicates the position of microscopic field. The fornix is indicated in red. Scale bars, 300 μ m.

Abbreviations: cf, column of the fornix, pf, post-commissural fornix; .ac, anterior commissure; fi, fimbria; sm, stria medularis; st, stria terminalis; mt, mammillary tract; fr, fasciculus retroflexus.

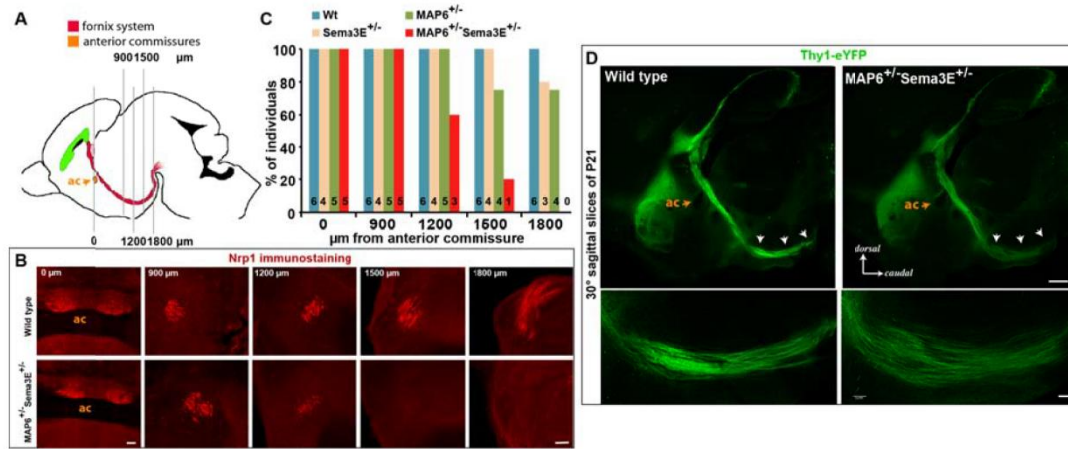
Supplementary Figure 4. Expression of MAP6 proteins.



(A) Western blot of total protein from mouse brain homogenate (WT brain and MAP6 KO brain), cell extracts from mouse neuroblastoma Neuro-2A (N2A) and *in vitro* cultured subicular and cortical neurons (3 days of culture), blotted with MAP6 23N antibody.

(B) Western blot of crude extracts of cultured N2A cells treated for 48 h with MAP6 siRNA1, MAP6 siRNA2 and negative control siRNA (CTL), blotted with MAP6 23N antibody and with α -tubulin antibody (α -Tub). Both siRNAs induce a strong reduction of MAP6-E expression.

Supplementary Figure 5: MAP6 and Sema3E cooperate *in vivo* during fornix formation.



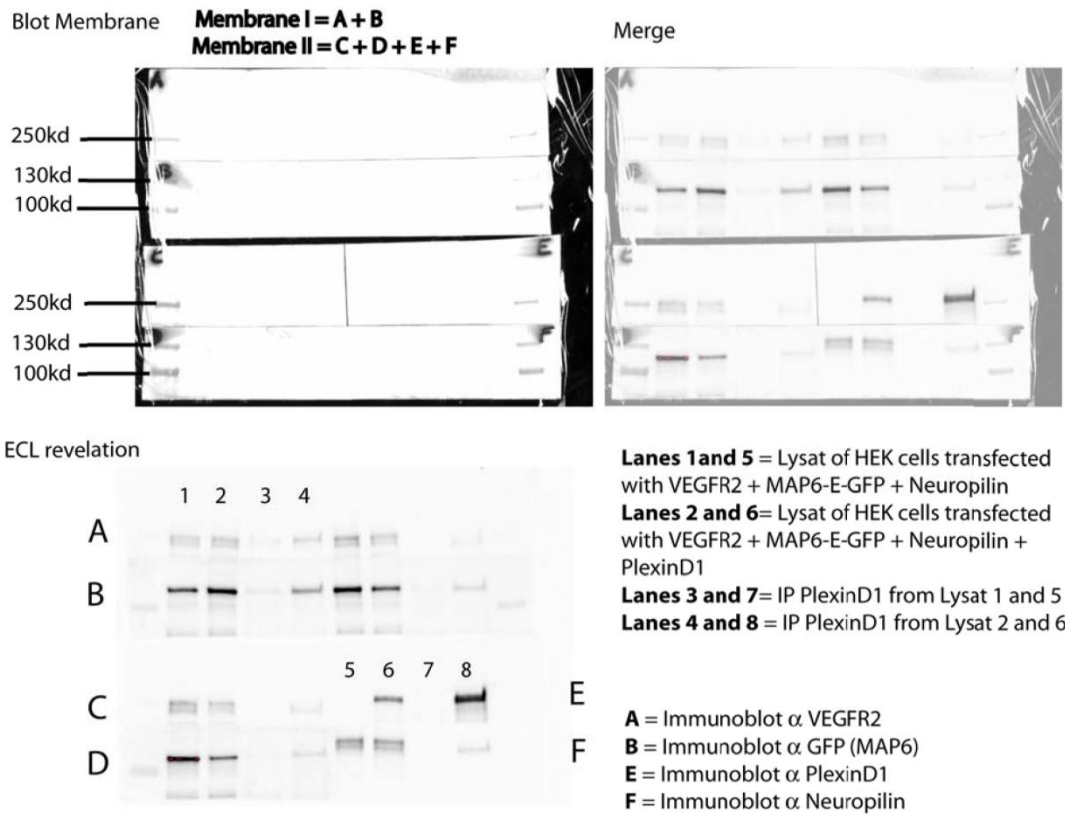
(A) Sagittal diagram showing the projection stack of post-commissural fornix in red. Grey lines indicate the level of coronal section through the fornix to the hypothalamus of P1 from WT, Sema3E heterozygous (Sema3E^{+/-}), MAP heterozygous (MAP6^{+/-}) and double Sema3E/MAP6 heterozygous (MAP6^{+/-} Sema3E^{+/-}) mice.

(B) Brains coronal sections after immunolabelling with anti Nrp1 antibody. As compared to WT, the formation of the fornix is strongly delayed in double heterozygous MAP6^{+/-} Sema3E^{+/-} animals. Scale bars, 100 μm.

(C) Quantifications of the caudal extension of the post-commissural fornix from the anterior commissure (0μm) to the mammillary body (+1800 μm), for each genotype. In WT the fornix is visible in all sections (6/6 animals). In Sema3E^{+/-}/MAP6^{+/-} animals the fornix was visible at 900 μm from the anterior commissure in 5/5 animals but only in 1/5 animal at 1500μm and in 0/5 animal at 1800μm. A milder phenotype was observed for single heterozygous MAP6^{+/-} and Sema3E^{+/-} animals; the fornix was visible on 3/4 and 4/5 at +1800μm.

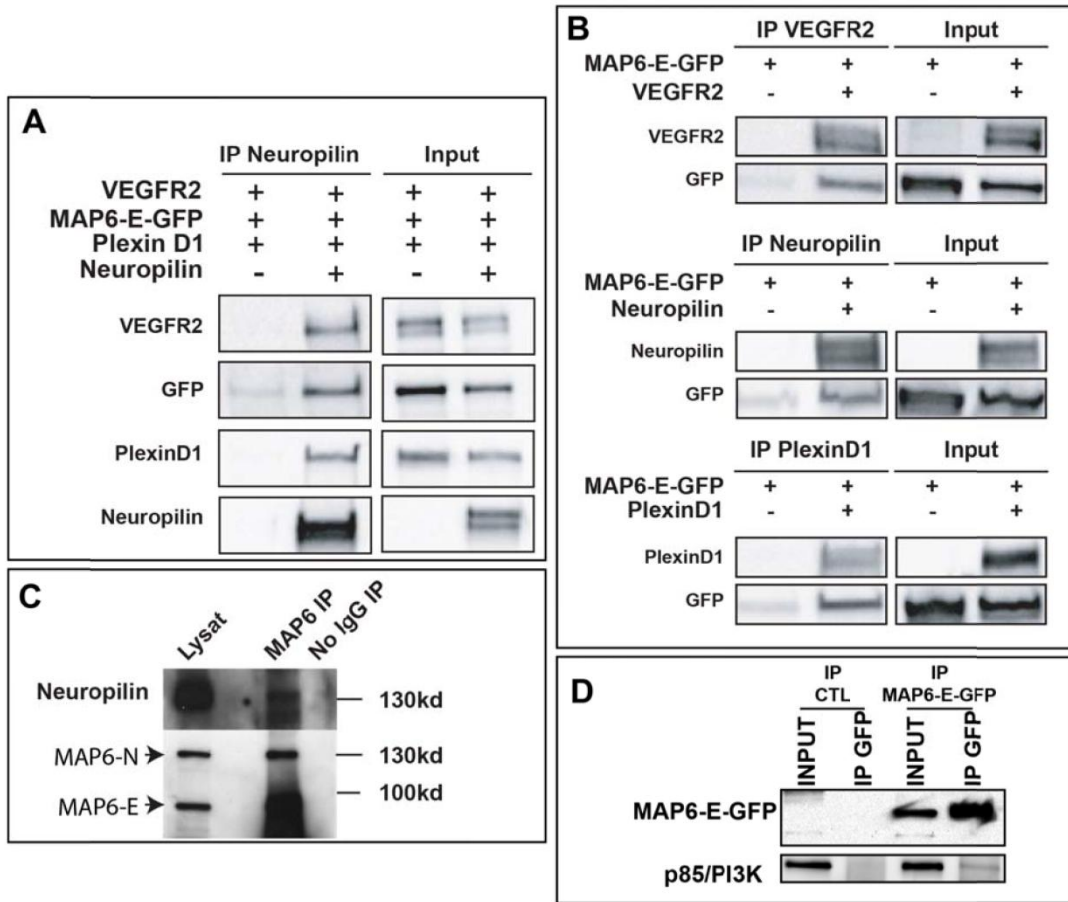
(D) Analysis of the fornix using WT/Thy1-eYFP-H and MAP6^{+/-}/Sema3E^{+/-}/Thy1-eYFP-H P21 mice in sagittal slices with a cutting angle of 30°. In double heterozygous MAP6^{+/-} Sema3E^{+/-} brains, the fornix is strongly defasciculated in the terminal part of the post-commissural fornix (arrows). Scale bars, 500 μm.

Supplementary Figure 6: Full blots from main Figure 7A



Bands from ECL revelation in numbered lanes correspond to Figure 7A

Supplementary Figure 7: MAP6 interacts with Sema3E tripartite receptor components and p85/PI3 kinase



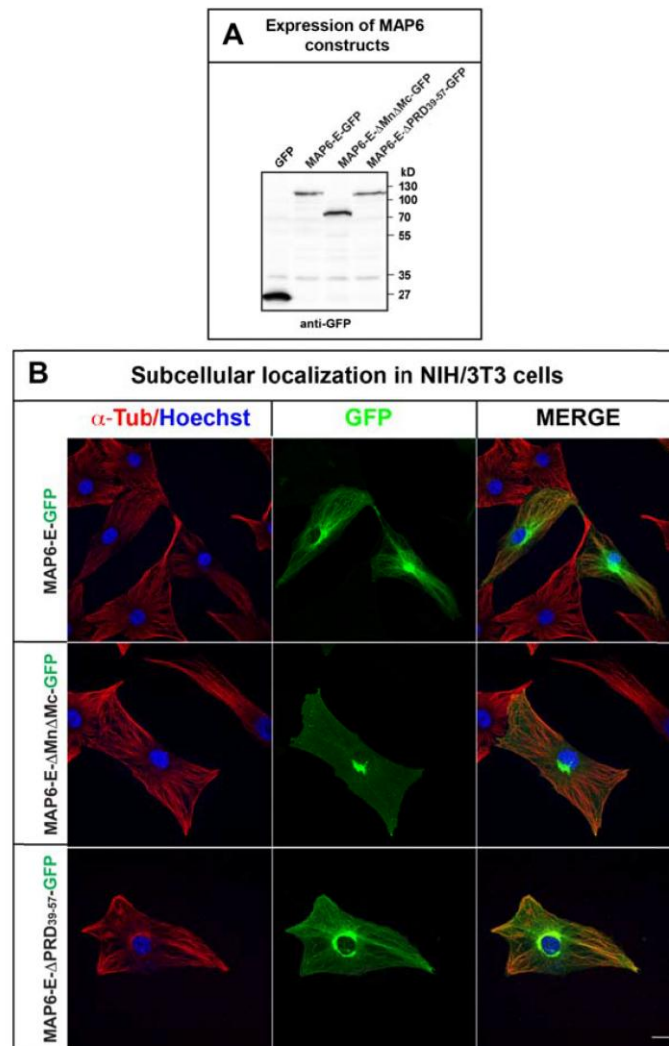
(A) HEK 293T17 cells were transfected with MAP6-E-GFP, VEGFR2, Plexin D1 and Neuropilin1 cDNAs. Immunoprecipitation was performed using polyclonal anti-Nrp1 antibody. PlxD1, VEGFR2 and MAP6 were found co-immunoprecipitated with Nrp1. In control experiments, Nrp1 cDNA was omitted.

(B) Immunoprecipitation of MAP6-E-GFP and Sema3E receptor proteins. HEK 293T17 cells were transfected with MAP6-E-GFP and either VEGFR2, PlexinD1 or Neuropilin1 cDNAs. MAP6 co-immunoprecipitated individually with PlxD1, VEGFR2 and Nrp1.

(C) Immunoprecipitation of endogenous MAP6-E and -N from subicular neurons using anti-MAP6 23N antibody. Endogenous Nrp1 was found immunoprecipitated with MAP6 proteins.

(D) HEK 293T17 cells were transfected with MAP6-E-GFP and immunoprecipitated using anti GFP antibody. Endogenous p85/PI3K was found in the immunoprecipitated.

Supplementary Figure 8: Subcellular localization of MAP6-E-GFP constructs in NIH-3T3 cells



(A) Western blot analysis showing the expression of MAP6 constructs after transfection in subicular neurons.

(B) Subcellular localization of MAP6-E (upper panel), MAP6-E- Δ Mn Δ Mc (middle panel) and MAP6-E- Δ PRD_{39-42 fused with GFP in transfected NIH-3T3 cells. Cells were transfected using Lipofectamine 2000, fixed 18 h after transfection for 25 min with PFS (4% paraformaldehyde, 4% sucrose), permeabilized 3 min with PBS 0.2% Triton X-100, incubated with an anti tubulin antibody for 45 min in PBS-Tween 0.2% and with secondary antibodies for 40 min. Cells were analyzed with a confocal microscope LSM 710 (Zeiss). The deletion of Mc and Mn microtubule binding domains of MAP6-E suppress it association with the microtubular network to favor Golgi and membrane localization.}

Discussion et perspectives

Au cours de cette thèse, j'ai étudié au niveau biologique et comportemental, les effets d'une cure d'ECS chez les souris KO MAP6, un modèle animal pertinent pour l'étude de certaines composantes de la physiopathologie des maladies psychiatriques. Pour le traitement des épisodes dépressifs majeurs, chez l'homme l'efficacité et la rapidité d'action de l'ECT sont reconnues de tous. Cependant les mécanismes d'action responsables des effets bénéfiques de l'ECT ne sont pas totalement élucidés, ce qui contribue à discréditer cette thérapie. Identifier les mécanismes biologiques qui sous-tendent les effets thérapeutiques des ECT permettrait d'améliorer ce traitement quant à son délai d'efficacité et sa tolérance mais aussi son image auprès des patients et des familles.

Des études chez les rongeurs tentent d'identifier ces mécanismes. Cependant les résultats n'ont pas permis de tirer des conclusions claires, possiblement du fait que de nombreuses études utilisent des animaux sains ou des modélisations animales dans lesquelles les altérations biologiques et comportementales ont été induites de manière aiguë et/ou focales. Les résultats ainsi obtenus peuvent ne pas être sous-jacents aux symptômes dépressifs. De plus les corrélations entre le décours des changements biologiques et les améliorations comportementales sont impossibles.

Nous avons ainsi développé l'étude des effets des ECS avec la souris KO MAP6, qui présentent des altérations comportementales et biologiques constitutives associées à la dépression, permettant l'analyse dans le temps des effets d'une cure d'ECS.

Effets comportementaux des ECS administrés aux souris KO MAP6.

Dans notre étude, nous avons montré que l'administration d'ECS répétée aux souris KO MAP6 améliorait les troubles comportementaux associés à la dépression et l'anxiété, dans le test de « novelty suppressed feeding » (NSF), l'interaction sociale et la nage forcée (FST). De plus nous avons pu observer une perte de l'amélioration comportementale suite aux ECS, comme ce qui peut être observé chez l'Homme. Il est également intéressant de noter que la cinétique des effets comportementaux est variable en fonction du comportement analysé. Tous ces résultats montrent que notre modèle est pertinent pour l'étude des effets du traitement.

Effets des ECS sur la neurogénèse adulte hippocampique

Parmi l'étude des mécanismes biologiques potentiellement impliqués dans les effets des ECS, nous avons orienté notre étude sur l'analyse des mécanismes de plasticité cérébrale et plus particulièrement sur les phénomènes de neurogénèse adulte hippocampique. Depuis

plusieurs années, la neurogénèse adulte a été de plus en plus étudiée pour sa possible implication dans la physiopathologie de la dépression ainsi que dans les effets bénéfiques des antidépresseurs. Elle a tout d'abord été suggérée comme impliquée dans les causes biologiques de la dépression, de par l'observation de sa dérégulation après l'exposition à un stress (Gould et al., 1997; Malberg and Duman, 2003; Chu et al., 2016), le facteur environnemental décrit comme le plus important dans la physiopathologie de la dépression (Paykel, 2003; Charney and Manji, 2004). Ceci a été conforté par l'observation d'une altération de la neurogénèse adulte dans un modèle induit de dépression, le modèle CORT (Murray et al., 2008; David et al., 2009). Cependant l'inhibition de la neurogénèse adulte chez les rongeurs n'a pas systématiquement entraîné une altération du comportement de type dépressif des animaux (Santarelli et al., 2003; Surget et al., 2011).

Plus récemment, le développement de techniques modulant directement la neurogénèse adulte a permis de réexaminer les relations entre la neurogénèse adulte hippocampique et le comportement de type dépressif. Plusieurs études ont montré l'implication de la neurogénèse adulte dans les effets comportementaux des antidépresseurs (Santarelli et al., 2003; Wang et al., 2008; David et al., 2009; Surget et al., 2011). Par exemple, l'inhibition de la neurogénèse adulte par irradiation induit l'abolition des effets bénéfiques de la fluoxétine, un des traitements de choix de la dépression (Santarelli et al., 2003). Ceci a très récemment été observé suite aux ECS répétées (Schloesser et al., 2015). Au cours de ma thèse, une étude a montré la nécessité d'une neurogénèse adulte fonctionnelle pour obtenir des effets bénéfiques d'une cure d'ECS dans le modèle CORT. En effet, lorsque la neurogénèse adulte est inhibée, il n'y a plus de restauration des défauts comportementaux suite aux ECS répétés (Schloesser et al., 2015). Ces résultats étayaient l'hypothèse de l'implication de la neurogénèse adulte comme base de l'amélioration comportementale induite par les ECS. Cependant, aucune étude n'avait montré une corrélation entre l'amélioration comportementale suivie d'une rechute après l'administration des ECS, et les modifications en parallèle de mécanismes biologiques. Un de nos objectifs a donc été de tenter de faire des corrélations entre les comportements (mesure de l'état « dépressif ») et le statut des différentes étapes de la neurogénèse adulte hippocampique. Ainsi dans notre travail, nous avons observé en accord avec les précédentes études (Madsen et al., 2000 b; Malberg et al., 2000; Yanpallewar et al., 2012), une augmentation de la prolifération des progéniteurs neuronaux dès les premiers jours suivant la fin d'une cure d'ECS. Cependant, chez la souris dans le mécanisme de neurogénèse adulte hippocampique, depuis la prolifération du progéniteur à l'intégration du nouveau neurone, au moins 4 semaines sont nécessaires. L'augmentation de la prolifération des progéniteurs post-

cure ne peut donc pas expliquer les effets bénéfiques comportementaux très rapides des ECS. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à l'effet d'une cure d'ECS sur la survie de la population neuronale âgée de 4 semaines de développement à la fin de la cure, et donc âgée de 2 semaines en début de traitement. Cette population était particulièrement intéressante à étudier car des travaux antérieurs indiquaient l'existence d'une période critique autour de la deuxième semaine de développement des nouveaux neurones, semaine durant laquelle la modulation de la neurogénèse par l'enrichissement environnemental (EE) ou l'apprentissage permettait une survie plus élevée (Tashiro et al., 2007; Bergami et al., 2015). Nous avons montré que les ECS augmentaient le taux de survie de cette population de nouveaux neurones et à notre connaissance c'est la première fois que cela est rapporté. En effet, comme décrit ci-dessus plusieurs études montraient que l'effet comportemental des antidépresseurs ou encore des ECS dans le test du NSF était dépendant de la neurogénèse adulte mais l'étape de la neurogénèse pouvant être responsable des effets bénéfiques n'avait pas été analysée. Dans notre cas, le protocole d'injection que nous avons utilisé a permis de montrer qu'une cure d'ECS stimule la survie d'une population cellulaire dont la prolifération a débuté 15 jours avant le traitement, et qui ne prolifère plus durant l'application des ECS répétées. Ainsi l'effet des ECS que nous observons ici semble directement lié à une stimulation du taux de survie et donc de l'intégration de ces nouveaux neurones. Nous montrons également que la différence de survie entre les souris traitées ECS et traitées sham est maintenue jusqu'à 40 jours après la fin de la cure, et que ce traitement n'empêche pas la décroissance du nombre de neurones au cours du temps. Ainsi, malgré un effet positif sur l'intégration des nouveaux neurones durant la cure, une fois la cure terminée, le taux de mort des nouveaux neurones n'est pas modifié par le traitement par ECS. En effet après la fin de la cure, la différence de neurones entre les animaux traités sham et les animaux traités ECS reste constante au cours du temps. Cette observation suggère que les ECS ont un effet bénéfique durant le traitement qui ne perdure pas, ce qui pourrait expliquer la rechute.

Si l'on analyse en parallèle les résultats de la survie des nouveaux neurones et les améliorations comportementales, nous observons qu'une différence significative du nombre de nouveaux neurones est toujours présente entre les souris KO MAP6 traitées ECS et les souris KO MAP6 traitées sham, alors que nous n'avons plus d'amélioration comportementale dans le test du NSF. Malgré la différence toujours significative, le nombre de nouveaux neurones encore présents étant faible, nous pensons qu'il n'y a plus suffisamment de neurones pour maintenir l'effet bénéfique des ECS. Ainsi, il existerait un seuil du nombre de nouveau neurone nécessaire à l'effet comportemental.

Nous avons montré, en cohérence avec d'autres études, qu'un traitement d'ECS augmente la prolifération des progéniteurs neuronaux. Cependant, depuis la prolifération, le nouveau neurone nécessite 4 semaines avant d'être mature et intégré, ainsi l'augmentation de la prolifération des progéniteurs durant l'application de la cure ne peut pas participer à l'amélioration comportementale que nous observons. On peut néanmoins supposer qu'ils pourraient avoir un rôle lors de la continuation du traitement par ECS. En effet, chez l'Homme, des ECT de continuation, qui consistent à administrer une séance régulièrement après la fin de la cure (1 séance toutes les semaines puis toutes les deux semaines) sont administrées, dans le but de maintenir les effets de la cure. On peut émettre l'hypothèse que l'administration de la cure d'ECS augmente la survie des neurones en cours d'intégration mais augmente aussi la prolifération des progéniteurs, et que des séances de continuation des ECS permettrait aux nouveaux neurones (issus du pool de progéniteurs stimulés par la cure ECS) de s'intégrer correctement dans le circuit préexistant permettant ainsi un maintien possible des effets bénéfiques des ECS. Pour tester cette hypothèse, nous pourrions injecter de l'EdU durant le début de la cure d'ECS, afin de marquer les progéniteurs proliférant durant cette période puis analyser l'effet d'ECS de continuation sur la survie et l'intégration de ces nouveaux neurones issus de l'augmentation de la prolifération des progéniteurs durant la cure.

Mécanismes biologiques et comportement

Les résultats de Schloesser et ses collègues (Schloesser et al., 2015), montrent que la neurogénèse adulte est impliquée dans les effets comportementaux des ECS pour le NSF et les comportements de toilettages. Nous avons montré que l'augmentation du taux d'intégration des nouveaux neurones semble être responsable de ses effets.

Dans les autres tests de comportements que nous avons réalisés (FST et interaction sociale), nous observons un décours temporel très différent de celui du NSF, avec une perte des effets comportementaux plus précoce. Les effets comportementaux des ECS dans ces tests pourraient être médiés par des mécanismes indépendants de la neurogénèse, comme cela a été montré pour les mécanismes d'action de la fluoxétine. En effet, une étude a observé que la délétion de la neurogénèse adulte n'induisait pas l'abolition des effets bénéfiques de la fluoxétine dans tous les tests de comportements réalisés, notamment celui de la nage forcée (David et al., 2009). Ainsi, la différence de décours temporel des effets comportementaux des ECS dans les trois tests que nous avons réalisés peuvent s'expliquer par l'implication de différents mécanismes biologiques pour chaque comportement. Les effets que nous observons pour le NSF seraient dépendants d'une augmentation de la neurogénèse adulte

hippocampique, alors que les effets dans le FST et le test d'interaction sociale pourraient être médiés par d'autres modifications biologiques.

Nos résultats comportementaux montrent la possibilité de suivre dans le temps l'évolution des effets comportementaux et biologiques chez les souris KO MAP6. Ainsi, les souris KO MAP6 sont un bon modèle permettant d'analyser le décours temporel des modifications comportementales parallèlement aux modifications de mécanismes biologiques, d'un traitement.

Cibles moléculaires des ECS

Le BDNF est un régulateur important de la neurogénèse adulte hippocampique (Scharfman et al., 2005; Bergami et al., 2009; Taliaz et al., 2010), et souvent décrit comme modifié suite aux ECS (Nibuya et al., 1995; Smith et al., 1997; Zetterström et al., 1998; Altar et al., 2003; Newton et al., 2003; Li et al., 2006, 2007). De plus, la délétion dans les progéniteurs neuronaux adultes, du récepteur au BDNF : TrkB, bloque la réponse aux antidépresseurs, montrant indirectement l'implication du BDNF dans les effets des traitements de la dépression (Bergami et al., 2008). Nous avons analysé si les ECS modifiaient l'expression du BDNF dans l'hippocampe des souris KO MAP6 et montré que l'expression du BDNF est augmentée dans l'hippocampe des souris KO MAP6 après l'administration d'ECS répétées parallèlement à une amélioration comportementale rapide après la fin de la cure.

La relation entre les taux de BDNF et les améliorations comportementales reste controversée. En effet, une étude a montré que l'augmentation du BDNF dans l'hippocampe n'était pas nécessaire aux effets comportementaux des ECS. Dans cette étude malgré l'inhibition de l'expression du BDNF dans l'hippocampe, les effets comportementaux des ECS sont maintenus dans les tests comportementaux utilisés, à savoir le FST et le test de préférence au sucrose, mesurant l'anhédonie (Taliaz et al., 2013). Dans cette étude les effets comportementaux des ECS mesurés par ces tests ne seraient donc pas dépendants du BDNF. Cependant, il est possible que d'autres améliorations comportementales comme celles mesurées dans le NSF, puissent être elles dépendantes du BDNF. Dans notre étude, il serait intéressant d'analyser l'expression du BDNF à différents temps après la fin de la cure dans le but d'éventuellement observer une corrélation entre les modifications d'expression du BDNF et les modifications comportementales.

Pour identifier de nouvelles pistes moléculaires responsables des effets bénéfiques des ECS ainsi qu'une possible piste sur les origines moléculaires de l'induction de la neurogénèse adulte par les ECS, nous avons réalisé une analyse des protéines pouvant être modifiées suite à ce traitement. Des modifications du taux de protéines entre les souris KO MAP6 traitées ECS par rapport aux souris traitées sham ont été observés, cependant ces variations sont trop faibles pour être considérées comme réellement dues au traitement. Les échantillons issus de cerveau total et/ou d'hippocampe ont été préparés à partir de trois animaux distincts et ont été analysés chacun par trois expériences indépendantes. L'ensemble des données montre une très bonne homogénéité dans les résultats et l'analyse statistique a été effectuée sur l'ensemble de ces données. Les études de protéomiques différentielles ne sont pas toujours effectuées avec la même rigueur et conduisent à l'identification de variations peu fiables. Une autre étude à analyser le protéome de l'hippocampe suite à l'administration d'un traitement ECS, dans des animaux naïfs. Ils donnent une liste de protéines variant (protéines aux fonctions liées au cytosquelette, à des mécanismes de plasticité ou au métabolisme mitochondriale), cependant leur variation est très faible, similaire à ce que nous trouvons. Il paraît étonnant qu'une si faible variation soit réellement due à un effet du traitement (O'Donovan et al., 2014). Nous n'observons pas d'augmentation importante des protéines de l'hippocampe dans notre modèle de pathologies psychiatriques, comme dans l'étude O'Donovan et ses collègues ont pu l'observer chez des animaux naïfs. Cette observation suggère que les ECS induisent une faible augmentation générale du système plutôt qu'une forte augmentation d'une voie de signalisation particulière.

Des études comparatives entre souris traitées ECS ou sham au niveau des ARNm voir des miARN seraient intéressantes. En effet, il a été montré que l'application d'ECS répétées induisait une augmentation de l'expression d'ARNm codant pour des facteurs de croissance tel que le BDNF, le VEGF et le FGF (Newton et al., 2003; Altar et al., 2004). Sachant que nous avons observé une augmentation de l'expression hippocampale des ARNm codant pour le BDNF, il serait intéressant de réaliser une étude plus générale des modifications possibles d'expression des ARNm, par des techniques de puces. Les modifications épigénétiques et la régulation par les miARN seraient également intéressantes à étudier dans notre modèle. En effet, une étude récente a montré une variation du miARN miR-451 suite à un stress, qui est restauré par l'administration de traitement de la dépression, dont les ECS (O'Connor et al., 2013). Une autre étude a également montré une variation des miARN tel que mir-212 lié à la régulation de l'expression du BDNF suite à l'administration d'ECS (Ryan et al., 2013).

L'hippocampe ventral comme potentiel médiateur des ECS

Il est de plus en plus mentionné dans la littérature une différence d'expression génique, de connectivité et de fonction entre l'hippocampe ventral et l'hippocampe dorsal (Fanselow and Dong, 2010; Kheirbek et al., 2013). De plus, certaines études montrent que le stress et les traitements antidépresseurs semblaient avoir un effet plus important dans l'hippocampe ventral (Tanti and Belzung, 2013; Wu and Hen, 2014). En accord avec ces observations, nous avons également remarqué que l'effet des ECS sur la neurogénèse adulte semblait plus important au niveau de l'hippocampe ventral. Tout ceci suggère que l'hippocampe ventral serait plus particulièrement impliqué dans la régulation des émotions et les effets des traitements antidépresseurs. Ceci peut être mis en relation avec le fait que l'hippocampe ventral a des connexions particulières avec l'hypothalamus, l'amygdale, le cortex préfrontal et le noyau accumbens; zones cruciales pour la régulation des émotions (Canteras and Swanson, 1992; Namura et al., 1994; Fanselow and Dong, 2010). De plus, les connexions avec l'hypothalamus et l'amygdale sont particulièrement intéressantes de par leur implication dans la régulation de l'axe HPA. Une des hypothèses des mécanismes responsables des effets antidépresseurs "neurogénèse dépendant", est une implication du rétrocontrôle négatif que l'hippocampe exerce sur l'axe HPA (Surget et al., 2011). En effet, il a été montré qu'une inhibition de la neurogénèse adulte altérait la réponse de l'axe HPA au stress et que la normalisation de l'activité de l'axe par un antidépresseur nécessitait une neurogénèse hippocampale fonctionnelle (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011; Surget et al., 2011). Ces études ont également montré que l'inhibition de la neurogénèse adulte n'altérait pas l'activité de l'axe HPA dans un état basal, alors qu'à la suite d'un stress, l'absence de neurogénèse induisait une altération de son activité (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011). Ainsi la neurogénèse adulte serait nécessaire à la régulation de l'activité de l'axe HPA en condition de stress et pour la réponse aux antidépresseurs. A ce jour, aucune donnée n'a montré l'implication directe des ECS sur l'axe HPA au travers de la neurogénèse adulte. Sachant que chez l'Homme, il a été montré que l'ECT induisait une normalisation de l'activité de l'axe HPA, qui est suractivé chez les patients dépressifs (Yuuki et al., 2005), il serait intéressant d'étudier l'activité de cet axe suite aux ECS.

ECS, arborisation dendritique et épines dendritiques

Les ECS peuvent induire d'autres mécanismes de plasticité neuronale comme la modification des connexions des nouveaux neurones et plus particulièrement l'unité responsable de ces connexions, les épines dendritiques. En effet, nous avons dans notre étude montrée que les ECS restaurent les défauts de densité d'épines dendritiques dans le cortex. Ainsi, la densité des épines peut être modifiée par les ECS. Ceci est en accord avec d'autres travaux qui ont montré que les ECS modulent les épines des nouveaux neurones (Zhao et al., 2012) ainsi que l'arborisation dendritique et les épines des neurones matures du gyrus denté chez des animaux naïfs (Yanpallewar et al., 2012; Zhao et al., 2012). C'est pourquoi, nous avons débuté une analyse de l'arborisation ainsi que de la densité des épines dendritiques des nouveaux neurones suite à une cure d'ECS. En effet, la modulation de ses deux aspects de la morphologie neuronale pourrait médier l'augmentation de la survie des nouveaux neurones suite aux ECS. Dans cette analyse, nous observons que l'arborisation des nouveaux neurones des souris KO MAP6 traitées ECS est plus développée que celle des souris KO MAP6 traitées sham. Nous observons également une augmentation de la densité des épines dendritiques dans la partie distale de l'arborisation dendritique des nouveaux neurones chez les animaux traités ECS par rapport aux animaux traités sham. De plus, la densité des épines de type « mushroom », (les épines les plus matures et les plus stables), est fortement augmentée. Ainsi, les ECS pourraient augmenter la complexité de l'arborisation dendritique, la densité synaptique dont celle des épines les plus stables, et induirait donc une amélioration des connexions que reçoivent les nouveaux neurones, permettant ainsi d'augmenter leur survie. Pour valider cette hypothèse, nous pourrions étudier suite à l'administration d'ECS répétées, les modifications éventuelles des connexions que reçoivent les nouveaux neurones. Il a été montré que ces connexions pouvaient être augmentées suite à l'enrichissement de l'environnement (Bergami et al., 2015), qui est connu pour augmenter la neurogénèse adulte. Pour cela, on pourrait utiliser l'injection dans l'hippocampe de deux types de virus: un rétrovirus ciblant spécifiquement les nouveaux neurones, suivie de l'utilisation du virus modifié de la rage capable de cibler les neurones précédemment infectés mais aussi de transduire au niveau synaptique une protéine marquée ce qui permettrait de visualiser les connexions afférentes primaires des nouveaux neurones (Deshpande et al., 2013).

Différence d'action des antidépresseurs et des ECS

Les ECS et les antidépresseurs ont des cibles communes et notamment la neurogénèse adulte hippocampique. Mais ces deux traitements ont une forte différence dans la rapidité d'action. En effet, les ECS sont utilisées majoritairement pour leur action rapide nécessaire

dans les situations d'urgence. Une possible explication à cette différence de décours temporel sur la symptomatologie de la dépression, pourrait être que chaque traitement va moduler la neurogénèse adulte différemment. Les ECS comme les antidépresseurs augmentent la prolifération des progéniteurs mais il semblerait que seul les ECS soient capables d'avoir une action directe sur l'intégration des nouveaux neurones permettant d'obtenir l'effet bénéfique de manière rapide. Les antidépresseurs quant à eux pourraient n'agir que sur la prolifération et les neurones nécessitant 4 semaines pour s'intégrer, les effets bénéfiques seraient beaucoup moins rapides. Ceci revient à dire que l'amélioration fonctionnelle est due à une intégration accrue de nouveaux neurones dans le circuit préexistant et à une augmentation de l'efficacité de connexion de ces nouveaux neurones (augmentation du nombre d'épines et de la complexité de l'arborisation dendritique).

Plasticité synaptique et ECS

Les souris KO MAP6 exhibant un déficit de plasticité synaptique (dus à des défauts de la transmission glutamatergique), nous avons donc entrepris l'analyse de cette plasticité suite à un traitement par ECS. Nous avons observé que les phénomènes de plasticité (LTP et PTP) ne sont pas améliorés suite aux ECS. Ses résultats peuvent s'expliquer par le fait que l'administration d'ECT induit des troubles mnésiques chez l'Homme. En effet, la LTP a été décrite comme le mécanisme moléculaire de la mémoire, ainsi cela pourrait expliquer les résultats que nous obtenons. Il pourrait être intéressant d'étudier de nouveau la plasticité synaptique mais à des temps plus éloignés de la fin de la cure, afin de s'affranchir de l'effet délétère de la cure qui masquerait les possibles améliorations de la plasticité synaptique.

Conclusion générale.

Pour la première fois, notre étude montre que l'administration répétée d'ECS à des animaux modèles de pathologie psychiatrique stimule le taux d'intégration des nouveaux neurones issus de la neurogénèse hippocampique. De plus, nos résultats suggèrent que l'augmentation du taux de nouveaux neurones survivants pourrait passer par une augmentation de la complexité de leur arborisation dendritique et de la densité d'épines dendritiques favorisant ainsi probablement une meilleure intégration au réseau environnant. L'étude des connexions de ces nouveaux neurones permettrait de valider ou d'infirmer cette hypothèse.

Notre étude a également permis de montrer que l'analyse de la cinétique des effets bénéfiques d'un traitement peut être étudiée dans notre modèle animal de pathologie psychiatrique: les souris KO MAP6. De plus, l'étude au laboratoire des fonctions de MAP6, pourra peut-être permettre de proposer de nouveaux mécanismes sur lesquels orienter les recherches des effets moléculaires des ECS. Comme le montre l'étude présentée dans l'article 2, MAP6 peut être impliquée dans des mécanismes non liés à ses fonctions microtubulaires, comme dans la voie de signalisation sémaphorine 3E. Mieux comprendre les fonctions moléculaires de MAP6, apportera peut-être de nouvelles hypothèses des mécanismes moléculaires impliqués dans les effets des traitements ECS.

Bibliographie

A, K. Epopthilone D (Kosan/Roche). *Curr. Opin. Investig. Drugs Lond. Engl.* 2000 **2004**, 5 (6), 657–667.

A M Craig; Banker, and G. Neuronal Polarity. *Annu. Rev. Neurosci.* **1994**, 17 (1), 267–310.

Aguezzoul, M.; Andrieux, A.; Denarier, E. Overlap of Promoter and Coding Sequences in the Mouse STOP Gene (Mtap6)[☆]. *Genomics* **2003**, 81 (6), 623–627.

Aimone, J. B.; Li, Y.; Lee, S. W.; Clemenson, G. D.; Deng, W.; Gage, F. H. Regulation and Function of Adult Neurogenesis: From Genes to Cognition. *Physiol. Rev.* **2014**, 94 (4), 991–1026.

Akbarian, S.; Huang, H.-S. Molecular and Cellular Mechanisms of Altered GAD1/GAD67 Expression in Schizophrenia and Related Disorders. *Brain Res. Rev.* **2006**, 52 (2), 293–304.

Altar, C. A.; Whitehead, R. E.; Chen, R.; Wörtwein, G.; Madsen, T. M. Effects of Electroconvulsive Seizures and Antidepressant Drugs on Brain-Derived Neurotrophic Factor Protein in Rat Brain. *Biol. Psychiatry* **2003**, 54 (7), 703–709.

Altar, C. A.; Laeng, P.; Jurata, L. W.; Brockman, J. A.; Lemire, A.; Bullard, J.; Bukhman, Y. V.; Young, T. A.; Charles, V.; Palfreyman, M. G. Electroconvulsive Seizures Regulate Gene Expression of Distinct Neurotrophic Signaling Pathways. *J. Neurosci.* **2004**, 24 (11), 2667–2677.

Anderson, M. L.; Sisti, H. M.; Curlik, D. M.; Shors, T. J. Associative Learning Increases Adult Neurogenesis during a Critical Period. *Eur. J. Neurosci.* **2011**, 33 (1), 175–181.

Andrieux, A.; Salin, P. A.; Vernet, M.; Kujala, P.; Baratier, J.; Gory-Fauré, S.; Bosc, C.; Pointu, H.; Proietto, D.; Schweitzer, A.; et al. The Suppression of Brain Cold-Stable Microtubules in Mice Induces Synaptic Defects Associated with Neuroleptic-Sensitive Behavioral Disorders. *Genes Dev.* **2002**, 16 (18), 2350–2364.

Andrieux, A.; Salin, P.; Schweitzer, A.; Bégou, M.; Pachoud, B.; Brun, P.; Gory-Fauré, S.; Kujala, P.; Suaud-Chagny, M.-F.; Höfle, G.; et al. Microtubule Stabilizer Ameliorates Synaptic Function and Behavior in a Mouse Model for Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2006**, 60 (11), 1224–1230.

Anwyl, R.; Walshe, J.; Rowan, M. Electroconvulsive Treatment Reduces Long-Term Potentiation in Rat Hippocampus. *Brain Res.* **1987**, 435 (1–2), 377–379.

Arnone, D.; McIntosh, A. M.; Tan, G. M. Y.; Ebmeier, K. P. Meta-Analysis of Magnetic Resonance Imaging Studies of the Corpus Callosum in Schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2008**, 101 (1–3), 124–132.

Avila, J.; Lucas, J. J.; Pérez, M.; Hernández, F. Role of Tau Protein in Both Physiological and Pathological Conditions. *Physiol. Rev.* **2004**, 84 (2), 361–384.

Baas, P. W.; Slaughter, T.; Brown, A.; Black, M. M. Microtubule Dynamics in Axons and Dendrites. *J. Neurosci. Res.* **1991**, 30 (1), 134–153.

Bahi-Buisson, N.; Souville, I.; Fourniol, F. J.; Toussaint, A.; Moores, C. A.; Houdusse, A.; Lemaitre, J. Y.; Poirier, K.; Khalaf-Nazzal, R.; Hully, M.; et al. New Insights into Genotype–phenotype Correlations for the Doublecortin-Related Lissencephaly Spectrum. *Brain* **2013**, 136 (1), 223–244.

Bajkowska, M.; Brański, P.; Smiałowska, M.; Pilc, A. Effect of Chronic Antidepressant or Electroconvulsive Shock Treatment on mGluR1a Immunoreactivity Expression in the Rat Hippocampus. *Pol. J. Pharmacol.* **1999**, *51* (6), 539–541.

Baldinger, P.; Lotan, A.; Frey, R.; Kasper, S.; Lerer, B.; Lanzenberger, R. Neurotransmitters and Electroconvulsive Therapy: *J. ECT* **2014**, *30* (2), 116–121.

Banasr, M.; Hery, M.; Printemps, R.; Daszuta, A. Serotonin-Induced Increases in Adult Cell Proliferation and Neurogenesis Are Mediated Through Different and Common 5-HT Receptor Subtypes in the Dentate Gyrus and the Subventricular Zone. *Neuropsychopharmacology* **2003**, *29* (3), 450–460.

Banasr, M.; Dwyer, J. M.; Duman, R. S. Cell Atrophy and Loss in Depression: Reversal by Antidepressant Treatment. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2011**, *23* (6), 730–737.

Banerjee, S. B.; Rajendran, R.; Dias, B. G.; Ladiwala, U.; Tole, S.; Vaidya, V. A. Recruitment of the Sonic Hedgehog Signalling Cascade in Electroconvulsive Seizure-Mediated Regulation of Adult Rat Hippocampal Neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* **2005**, *22* (7), 1570–1580.

Baratier, J.; Peris, L.; Brocard, J.; Gory-Fauré, S.; Dufour, F.; Bosc, C.; Fourest-Lieuvin, A.; Blanchoin, L.; Salin, P.; Job, D.; et al. Phosphorylation of Microtubule-Associated Protein STOP by Calmodulin Kinase II. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281* (28), 19561–19569.

Barden, N.; Reul, J. M. H. M.; Holsboer, F. Do Antidepressants Stabilize Mood through Actions on the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical System? *Trends Neurosci.* **1995**, *18* (1), 6–11.

Battista, D.; Ferrari, C. C.; Gage, F. H.; Pitossi, F. J. Neurogenic Niche Modulation by Activated Microglia: Transforming Growth Factor B Increases Neurogenesis in the Adult Dentate Gyrus. *Eur. J. Neurosci.* **2006**, *23* (1), 83–93.

Bayer, T. A.; Buslei, R.; Havas, L.; Falkai, P. Evidence for Activation of Microglia in Patients with Psychiatric Illnesses. *Neurosci. Lett.* **1999**, *271* (2), 126–128.

Bégou, M.; Brun, P.; Bertrand, J.-B.; Job, D.; Schweitzer, A.; D'Amato, T.; Saoud, M.; Andrieux, A.; Suaud-Chagny, M.-F. Post-Pubertal Emergence of Alterations in Locomotor Activity in Stop Null Mice. *Synapse* **2007**, *61* (9), 689–697.

Bégou, M.; Volle, J.; Bertrand, J.-B.; Brun, P.; Job, D.; Schweitzer, A.; Saoud, M.; D'Amato, T.; Andrieux, A.; Suaud-Chagny, M.-F. The Stop Null Mice Model for Schizophrenia Displays Cognitive and Social Deficits Partly Alleviated by Neuroleptics. *Neuroscience* **2008**, *157* (1), 29–39.

Belvindrah, R.; Nissant, A.; Lledo, P.-M. Abnormal Neuronal Migration Changes the Fate of Developing Neurons in the Postnatal Olfactory Bulb. *J. Neurosci.* **2011**, *31* (20), 7551–7562.

Benardais, K.; Kasem, B.; Couegnas, A.; Samama, B.; Fernandez, S.; Schaeffer, C.; Antal, M.-C.; Job, D.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; et al. Loss of STOP Protein Impairs Peripheral Olfactory Neurogenesis. *PLoS ONE* **2010**, *5* (9), e12753.

Bennett, M. R. The Prefrontal-limbic Network in Depression: A Core Pathology of Synapse Regression. *Prog. Neurobiol.* **2011**, *93* (4), 457–467.

Bergami, M.; Rimondini, R.; Santi, S.; Blum, R.; Götz, M.; Canossa, M. Deletion of TrkB in Adult Progenitors Alters Newborn Neuron Integration into Hippocampal Circuits and Increases Anxiety-like Behavior. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, *105* (40), 15570–15575.

Bergami, M.; Berninger, B.; Canossa, M. Conditional Deletion of TrkB Alters Adult Hippocampal Neurogenesis and Anxiety-Related Behavior. *Commun. Integr. Biol.* **2009**, *2* (1), 14.

Bergami, M.; Masserdotti, G.; Temprana, S. G.; Motori, E.; Eriksson, T. M.; Göbel, J.; Yang, S. M.; Conzelmann, K.-K.; Schinder, A. F.; Götz, M.; et al. A Critical Period for Experience-Dependent Remodeling of Adult-Born Neuron Connectivity. *Neuron* **2015**, *85* (4), 710–717.

Bergen, L. G.; Borisy, G. G. Head-to-Tail Polymerization of Microtubules in Vitro. Electron Microscope Analysis of Seeded Assembly. *J. Cell Biol.* **1980**, *84* (1), 141–150.

Bernier, P. J.; Bédard, A.; Vinet, J.; Lévesque, M.; Parent, A. Newly Generated Neurons in the Amygdala and Adjoining Cortex of Adult Primates. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2002**, *99* (17), 11464–11469.

Bianchi, M.; Baulieu, E.-E. 3 β -Methoxy-Pregnenolone (MAP4343) as an Innovative Therapeutic Approach for Depressive Disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2012**, *109* (5), 1713–1718.

Bianchi, M.; Shah, A. J.; Fone, K. C. F.; Atkins, A. R.; Dawson, L. A.; Heidbreder, C. A.; Hows, M. E.; Hagan, J. J.; Marsden, C. A. Fluoxetine Administration Modulates the Cytoskeletal Microtubular System in the Rat Hippocampus. *Synap. N. Y. N* **2009**, *63* (4), 359–364.

Biebl, M.; Cooper, C. M.; Winkler, J.; Kuhn, H. G. Analysis of Neurogenesis and Programmed Cell Death Reveals a Self-Renewing Capacity in the Adult Rat Brain. *Neurosci. Lett.* **2000**, *291* (1), 17–20.

Biedermann, S.; Weber-Fahr, W.; Zheng, L.; Hoyer, C.; Vollmayr, B.; Gass, P.; Ende, G.; Sartorius, A. Increase of Hippocampal Glutamate after Electroconvulsive Treatment: A Quantitative Proton MR Spectroscopy Study at 9.4 T in an Animal Model of Depression. *World J. Biol. Psychiatry* **2012**, *13* (6), 447–457.

Binder, L. I.; Frankfurter, A.; Rebhun, L. I. The Distribution of Tau in the Mammalian Central Nervous System. *J. Cell Biol.* **1985**, *101* (4), 1371–1378.

Black, E. J.; Catling, A. D.; Woodgett, J. R.; Kilbey, A.; Gillespie, D. A. Transcriptional Activation by the v-Jun Oncoprotein Is Independent of Positive Regulatory Phosphorylation. *Oncogene* **1994**, *9* (8), 2363–2368.

Blanpied, T. A.; Ehlers, M. D. Microanatomy of Dendritic Spines: Emerging Principles of Synaptic Pathology in Psychiatric and Neurological Disease. *Biol. Psychiatry* **2004**, *55* (12), 1121–1127.

Bocchio-Chiavetto, L.; Zanardini, R.; Bortolomasi, M.; Abate, M.; Segala, M.; Giacomuzzi, M.; Riva, M. A.; Marchina, E.; Pasqualetti, P.; Perez, J.; et al. Electroconvulsive Therapy (ECT) Increases Serum Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Drug Resistant Depressed Patients. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2006**, *16* (8), 620–624.

Bondallaz, P.; Barbier, A.; Soehrman, S.; Grenningloh, G.; Riederer, B. M. The Control of Microtubule Stability in Vitro and in Transfected Cells by MAP1B and SCG10. *Cell Motil. Cytoskeleton* **2006**, *63* (11), 681–695.

Bosc, C.; Cronk, J. D.; Pirollet, F.; Watterson, D. M.; Haiech, J.; Job, D.; Margolis, R. L. Cloning, Expression, and Properties of the Microtubule-Stabilizing Protein STOP. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1996**, *93* (5), 2125–2130.

Bosc, C.; Frank, R.; Denarier, E.; Ronjat, M.; Schweitzer, A.; Wehland, J.; Job, D. Identification of Novel Bifunctional Calmodulin-Binding and Microtubule-Stabilizing Motifs in STOP Proteins. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276* (33), 30904–30913.

Bosc, C.; Andrieux, A.; Job, D. STOP Proteins. *Biochemistry (Mosc.)* **2003**, *42* (42), 12125–12132.

Bouckaert, F.; De Winter, F.-L.; Emsell, L.; Dols, A.; Rhebergen, D.; Wampers, M.; Sunaert, S.; Stek, M.; Sienaert, P.; Vandenbulcke, M. Grey Matter Volume Increase Following Electroconvulsive Therapy in Patients with Late Life Depression: A Longitudinal MRI Study. *J. Psychiatry Neurosci.* **2016**, *41* (2), 105–114.

Bouvrais-Veret, C.; Weiss, S.; Andrieux, A.; Schweitzer, A.; McIntosh, J. M.; Job, D.; Giros, B.; Martres, M.-P. Sustained Increase of alpha7 Nicotinic Receptors and Choline-Induced Improvement of Learning Deficit in STOP Knock-out Mice. *Neuropharmacology* **2007**, *52* (8), 1691–1700.

Bouvrais-Veret, C.; Weiss, S.; Hanoun, N.; Andrieux, A.; Schweitzer, A.; Job, D.; Hamon, M.; Giros, B.; Martres, M.-P. Microtubule-Associated STOP Protein Deletion Triggers Restricted Changes in Dopaminergic Neurotransmission. *J. Neurochem.* **2008**, *104* (3), 745–756.

Bradshaw, N. J.; Porteous, D. J. DISC1-Binding Proteins in Neural Development, Signalling and Schizophrenia. *Neuropharmacology* **2012**, *62* (3), 1230–1241.

Brady, L. S.; Lynn, A. B.; Glowa, J. R.; Le, D. Q.; Herkenham, M. Repeated Electroconvulsive Shock Produces Long-Lasting Increases in Messenger RNA Expression of Corticotropin-Releasing Hormone and Tyrosine Hydroxylase in Rat Brain. Therapeutic Implications. *J. Clin. Invest.* **1994**, *94* (3), 1263–1268.

Brandt, R.; Lee, G. The Balance Between T Protein's Microtubule Growth and Nucleation Activities: Implications for the Formation of Axonal Microtubules. *J. Neurochem.* **1993**, *61* (3), 997–1005.

Brenner, E.; Sonnewald, U.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; Nehlig, A. Hypoglutamatergic Activity in the STOP Knockout Mouse: A Potential Model for Chronic Untreated Schizophrenia. *J. Neurosci. Res.* **2007**, *85* (15), 3487–3493.

Brezun, J. .; Daszuta, A. Depletion in Serotonin Decreases Neurogenesis in the Dentate Gyrus and the Subventricular Zone of Adult Rats. *Neuroscience* **1999**, *89* (4), 999–1002.

Brezun, J. M.; Daszuta, A. Serotonin May Stimulate Granule Cell Proliferation in the Adult Hippocampus, as Observed in Rats Grafted with Foetal Raphe Neurons. *Eur. J. Neurosci.* **2000**, *12* (1), 391–396.

Broadbelt, K.; Byne, W.; Jones, L. B. Evidence for a Decrease in Basilar Dendrites of Pyramidal Cells in Schizophrenic Medial Prefrontal Cortex. *Schizophr. Res.* **2002**, *58* (1), 75–81.

Brown, A. S.; Cohen, P.; Harkavy-Friedman, J.; Babulas, V.; Malaspina, D.; Gorman, J. M.; Susser, E. S. Prenatal Rubella, Premorbid Abnormalities, and Adult Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2001**, *49* (6), 473–486.

Brown, A. S.; Borgmann-Winter, K.; Hahn, C.-G.; Role, L.; Talmage, D.; Gur, R.; Chow, J.; Prado, P.; McCloskey, T.; Bao, Y.; et al. Increased Stability of Microtubules in Cultured Olfactory Neuroepithelial Cells from Individuals with Schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2014**, *48*, 252–258.

Brown, J. P.; Couillard-Després, S.; Cooper-Kuhn, C. M.; Winkler, J.; Aigner, L.; Kuhn, H. G. Transient Expression of Doublecortin during Adult Neurogenesis. *J. Comp. Neurol.* **2003**, *467* (1), 1–10.

Bruel-Jungerman, E.; Davis, S.; Rampon, C.; Laroche, S. Long-Term Potentiation Enhances Neurogenesis in the Adult Dentate Gyrus. *J. Neurosci.* **2006**, *26* (22), 5888–5893.

Bruel-Jungerman, E.; Rampon, C.; Laroche, S. Adult Hippocampal Neurogenesis, Synaptic Plasticity and Memory: Facts and Hypotheses. *Rev. Neurosci.* **2007**, *18* (2).

Brugg, B.; Matus, A. Phosphorylation Determines the Binding of Microtubule-Associated Protein 2 (MAP2) to Microtubules in Living Cells. *J. Cell Biol.* **1991**, *114* (4), 735–743.

Brun, P.; Bégou, M.; Andrieux, A.; Mouly-Badina, L.; Clerget, M.; Schweitzer, A.; Scarna, H.; Renaud, B.; Job, D.; Suaud-Chagny, M.-F. Dopaminergic Transmission in STOP Null Mice. *J. Neurochem.* **2005**, *94* (1), 63–73.

Brunden, K. R.; Zhang, B.; Carroll, J.; Yao, Y.; Potuzak, J. S.; Hogan, A.-M. L.; Iba, M.; James, M. J.; Xie, S. X.; Ballatore, C.; et al. Epithilone D Improves Microtubule Density, Axonal Integrity, and Cognition in a Transgenic Mouse Model of Tauopathy. *J. Neurosci.* **2010**, *30* (41), 13861–13866.

Buckmaster, P. S. Mossy Fiber Sprouting in the Dentate Gyrus. In *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies*; Noebels, J. L., Avoli, M., Rogawski, M. A., Olsen, R. W., Delgado-Escueta, A. V., Eds.; National Center for Biotechnology Information (US): Bethesda (MD), 2012.

Buckwalter, M. S.; Yamane, M.; Coleman, B. S.; Ormerod, B. K.; Chin, J. T.; Palmer, T.; Wyss-Coray, T. Chronically Increased Transforming Growth Factor- β 1 Strongly Inhibits Hippocampal Neurogenesis in Aged Mice. *Am. J. Pathol.* **2006**, *169* (1), 154–164.

Burnet, P. W. J.; Miller, R.; Lewis, L. J.; Pei, Q.; Sharp, T.; Harrison, P. J. Electroconvulsive Shock Increases Tachykinin NK1 Receptors, but Not the Encoding mRNA, in Rat Cortex. *Eur. J. Pharmacol.* **2001**, *413* (2–3), 213–219.

Burnet, P. W.; Mead, A.; Eastwood, S. L.; Lacey, K.; Harrison, P. J.; Sharp, T. Repeated ECS Differentially Affects Rat Brain 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} Receptor Expression. *Neuroreport* **1995**, *6* (6), 901–904.

Bushnell, P. J.; Levin, E. D.; Overstreet, D. H. Spatial Working and Reference Memory in Rats Bred for Autonomic Sensitivity to Cholinergic Stimulation: Acquisition, Accuracy, Speed, and Effects of Cholinergic Drugs. *Neurobiol. Learn. Mem.* **1995**, *63* (2), 116–132.

Caceres, A.; Binder, L. I.; Payne, M. R.; Bender, P.; Rebhun, L.; Steward, O. Differential Subcellular Localization of Tubulin and the Microtubule-Associated Protein MAP2 in Brain Tissue as Revealed by Immunocytochemistry with Monoclonal Hybridoma Antibodies. *J. Neurosci.* **1984 a**, *4* (2), 394–410.

Caceres, A.; Banker, G.; Steward, O.; Binder, L.; Payne, M. MAP2 Is Localized to the Dendrites of Hippocampal Neurons Which Develop in Culture. *Brain Res.* **1984 b**, *315* (2), 314–318.

Caceres, A.; Mautino, J.; Kosik, K. S. Suppression of MAP2 in Cultured Cerebellar Macroneurons Inhibits Minor Neurite Formation. *Neuron* **1992**, *9* (4), 607–618.

Calabrese, F.; Riva, M. A.; Molteni, R. Synaptic Alterations Associated with Depression and Schizophrenia: Potential as a Therapeutic Target. *Expert Opin. Ther. Targets* **2016**, *0* (0), 1–13.

Calof, A. L.; Hagiwara, N.; Holcomb, J. D.; Mumm, J. S.; Shou, J. Neurogenesis and Cell Death in Olfactory Epithelium. *J. Neurobiol.* **1996**, *30* (1), 67–81.

Cameron, H. A.; Gould, E. Adult Neurogenesis Is Regulated by Adrenal Steroids in the Dentate Gyrus. *Neuroscience* **1994**, *61* (2), 203–209.

Campbell, S.; MacQueen, G. An Update on Regional Brain Volume Differences Associated with Mood Disorders. *Curr. Opin. Psychiatry* **2006**, *19* (1), 25–33.

Campellone, K. G.; Welch, M. D. A Nucleator Arms Race: Cellular Control of Actin Assembly. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2010**, *11* (4), 237–251.

Cannon, M.; Jones, P. B.; Murray, R. M. Obstetric Complications and Schizophrenia: Historical and Meta-Analytic Review. *Am. J. Psychiatry* **2002**, *159* (7), 1080–1092.

Canteras, N. S.; Swanson, L. W. Projections of the Ventral Subiculum to the Amygdala, Septum, and Hypothalamus: A PHAL Anterograde Tract-Tracing Study in the Rat. *J. Comp. Neurol.* **1992**, *324* (2), 180–194.

Cao, L.; Jiao, X.; Zuzga, D. S.; Liu, Y.; Fong, D. M.; Young, D.; During, M. J. VEGF Links Hippocampal Activity with Neurogenesis, Learning and Memory. *Nat. Genet.* **2004**, *36* (8), 827–835.

Cardno, A. G.; Gottesman, I. I. Twin Studies of Schizophrenia: From Bow-and-Arrow Concordances to Star Wars Mx and Functional Genomics. *Am. J. Med. Genet.* **2000**, *97* (1), 12–17.

Carroll, B. J.; Cassidy, F.; Naftolowitz, D.; Tatham, N. E.; Wilson, W. H.; Iranmanesh, A.; Liu, P. Y.; Veldhuis, J. D. Pathophysiology of Hypercortisolism in Depression. *Acta Psychiatr. Scand.* **2007**, *115*, 90–103.

Carroll, B. J.; Iranmanesh, A.; Keenan, D. M.; Cassidy, F.; Wilson, W. H.; Veldhuis, J. D. Pathophysiology of Hypercortisolism in Depression: Pituitary and Adrenal Responses to Low Glucocorticoid Feedback. *Acta Psychiatr. Scand.* **2012**, *125* (6), 478–491.

Caspi, A.; Sugden, K.; Moffitt, T. E.; Taylor, A.; Craig, I. W.; Harrington, H.; McClay, J.; Mill, J.; Martin, J.; Braithwaite, A.; et al. Influence of Life Stress on Depression: Moderation by a Polymorphism in the 5-HTT Gene. *Science* **2003**, *301* (5631), 386–389.

Castner, S. A.; Goldman-Rakic, P. S. Long-Lasting Psychotomimetic Consequences of Repeated Low-Dose Amphetamine Exposure in Rhesus Monkeys. *Neuropsychopharmacology* **1999**, *20* (1), 10–28.

Chaput, Y.; de Montigny, C.; Blier, P. Presynaptic and Postsynaptic Modifications of the Serotonin System by Long-Term Administration of Antidepressant Treatments. An in Vivo Electrophysiologic Study in the Rat. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* **1991**, *5* (4), 219–229.

Charlet, A.; Muller, A. H.; Laux, A.; Kemmel, V.; Schweitzer, A.; Deloulme, J.-C.; Stuber, D.; Delalande, F.; Bianchi, E.; Van Dorsselaer, A.; et al. Abnormal Nociception and Opiate Sensitivity of STOP Null Mice Exhibiting Elevated Levels of the Endogenous Alkaloid Morphine. *Mol. Pain* **2010**, *6*, 96.

Charney, D. S.; Manji, H. K. Life Stress, Genes, and Depression: Multiple Pathways Lead to Increased Risk and New Opportunities for Intervention. *Sci STKE* **2004**, 2004 (225), re5–re5.

Chauvet, S.; Cohen, S.; Yoshida, Y.; Fekrane, L.; Livet, J.; Gayet, O.; Segu, L.; Buhot, M.-C.; Jessell, T. M.; Henderson, C. E.; et al. Gating of Sema3E/PlexinD1 Signaling by Neuropilin-1 Switches Axonal Repulsion to Attraction during Brain Development. *Neuron* **2007**, 56 (5), 807–822.

Chen, B.; Dowlatshahi, D.; MacQueen, G. M.; Wang, J.-F.; Young, L. T. Increased Hippocampal Bdnf Immunoreactivity in Subjects Treated with Antidepressant Medication. *Biol. Psychiatry* **2001**, 50 (4), 260–265.

Chen, F.; Madsen, T. M.; Wegener, G.; Nyengaard, J. R. Repeated Electroconvulsive Seizures Increase the Total Number of Synapses in Adult Male Rat Hippocampus. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2009**, 19 (5), 329–338.

Chen, . ECS-Induced Mossy Fiber Sprouting and BDNF Expression Are At... : The Journal of ECT
http://journals.lww.com/ectjournal/Fulltext/2001/03000/ECS_Induced_Mossy_Fiber_Sprouting_and_BDNF.6.aspx (accessed Sep 15, 2016).

Choi, K. H.; Zepp, M. E.; Higgs, B. W.; Weickert, C. S.; Webster, M. J. Expression Profiles of Schizophrenia Susceptibility Genes during Human Prefrontal Cortical Development. *J. Psychiatry Neurosci. JPN* **2009**, 34 (6), 450.

Christensen, D. Z.; Olesen, M. V.; Kristiansen, H.; Mikkelsen, J. D.; Woldbye, D. P. D. Unaltered Neuropeptide Y (NPY)-Stimulated [³⁵S]GTPγS Binding Suggests a Net Increase in NPY Signalling after Repeated Electroconvulsive Seizures in Mice. *J. Neurosci. Res.* **2006**, 84 (6), 1282–1291.

Chu, X.; Zhou, Y.; Hu, Z.; Lou, J.; Song, W.; Li, J.; Liang, X.; Chen, C.; Wang, S.; Yang, B.; et al. 24-Hour-Restraint Stress Induces Long-Term Depressive-like Phenotypes in Mice. *Sci. Rep.* **2016**, 6, 32935.

Cingolani, L. A.; Goda, Y. Actin in Action: The Interplay between the Actin Cytoskeleton and Synaptic Efficacy. *Nat. Rev. Neurosci.* **2008**, 9 (5), 344–356.

Clelland, C. D.; Choi, M.; Romberg, C.; Clemenson, G. D.; Fragniere, A.; Tyers, P.; Jessberger, S.; Saksida, L. M.; Barker, R. A.; Gage, F. H.; et al. A Functional Role for Adult Hippocampal Neurogenesis in Spatial Pattern Separation. *Science* **2009**, 325 (5937), 210–213.

Cleveland, D. W.; Hwo, S.-Y.; Kirschner, M. W. Physical and Chemical Properties of Purified Tau Factor and the Role of Tau in Microtubule Assembly. *J. Mol. Biol.* **1977**, 116 (2), 227–247.

Coffey, C. E.; Weiner, R. D.; Djang, W. T.; Figiel, G. S.; Soady, S. A. R.; Patterson, L. J.; Holt, P. D.; Spritzer, C. E.; Wilkinson, W. E. Brain Anatomic Effects of Electroconvulsive Therapy A Prospective Magnetic Resonance Imaging Study. *Arch. Gen. Psychiatry* **1991**, 48 (11), 1013–1021.

Conti, B.; Maier, R.; Barr, A. M.; Morale, M. C.; Lu, X.; Sanna, P. P.; Bilbe, G.; Hoyer, D.; Bartfai, T. Region-Specific Transcriptional Changes Following the Three Antidepressant Treatments Electro Convulsive Therapy, Sleep Deprivation and Fluoxetine. *Mol. Psychiatry* **2006**, 12 (2), 167–189.

Couégnas, A.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; Ghandour, M. S.; Boehm, N. Expression Pattern of Stop lacZ Reporter Gene in Adult and Developing Mouse Brain. *J. Neurosci. Res.* **2007**, *85* (7), 1515–1527.

Curley, A. A.; Arion, D.; Volk, D. W.; Asafu-Adjei, J. K.; Sampson, A. R.; Fish, K. N.; Lewis, D. A. Cortical Deficits of Glutamic Acid Decarboxylase 67 Expression in Schizophrenia: Clinical, Protein, and Cell Type-Specific Features. *Am. J. Psychiatry* **2011**, *168* (9), 921–929.

Czéh, B.; Michaelis, T.; Watanabe, T.; Frahm, J.; Biurrun, G. de; Kampen, M. van; Bartolomucci, A.; Fuchs, E. Stress-Induced Changes in Cerebral Metabolites, Hippocampal Volume, and Cell Proliferation Are Prevented by Antidepressant Treatment with Tianeptine. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98* (22), 12796–12801.

Czéh, B.; Müller-Keuker, J. I. H.; Rygula, R.; Abumaria, N.; Hiemke, C.; Domenici, E.; Fuchs, E. Chronic Social Stress Inhibits Cell Proliferation in the Adult Medial Prefrontal Cortex: Hemispheric Asymmetry and Reversal by Fluoxetine Treatment. *Neuropsychopharmacology* **2006**, *32* (7), 1490–1503.

Daoust, A.; Bohic, S.; Saoudi, Y.; Debacker, C.; Gory-Fauré, S.; Andrieux, A.; Barbier, E. L.; Deloulme, J.-C. Neuronal Transport Defects of the MAP6 KO Mouse – a Model of Schizophrenia – and Alleviation by Epothilone D Treatment, as Observed Using MEMRI. *NeuroImage* **2014**, *96*, 133–142.

David, D. J.; Samuels, B. A.; Rainer, Q.; Wang, J.-W.; Marsteller, D.; Mendez, I.; Drew, M.; Craig, D. A.; Guiard, B. P.; Guilloux, J.-P.; et al. Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron* **2009**, *62* (4), 479–493.

Dayer, A. G.; Cleaver, K. M.; Abouantoun, T.; Cameron, H. A. New GABAergic Interneurons in the Adult Neocortex and Striatum Are Generated from Different Precursors. *J. Cell Biol.* **2005**, *168* (3), 415–427.

Delotterie, D.; Ruiz, G.; Brocard, J.; Schweitzer, A.; Roucard, C.; Roche, Y.; Suaud-Chagny, M.-F.; Bressand, K.; Andrieux, A. Chronic Administration of Atypical Antipsychotics Improves Behavioral and Synaptic Defects of STOP Null Mice. *Psychopharmacology (Berl.)* **2010**, *208* (1), 131–141.

Deloulme, J.-C.; Gory-Fauré, S.; Mauconduit, F.; Chauvet, S.; Jonckheere, J.; Boulan, B.; Mire, E.; Xue, J.; Jany, M.; Maucler, C.; et al. Microtubule-Associated Protein 6 Mediates Neuronal Connectivity through Semaphorin 3E-Dependent Signalling for Axonal Growth. *Nat. Commun.* **2015**, *6*.

Delphin, C.; Bouvier, D.; Seggio, M.; Couriol, E.; Saoudi, Y.; Denarier, E.; Bosc, C.; Valiron, O.; Bisbal, M.; Arnal, I.; et al. MAP6-F Is a Temperature Sensor That Directly Binds to and Protects Microtubules from Cold-Induced Depolymerization. *J. Biol. Chem.* **2012**, *287* (42), 35127–35138.

Denarier, E.; Aguezoul, M.; Jolly, C.; Vourc'h, C.; Roure, A.; Andrieux, A.; Bosc, C.; Job, D. Genomic Structure and Chromosomal Mapping of the Mouse STOP Gene (Mtap6). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1998 a**, *243* (3), 791–796.

Denarier, E.; Fourest-Lieuvin, A.; Bosc, C.; Pirollet, F.; Chapel, A.; Margolis, R. L.; Job, D. Nonneuronal Isoforms of STOP Protein Are Responsible for Microtubule Cold Stability in Mammalian Fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1998 b**, *95* (11), 6055–6060.

Desai, A.; Mitchison, T. J. Microtubule Polymerization Dynamics. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **1997**, *13*, 83–117.

Desbonnet, L.; Waddington, J. L.; O'Tuathaigh, C. M. P. Mutant Models for Genes Associated with Schizophrenia. *Biochem. Soc. Trans.* **2009**, *37* (1), 308–312.

Deshpande, A.; Bergami, M.; Ghanem, A.; Conzelmann, K.-K.; Lepier, A.; Götz, M.; Berninger, B. Retrograde Monosynaptic Tracing Reveals the Temporal Evolution of Inputs onto New Neurons in the Adult Dentate Gyrus and Olfactory Bulb. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2013**, *110* (12), E1152–E1161.

Döbrössy, M. D.; Drapeau, E.; Aourousseau, C.; Le Moal, M.; Piazza, P. V.; Abrous, D. N. Differential Effects of Learning on Neurogenesis: Learning Increases or Decreases the Number of Newly Born Cells Depending on Their Birth Date. *Mol. Psychiatry* **2003**, *8* (12), 974–982.

Dong, J.; Min, S.; Wei, K.; Li, P.; Cao, J.; Li, Y. Effects of Electroconvulsive Therapy and Propofol on Spatial Memory and Glutamatergic System in Hippocampus of Depressed Rats. *J. ECT* **2010**, *26* (2), 126–130.

Dowlati, Y.; Herrmann, N.; Swardfager, W.; Liu, H.; Sham, L.; Reim, E. K.; Lanctôt, K. L. A Meta-Analysis of Cytokines in Major Depression. *Biol. Psychiatry* **2010**, *67* (5), 446–457.

Drechsel, D. N.; Hyman, A. A.; Cobb, M. H.; Kirschner, M. W. Modulation of the Dynamic Instability of Tubulin Assembly by the Microtubule-Associated Protein Tau. *Mol. Biol. Cell* **1992**, *3* (10), 1141.

Drevets, W. C.; Price, J. L.; Furey, M. L. Brain Structural and Functional Abnormalities in Mood Disorders: Implications for Neurocircuitry Models of Depression. *Brain Struct. Funct.* **2008**, *213* (1-2), 93–118.

Drubin, D. G.; Kirschner, M. W. Tau Protein Function in Living Cells. *J. Cell Biol.* **1986 a**, *103* (6), 2739–2746.

Drubin, D.; Kirschner, M. Purification of Tau Protein from Brain. *Methods Enzymol.* **1986 b**, *134*, 156–160.

Duman, C. H. Chapter One - Models of Depression. In *Vitamins & Hormones*; Gerald Litwack, Ed.; Hormones of the Limbic System; Academic Press, 2010; Vol. Volume 82, pp 1–21.

Duman, C. H.; Schlesinger, L.; Kodama, M.; Russell, D. S.; Duman, R. S. A Role for MAP Kinase Signaling in Behavioral Models of Depression and Antidepressant Treatment. *Biol. Psychiatry* **2007**, *61* (5), 661–670.

Dunlop, B. W.; Nemeroff, C. B. The Role of Dopamine in the Pathophysiology of Depression. *Arch. Gen. Psychiatry* **2007**, *64* (3), 327–337.

Dupret, D.; Revest, J.-M.; Koehl, M.; Ichas, F.; Giorgi, F. D.; Costet, P.; Abrous, D. N.; Piazza, P. V. Spatial Relational Memory Requires Hippocampal Adult Neurogenesis. *PLOS ONE* **2008**, *3* (4), e1959.

Dwork, A. J.; Arango, V.; Underwood, M.; Ilievski, B.; Rosoklija, G.; Sackeim, H. A.; Lisanby, S. H. Absence of Histological Lesions in Primate Models of ECT and Magnetic Seizure Therapy. *Am. J. Psychiatry* **2004**, *161* (3), 576–578.

Dwork, A. J.; Christensen, J. R.; Larsen, K. B.; Scalia, J.; Underwood, M. D.; Arango, V.; Pakkenberg, B.; Lisanby, S. H. Unaltered Neuronal and Glial Counts in Animal Models of

Magnetic Seizure Therapy and Electroconvulsive Therapy. *Neuroscience* **2009**, *164* (4), 1557–1564.

Eastwood, S. L.; Lyon, L.; George, L.; Andrieux, A.; Job, D.; Harrison, P. J. Altered Expression of Synaptic Protein mRNAs in STOP (MAP6) Mutant Mice. *J. Psychopharmacol. Oxf. Engl.* **2007**, *21* (6), 635–644.

Edelman, A. M.; Mitchelhill, K. I.; Selbert, M. A.; Anderson, K. A.; Hook, S. S.; Stapleton, D.; Goldstein, E. G.; Means, A. R.; Kemp, B. E. Multiple Ca-Calmodulin-Dependent Protein Kinase Kinases from Rat Brain PURIFICATION, REGULATION BY Ca-CALMODULIN, AND PARTIAL AMINO ACID SEQUENCE. *J. Biol. Chem.* **1996**, *271* (18), 10806–10810.

Edwards, E.; King, J. A.; Fray, J. C. S. Increased Basal Activity of the HPA Axis and Renin-Angiotensin System in Congenital Learned Helpless Rats Exposed to Stress Early in Development. *Int. J. Dev. Neurosci.* **1999**, *17* (8), 805–812.

Ekstrand, J.; Hellsten, J.; Wennström, M.; Tingström, A. Differential Inhibition of Neurogenesis and Angiogenesis by Corticosterone in Rats Stimulated with Electroconvulsive Seizures. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2008**, *32* (6), 1466–1472.

Elfving, B.; Bonefeld, B. E.; Rosenberg, R.; Wegener, G. Differential Expression of Synaptic Vesicle Proteins after Repeated Electroconvulsive Seizures in Rat Frontal Cortex and Hippocampus. *Synap. N. Y. N* **2008**, *62* (9), 662–670.

Eriksson, P. S.; Perfilieva, E.; Björk-Eriksson, T.; Alborn, A.-M.; Nordborg, C.; Peterson, D. A.; Gage, F. H. Neurogenesis in the Adult Human Hippocampus. *Nat. Med.* **1998**, *4* (11), 1313–1317.

Ernst, A.; Frisén, J. Adult Neurogenesis in Humans- Common and Unique Traits in Mammals. *PLoS Biol.* **2015**, *13* (1).

Ernst, A.; Alkass, K.; Bernard, S.; Salehpour, M.; Perl, S.; Tisdale, J.; Possnert, G.; Druid, H.; Frisén, J. Neurogenesis in the Striatum of the Adult Human Brain. *Cell* **2014**.

Espósito, M. S.; Piatti, V. C.; Laplagne, D. A.; Morgenstern, N. A.; Ferrari, C. C.; Pitossi, F. J.; Schinder, A. F. Neuronal Differentiation in the Adult Hippocampus Recapitulates Embryonic Development. *J. Neurosci.* **2005**, *25* (44), 10074–10086.

Fanselow, M. S.; Dong, H.-W. Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron* **2010**, *65* (1), 7–19.

Fernandes, B.; Gama, C. S.; Massuda, R.; Torres, M.; Camargo, D.; Kunz, M.; Belmonte-de-Abreu, P. S.; Kapczinski, F.; de Almeida Fleck, M. P.; Inês Lobato, M. Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Is Not Associated with Response to Electroconvulsive Therapy (ECT): A Pilot Study in Drug Resistant Depressed Patients. *Neurosci. Lett.* **2009**, *453* (3), 195–198.

Ferraro, T. N.; Golden, G. T.; Hare, T. A. Repeated Electroconvulsive Shock Selectively Alters Gamma-Aminobutyric Acid Levels in the Rat Brain: Effect of Electrode Placement. *Convuls. Ther.* **1990**, *6* (3), 199–208.

Fink, M.; Ottosson, J.-O. A Theory of Convulsive Therapy in Endogenous Depression: Significance of Hypothalamic Functions. *Psychiatry Res.* **1980**, *2* (1), 49–61.

Fitzsimmons, J.; Kubicki, M.; Shenton, M. E. Review of Functional and Anatomical Brain Connectivity Findings in Schizophrenia: *Curr. Opin. Psychiatry* **2013**, *26* (2), 172–187.

Fortin, D. A.; Davare, M. A.; Srivastava, T.; Brady, J. D.; Nygaard, S.; Derkach, V. A.; Soderling, T. R. Long-Term Potentiation-Dependent Spine Enlargement Requires Synaptic Ca²⁺-Permeable AMPA Receptors Recruited by CaM-Kinase I. *J. Neurosci.* **2010**, *30* (35), 11565–11575.

Fournet, V.; Jany, M.; Fabre, V.; Chali, F.; Orsal, D.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; Messanvi, F.; Giros, B.; Hamon, M.; et al. The Deletion of the Microtubule-Associated STOP Protein Affects the Serotonergic Mouse Brain Network. *J. Neurochem.* **2010**, *115* (6), 1579–1594.

Fournet, V.; de Lavilléon, G.; Schweitzer, A.; Giros, B.; Andrieux, A.; Martres, M.-P. Both Chronic Treatments by Epothilone D and Fluoxetine Increase the Short-Term Memory and Differentially Alter the Mood Status of STOP/MAP6 KO Mice. *J. Neurochem.* **2012 a**, *123* (6), 982–996.

Fournet, V.; de Lavilléon, G.; Schweitzer, A.; Giros, B.; Andrieux, A.; Martres, M.-P. Both Chronic Treatments by Epothilone D and Fluoxetine Increase the Short-Term Memory and Differentially Alter the Mood Status of STOP/MAP6 KO Mice. *J. Neurochem.* **2012 b**, *123* (6), 982–996.

Fournet, V.; Schweitzer, A.; Chevarin, C.; Deloulme, J.-C.; Hamon, M.; Giros, B.; Andrieux, A.; Martres, M.-P. The Deletion of STOP/MAP6 Protein in Mice Triggers Highly Altered Mood and Impaired Cognitive Performances. *J. Neurochem.* **2012 c**, *121* (1), 99–114.

Fournet, V.; Schweitzer, A.; Chevarin, C.; Deloulme, J.-C.; Hamon, M.; Giros, B.; Andrieux, A.; Martres, M.-P. The Deletion of STOP/MAP6 Protein in Mice Triggers Highly Altered Mood and Impaired Cognitive Performances. *J. Neurochem.* **2012 d**, *121* (1), 99–114.

Fradley, R. L.; O'Meara, G. F.; Newman, R. J.; Andrieux, A.; Job, D.; Reynolds, D. S. STOP Knockout and NMDA NR1 Hypomorphic Mice Exhibit Deficits in Sensorimotor Gating. *Behav. Brain Res.* **2005**, *163* (2), 257–264.

Francis, F.; Koulakoff, A.; Boucher, D.; Chafey, P.; Schaar, B.; Vinet, M. C.; Friocourt, G.; McDonnell, N.; Reiner, O.; Kahn, A.; et al. Doublecortin Is a Developmentally Regulated, Microtubule-Associated Protein Expressed in Migrating and Differentiating Neurons. *Neuron* **1999**, *23* (2), 247–256.

Frick, L. R.; Williams, K.; Pittenger, C.; Frick, L. R.; Williams, K.; Pittenger, C. Microglial Dysregulation in Psychiatric Disease, Microglial Dysregulation in Psychiatric Disease. *J. Immunol. Res. J. Immunol. Res.* **2013**, *2013*, 2013.

Fukazawa, Y.; Saitoh, Y.; Ozawa, F.; Ohta, Y.; Mizuno, K.; Inokuchi, K. Hippocampal LTP Is Accompanied by Enhanced F-Actin Content within the Dendritic Spine That Is Essential for Late LTP Maintenance In Vivo. *Neuron* **2003**, *38* (3), 447–460.

Gage, F. H. Mammalian Neural Stem Cells. *Science* **2000**, *287* (5457), 1433–1438.

Galiano, M. r.; Bosc, C.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; Job, D.; Hallak, M. e. Astrocytes and Oligodendrocytes Express Different STOP Protein Isoforms. *J. Neurosci. Res.* **2004**, *78* (3), 329–337.

Gao, X.; Smith, G. M.; Chen, J. Impaired Dendritic Development and Synaptic Formation of Postnatal-Born Dentate Gyrus Granular Neurons in the Absence of Brain-Derived Neurotrophic Factor Signaling. *Exp. Neurol.* **2009 a**, *215* (1), 178–190.

Gao, Z.; Ure, K.; Ables, J. L.; Lagace, D. C.; Nave, K.-A.; Goebbels, S.; Eisch, A. J.; Hsieh, J. Neurod1 Is Essential for the Survival and Maturation of Adult-Born Neurons. *Nat. Neurosci.* **2009 b**, *12* (9), 1090–1092.

Garcia, A. D. R.; Doan, N. B.; Imura, T.; Bush, T. G.; Sofroniew, M. V. GFAP-Expressing Progenitors Are the Principal Source of Constitutive Neurogenesis in Adult Mouse Forebrain. *Nat. Neurosci.* **2004**, *7* (11), 1233–1241.

Ge, S.; Goh, E. L. K.; Sailor, K. A.; Kitabatake, Y.; Ming, G.; Song, H. GABA Regulates Synaptic Integration of Newly Generated Neurons in the Adult Brain. *Nature* **2005**, *439* (7076), 589–593.

Geddes, J. R.; Lawrie, S. M. Obstetric Complications and Schizophrenia: A Meta-Analysis. *Br. J. Psychiatry J. Ment. Sci.* **1995**, *167* (6), 786–793.

Gersner, R.; Toth, E.; Isserles, M.; Zangen, A. Site-Specific Antidepressant Effects of Repeated Subconvulsive Electrical Stimulation: Potential Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Biol. Psychiatry* **2010**, *67* (2), 125–132.

Gersner, R.; Gal, R.; Levit, O.; Moshe, H.; Zangen, A. Inherited Behaviors, BDNF Expression and Response to Treatment in a Novel Multifactorial Rat Model for Depression. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2014**, *17* (06), 945–955.

Giltay, D. E. J.; Kho, K. H.; Blansjaar, B. A. Serum Markers of Brain-Cell Damage and C-Reactive Protein Are Unaffected by Electroconvulsive Therapy. *World J. Biol. Psychiatry* **2008**, *9* (3), 231–235.

Girgenti, M. J.; Collier, E.; Sathyanesan, M.; Su, X. W.; Newton, S. S. Characterization of Electroconvulsive Seizure-Induced TIMP-1 and MMP-9 in Hippocampal Vasculature. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2011**, *14* (4), 535–544.

Glahn, D. C.; Laird, A. R.; Ellison-Wright, I.; Thelen, S. M.; Robinson, J. L.; Lancaster, J. L.; Bullmore, E.; Fox, P. T. Meta-Analysis of Gray Matter Anomalies in Schizophrenia: Application of Anatomic Likelihood Estimation and Network Analysis. *Biol. Psychiatry* **2008**, *64* (9), 774–781.

Gleeson, J. G.; Lin, P. T.; Flanagan, L. A.; Walsh, C. A. Doublecortin Is a Microtubule-Associated Protein and Is Expressed Widely by Migrating Neurons. *Neuron* **1999**, *23* (2), 257–271.

Goedert, M.; Spillantini, M. G. A Century of Alzheimer's Disease. *Science* **2006**, *314* (5800), 777–781.

Gombos, Z.; Mendonça, A.; Cottrell, G. A.; McIntyre Burnham, W. Ketamine and Phenobarbital Do Not Reduce the Evoked-Potential Enhancement Induced by Electroconvulsive Shock Seizures in the Rat. *Neurosci. Lett.* **1999 a**, *275* (1), 33–36.

Gombos, Z.; Spiller, A.; Cottrell, G. A.; Racine, R. J.; McIntyre Burnham, W. Mossy Fiber Sprouting Induced by Repeated Electroconvulsive Shock Seizures. *Brain Res.* **1999 b**, *844* (1–2), 28–33.

Goold, R. G.; Owen, R.; Gordon-Weeks, P. R. Glycogen Synthase Kinase 3beta Phosphorylation of Microtubule-Associated Protein 1B Regulates the Stability of Microtubules in Growth Cones. *J Cell Sci* **1999**, *112* (19), 3373–3384.

Gory-Fauré, S.; Windscheid, V.; Bosc, C.; Peris, L.; Proietto, D.; Franck, R.; Denarier, E.; Job, D.; Andrieux, A. STOP-like Protein 21 Is a Novel Member of the STOP Family, Revealing a Golgi Localization of STOP Proteins. *J. Biol. Chem.* **2006**, *281* (38), 28387–28396.

Gory-Fauré, S.; Windscheid, V.; Brocard, J.; Montessuit, S.; Tsutsumi, R.; Denarier, E.; Fukata, Y.; Bosc, C.; Delaroche, J.; Collomb, N.; et al. Non-Microtubular Localizations of Microtubule-Associated Protein 6 (MAP6). *PLoS ONE* **2014**, *9* (12).

Gould, E. How Widespread Is Adult Neurogenesis in Mammals? *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8* (6), 481–488.

Gould, E.; Cameron, H. A.; Daniels, D. C.; Woolley, C. S.; McEwen, B. S. Adrenal Hormones Suppress Cell Division in the Adult Rat Dentate Gyrus. *J. Neurosci.* **1992**, *12* (9), 3642–3650.

Gould, E.; McEwen, B. S.; Tanapat, P.; Galea, L. A. M.; Fuchs, E. Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Tree Shrew Is Regulated by Psychosocial Stress and NMDA Receptor Activation. *J. Neurosci.* **1997**, *17* (7), 2492–2498.

Gould, E.; Beylin, A.; Tanapat, P.; Reeves, A.; Shors, T. J. Learning Enhances Adult Neurogenesis in the Hippocampal Formation. *Nat. Neurosci.* **1999 a**, *2* (3), 260–265.

Gould, E.; Reeves, A. J.; Graziano, M. S. A.; Gross, C. G. Neurogenesis in the Neocortex of Adult Primates. *Science* **1999 b**, *286* (5439), 548–552.

Gould, E.; Vail, N.; Wagers, M.; Gross, C. G. Adult-Generated Hippocampal and Neocortical Neurons in Macaques Have a Transient Existence. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2001**, *98* (19), 10910–10917.

Gourley, S. L.; Kiraly, D. D.; Howell, J. L.; Olausson, P.; Taylor, J. R. Acute Hippocampal Brain-Derived Neurotrophic Factor Restores Motivational and Forced Swim Performance After Corticosterone. *Biol. Psychiatry* **2008 a**, *64* (10), 884–890.

Gourley, S. L.; Wu, F. J.; Kiraly, D. D.; Ploski, J. E.; Kedves, A. T.; Duman, R. S.; Taylor, J. R. Regionally Specific Regulation of ERK MAP Kinase in a Model of Antidepressant-Sensitive Chronic Depression. *Biol. Psychiatry* **2008 b**, *63* (4), 353–359.

Graziadei, P. P. C.; Graziadei, G. A. M. Neurogenesis and Neuron Regeneration in the Olfactory System of Mammals. I. Morphological Aspects of Differentiation and Structural Organization of the Olfactory Sensory Neurons. *J. Neurocytol.* **1979**, *8* (1), 1–18.

Green, A. R.; Vincent, N. D. The Effect of Repeated Electroconvulsive Shock on GABA Synthesis and Release in Regions of Rat Brain. *Br. J. Pharmacol.* **1987**, *92* (1), 19–24.

Gregus, A.; Wintink, A. J.; Davis, A. C.; Kalynchuk, L. E. Effect of Repeated Corticosterone Injections and Restraint Stress on Anxiety and Depression-like Behavior in Male Rats. *Behav. Brain Res.* **2005**, *156* (1), 105–114.

Grønli, O.; Stensland, G. Ø.; Wynn, R.; Olstad, R. Neurotrophic Factors in Serum Following ECT: A Pilot Study. *World J. Biol. Psychiatry* **2009**, *10* (4), 295–301.

Guidotti, A.; Auta, J.; Davis, J. M.; Gerevini, V. D.; Dwivedi, Y.; Grayson, D. R.; Impagnatiello, F.; Pandey, G.; Pesold, C.; Sharma, R.; et al. Decrease in Reelin and Glutamic Acid Decarboxylase67 (GAD67) Expression in Schizophrenia and Bipolar Disorder: A Postmortem Brain Study. *Arch. Gen. Psychiatry* **2000**, *57* (11), 1061–1069.

Guillaud, L.; Bosc, C.; Fourest-Lieuvin, A.; Denarier, E.; Pirollet, F.; Lafanechère, L.; Job, D. STOP Proteins Are Responsible for the High Degree of Microtubule Stabilization Observed in Neuronal Cells. *J. Cell Biol.* **1998**, *142* (1), 167–179.

Gur, E.; Dremencov, E.; Garcia, F.; Van de Kar, L. D.; Lerer, B.; Newman, M. E. Functional Effects of Chronic Electroconvulsive Shock on Serotonergic 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} Receptor Activity in Rat Hippocampus and Hypothalamus. *Brain Res.* **2002**, *952* (1), 52–60.

Guzik, B. W.; Goldstein, L. S. Microtubule-Dependent Transport in Neurons: Steps towards an Understanding of Regulation, Function and Dysfunction. *Curr. Opin. Cell Biol.* **2004**, *16* (4), 443–450.

Hageman, I.; Nielsen, M.; Wortwein, G.; Diemer, N. H.; Jorgensen, M. B. Electroconvulsive Stimulations Prevent Stress-Induced Morphological Changes in the Hippocampus. *Stress* **2008**, *11* (4), 282–289.

Halpain, S.; Dehmelt, L. The MAP1 Family of Microtubule-Associated Proteins. *Genome Biol.* **2006**, *7* (6), 224.

Hanaya, R.; Koning, E.; Ferrandon, A.; Schweitzer, A.; Andrieux, A.; Nehlig, A. Deletion of the STOP Gene, a Microtubule Stabilizing Factor, Leads Only to Discrete Cerebral Metabolic Changes in Mice. *J. Neurosci. Res.* **2008**, *86* (4), 813–820.

Hao, X.; Zhu, X.; Li, P.; Lv, F.; Min, S. NMDA Receptor Antagonist Enhances Antidepressant Efficacy and Alleviates Learning-Memory Function Impairment Induced by Electroconvulsive Shock with Regulating Glutamate Receptors Expression in Hippocampus. *J. Affect. Disord.* **2016**, *190*, 819–827.

Harrison, P. J.; Weinberger, D. R. Schizophrenia Genes, Gene Expression, and Neuropathology: On the Matter of Their Convergence. *Mol. Psychiatry* **2004**, *10* (1), 40–68.

Harrison, P. J.; Law, A. J.; Eastwood, S. L. Glutamate Receptors and Transporters in the Hippocampus in Schizophrenia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2003**, *1003* (1), 94–101.

Harward, S. C.; Hedrick, N. G.; Hall, C. E.; Parra-Bueno, P.; Milner, T. A.; Pan, E.; Laviv, T.; Hempstead, B. L.; Yasuda, R.; McNamara, J. O. Autocrine BDNF–TrkB Signalling within a Single Dendritic Spine. *Nature* **2016**, *538* (7623), 99–103.

Hasler, G.; Veen, J. W. van der; Tumonis, T.; Meyers, N.; Shen, J.; Drevets, W. C. Reduced Prefrontal Glutamate/Glutamine and Γ -Aminobutyric Acid Levels in Major Depression Determined Using Proton Magnetic Resonance Spectroscopy. *Arch. Gen. Psychiatry* **2007**, *64* (2), 193–200.

Hayakawa, H.; Okamoto, Y.; Shimizu, M.; Nishida, A.; Motohashi, N.; Yamawaki, S. Single or Repeated Treatment with Electroconvulsive Shock Increases Number of Serotonin Uptake Binding Sites in the Frontal Cortex. *Neuropsychobiology* **1995**, *31* (1), 1–5.

Hellsten, J.; Wennström, M.; Mohapel, P.; Ekdahl, C. T.; Bengzon, J.; Tingström, A. Electroconvulsive Seizures Increase Hippocampal Neurogenesis after Chronic Corticosterone Treatment. *Eur. J. Neurosci.* **2002**, *16* (2), 283–290.

Hellsten, J.; Wennström, M.; Bengzon, J.; Mohapel, P.; Tingström, A. Electroconvulsive Seizures Induce Endothelial Cell Proliferation in Adult Rat Hippocampus. *Biol. Psychiatry* **2004 a**, *55* (4), 420–427.

Hellsten, J.; Wennström, M.; Bengzon, J.; Mohapel, P.; Tingström, A. Electroconvulsive Seizures Induce Endothelial Cell Proliferation in Adult Rat Hippocampus. *Biol. Psychiatry* **2004 b**, *55* (4), 420–427.

Hellsten, J.; West, M. J.; Arvidsson, A.; Ekstrand, J.; Jansson, L.; Wennström, M.; Tingström, A. Electroconvulsive Seizures Induce Angiogenesis in Adult Rat Hippocampus. *Biol. Psychiatry* **2005**, *58* (11), 871–878.

Henn, F. A.; Vollmayr, B. Stress Models of Depression: Forming Genetically Vulnerable Strains. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2005**, *29* (4–5), 799–804.

Henn, F.; Vollmayr, B.; Sartorius, A. Mechanisms of Depression: The Role of Neurogenesis. *Drug Discov. Today Dis. Mech.* **2004**, *1* (4), 407–411.

Herman, J. P.; Schäfer, M. K.-H.; Sladek, C. D.; Day, R.; Young, E. A.; Akil, H.; Watson, S. J. Chronic Electroconvulsive Shock Treatment Elicits up-Regulation of CRF and AVP mRNA in Select Populations of Neuroendocrine Neurons. *Brain Res.* **1989**, *501* (2), 235–246.

Hill, K.; Mann, L.; Laws, K. R.; Stephenson, C. M. E.; Nimmo-Smith, I.; McKenna, P. J. Hypofrontality in Schizophrenia: A Meta-Analysis of Functional Imaging Studies. *Acta Psychiatr. Scand.* **2004**, *110* (4), 243–256.

Hirokawa, N. Microtubule Organization and Dynamics Dependent on Microtubule-Associated Proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* **1994**, *6* (1), 74–81.

Horton, A. C.; Ehlers, M. D. Secretory Trafficking in Neuronal Dendrites. *Nat. Cell Biol.* **2004**, *6* (7), 585–591.

Hotulainen, P.; Hoogenraad, C. C. Actin in Dendritic Spines: Connecting Dynamics to Function. *J. Cell Biol.* **2010**, *189* (4), 619–629.

Husum, H.; Mikkelsen, J. D.; Hogg, S.; Mathé, A. A.; Mørk, A. Involvement of Hippocampal Neuropeptide Y in Mediating the Chronic Actions of Lithium, Electroconvulsive Stimulation and Citalopram. *Neuropharmacology* **2000**, *39* (8), 1463–1473.

Imayoshi, I.; Sakamoto, M.; Ohtsuka, T.; Takao, K.; Miyakawa, T.; Yamaguchi, M.; Mori, K.; Ikeda, T.; Itoharu, S.; Kageyama, R. Roles of Continuous Neurogenesis in the Structural and Functional Integrity of the Adult Forebrain. *Nat. Neurosci.* **2008**, *11* (10), 1153–1161.

Iosif, R. E.; Ekdahl, C. T.; Ahlenius, H.; Pronk, C. J. H.; Bonde, S.; Kokaia, Z.; Jacobsen, S.-E. W.; Lindvall, O. Tumor Necrosis Factor Receptor 1 Is a Negative Regulator of Progenitor Proliferation in Adult Hippocampal Neurogenesis. *J. Neurosci.* **2006**, *26* (38), 9703–9712.

Ishihara, K.; Sasa, M. Potentiation of 5-HT₃ Receptor Functions in the Hippocampal CA1 Region of Rats Following Repeated Electroconvulsive Shock Treatments. *Neurosci. Lett.* **2001**, *307* (1), 37–40.

Jacobsen, J. P. R.; Mørk, A. The Effect of Escitalopram, Desipramine, Electroconvulsive Seizures and Lithium on Brain-Derived Neurotrophic Factor mRNA and Protein Expression in the Rat Brain and the Correlation to 5-HT and 5-HIAA Levels. *Brain Res.* **2004 a**, *1024* (1–2), 183–192.

Jacobsen, J. P. R.; Mørk, A. The Effect of Escitalopram, Desipramine, Electroconvulsive Seizures and Lithium on Brain-Derived Neurotrophic Factor mRNA and Protein Expression in the Rat Brain and the Correlation to 5-HT and 5-HIAA Levels. *Brain Res.* **2004 b**, *1024* (1–2), 183–192.

Janowsky, D. S.; Overstreet, D. H.; Nurnberger, J. I. Is Cholinergic Sensitivity a Genetic Marker for the Affective Disorders? *Am. J. Med. Genet.* **1994**, *54* (4), 335–344.

Jansson, L.; Wennström, M.; Johanson, A.; Tingström, A. Glial Cell Activation in Response to Electroconvulsive Seizures. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2009**, *33* (7), 1119–1128.

Javitt, D. C. Glutamatergic Theories of Schizophrenia. *Isr. J. Psychiatry Relat. Sci.* **2010**, *47* (1), 4–16.

Javitt, D. C.; Zukin, S. R. Recent Advances in the Phencyclidine Model of Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* **1991**, *148* (10), 1301–1308.

Jiménez Vasquez, P. A.; Salmi, P.; Ahlenius, S.; Mathé, A. A. Neuropeptide Y in Brains of the Flinders Sensitive Line Rat, a Model of Depression. Effects of Electroconvulsive Stimuli and D-Amphetamine on Peptide Concentrations and Locomotion. *Behav. Brain Res.* **2000**, *111* (1-2), 115–123.

Jiménez-Vasquez, P. A.; Overstreet, D. H.; Mathé, A. A. Neuropeptide Y in Male and Female Brains of Flinders Sensitive Line, a Rat Model of Depression. Effects of Electroconvulsive Stimuli. *J. Psychiatr. Res.* **2000**, *34* (6), 405–412.

Jiménez-Vasquez, P. A.; Diaz-Cabiale, Z.; Caberlotto, L.; Bellido, I.; Overstreet, D.; Fuxe, K.; Mathé, A. A. Electroconvulsive Stimuli Selectively Affect Behavior and Neuropeptide Y (NPY) and NPY Y(1) Receptor Gene Expressions in Hippocampus and Hypothalamus of Flinders Sensitive Line Rat Model of Depression. *Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol.* **2007**, *17* (4), 298–308.

Jinno, S.; Kosaka, T. Neuronal Circuit-Dependent Alterations in Expression of Two Isoforms of Glutamic Acid Decarboxylase in the Hippocampus Following Electroconvulsive Shock: A Stereology-Based Study. *Hippocampus* **2009**, *19* (11), 1130–1141.

Job, D.; Margolis, R. L. Isolation from Bovine Brain of a Superstable Microtubule Subpopulation with Microtubule Seeding Activity. *Biochemistry (Mosc.)* **1984 a**, *23* (13), 3025–3031.

Job, D.; Margolis, R. L. Isolation from Bovine Brain of a Superstable Microtubule Subpopulation with Microtubule Seeding Activity. *Biochemistry (Mosc.)* **1984 b**, *23* (13), 3025–3031.

Job, D.; Rauch, C. T.; Fischer, E. H.; Margolis, R. L. Recycling of Cold-Stable Microtubules: Evidence That Cold Stability Is due to Substoichiometric Polymer Blocks. *Biochemistry (Mosc.)* **1982**, *21* (3), 509–515.

Job, D.; Rauch, C. T.; Margolis, R. L. High Concentrations of STOP Protein Induce a Microtubule Super-Stable State. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *148* (1), 429–434.

Johnson, S. A.; Fournier, N. M.; Kalynchuk, L. E. Effect of Different Doses of Corticosterone on Depression-like Behavior and HPA Axis Responses to a Novel Stressor. *Behav. Brain Res.* **2006**, *168* (2), 280–288.

Jorgensen, A.; Magnusson, P.; Hanson, L. G.; Kirkegaard, T.; Benveniste, H.; Lee, H.; Svarer, C.; Mikkelsen, J. D.; Fink-Jensen, A.; Knudsen, G. M.; et al. Regional Brain Volumes, Diffusivity, and Metabolite Changes after Electroconvulsive Therapy for Severe Depression. *Acta Psychiatr. Scand.* **2016**, *133* (2), 154–164.

Joshi, S. H.; Espinoza, R. T.; Pirnia, T.; Shi, J.; Wang, Y.; Ayers, B.; Leaver, A.; Woods, R. P.; Narr, K. L. Structural Plasticity of the Hippocampus and Amygdala Induced by Electroconvulsive Therapy in Major Depression. *Biol. Psychiatry* **2016**, *79* (4), 282–292.

Kaae, S. S.; Chen, F.; Wegener, G.; Madsen, T. M.; Nyengaard, J. R. Quantitative Hippocampal Structural Changes Following Electroconvulsive Seizure Treatment in a Rat Model of Depression. *Synapse* **2012**, *66* (8), 667–676.

Kaastrup Müller, H.; Orłowski, D.; Reidies Bjarkam, C.; Wegener, G.; Elfving, B. Potential Roles for Homer1 and Spinophilin in the Preventive Effect of Electroconvulsive Seizures on Stress-Induced CA3c Dendritic Retraction in the Hippocampus. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2015**.

Kajitani, K.; Thorne, M.; Samson, M.; Robertson, G. S. Nitric Oxide Synthase Mediates the Ability of Darbepoetin Alfa to Improve the Cognitive Performance of STOP Null Mice. *Neuropsychopharmacology* **2010**, *35* (8), 1718–1728.

Kanaan, R. A. A.; Kim, J.-S.; Kaufmann, W. E.; Pearlson, G. D.; Barker, G. J.; McGuire, P. K. Diffusion Tensor Imaging in Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2005**, *58* (12), 921–929.

Kang, H. J.; Voleti, B.; Hajszan, T.; Rajkowska, G.; Stockmeier, C. A.; Licznarski, P.; Lepack, A.; Majik, M. S.; Jeong, L. S.; Banasr, M.; et al. Decreased Expression of Synapse-Related Genes and Loss of Synapses in Major Depressive Disorder. *Nat. Med.* **2012**, *18* (9), 1413–1417.

Kapitein, L. C.; Hoogenraad, C. C. Which Way to Go? Cytoskeletal Organization and Polarized Transport in Neurons. *Mol. Cell. Neurosci.* **2011**, *46* (1), 9–20.

Kaplan, M. S. Neurogenesis in the 3-Month-Old Rat Visual Cortex. *J. Comp. Neurol.* **1981**, *195* (2), 323–338.

Kappeler, C.; Saillour, Y.; Baudoin, J.-P.; Tuy, F. P. D.; Alvarez, C.; Houbron, C.; Gaspar, P.; Hamard, G.; Chelly, J.; Métin, C.; et al. Branching and Nucleokinesis Defects in Migrating Interneurons Derived from Doublecortin Knockout Mice. *Hum. Mol. Genet.* **2006**, *15* (9), 1387–1400.

Karalay, Ö.; Doberauer, K.; Vadodaria, K. C.; Knobloch, M.; Berti, L.; Miquelajauregui, A.; Schwark, M.; Jagasia, R.; Taketo, M. M.; Tarabykin, V.; et al. Prospero-Related Homeobox 1 Gene (Prox1) Is Regulated by Canonical Wnt Signaling and Has a Stage-Specific Role in Adult Hippocampal Neurogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2011**, *108* (14), 5807–5812.

Katz, R. J. Animal Models and Human Depressive Disorders. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **1981**, *5* (2), 231–246.

Katz, R. J.; Roth, K. A.; Carroll, B. J. Acute and Chronic Stress Effects on Open Field Activity in the Rat: Implications for a Model of Depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **1981**, *5* (2), 247–251.

Kaufman, J.; Yang, B.-Z.; Douglas-Palumberi, H.; Grasso, D.; Lipschitz, D.; Houshyar, S.; Krystal, J. H.; Gelernter, J. Brain-Derived Neurotrophic Factor-5-HTTLPR Gene Interactions and Environmental Modifiers of Depression in Children. *Biol. Psychiatry* **2006**, *59* (8), 673–680.

Keller, M. C.; Neale, M. C.; Kendler, K. S. Association of Different Adverse Life Events With Distinct Patterns of Depressive Symptoms. *Am. J. Psychiatry* **2007**, *164* (10), 1521–1529.

Kempermann, G.; Kuhn, H. G.; Gage, F. H. More Hippocampal Neurons in Adult Mice Living in an Enriched Environment. *Nature* **1997**, *386* (6624), 493–495.

Kempermann, G.; Kuhn, H. G.; Gage, F. H. Experience-Induced Neurogenesis in the Senescent Dentate Gyrus. *J. Neurosci.* **1998**, *18* (9), 3206–3212.

Kempermann, G.; Gast, D.; Kronenberg, G.; Yamaguchi, M.; Gage, F. H. Early Determination and Long-Term Persistence of Adult-Generated New Neurons in the Hippocampus of Mice. *Development* **2003**, *130* (2), 391–399.

Kempermann, G.; Jessberger, S.; Steiner, B.; Kronenberg, G. Milestones of Neuronal Development in the Adult Hippocampus. *Trends Neurosci.* **2004**, *27* (8), 447–452.

Kendler, K. S.; Karkowski-Shuman, L. Stressful Life Events and Genetic Liability to Major Depression: Genetic Control of Exposure to the Environment? *Psychol. Med.* **1997**, *27* (3), 539–547.

Kendler, K. S.; Karkowski, L. M.; Prescott, C. A. Causal Relationship Between Stressful Life Events and the Onset of Major Depression. *Am. J. Psychiatry* **1999**, *156* (6), 837–841.

Kessler, R. C. The Effects of Stressful Life Events on Depression. *Annu. Rev. Psychol.* **1997**, *48* (1), 191–214.

Kheirbek, M. A.; Drew, L. J.; Burghardt, N. S.; Costantini, D. O.; Tannenholz, L.; Ahmari, S. E.; Zeng, H.; Fenton, A. A.; Hen, R. Differential Control of Learning and Anxiety along the Dorsoventral Axis of the Dentate Gyrus. *Neuron* **2013**, *77* (5), 955–968.

Kim, J. S.; Kornhuber, H. H.; Schmid-Burgk, W.; Holzmüller, B. Low Cerebrospinal Fluid Glutamate in Schizophrenic Patients and a New Hypothesis on Schizophrenia. *Neurosci. Lett.* **1980**, *20* (3), 379–382.

King, J. A.; Campbell, D.; Edwards, E. Differential Development of the Stress Response in Congenital Learned Helplessness. *Int. J. Dev. Neurosci. Off. J. Int. Soc. Dev. Neurosci.* **1993**, *11* (4), 435–442.

Kling, M. A.; Geraciotti, T. D.; Licinio, J.; Michelson, D.; Oldfield, E. H.; Gold, P. W. Effects of Electroconvulsive Therapy on the CRH-ACTH-Cortisol System in Melancholic Depression: Preliminary Findings. *Psychopharmacol. Bull.* **1994**, *30* (3), 489–494.

De Kloet, E. R.; Joëls, M.; Holsboer, F. Stress and the Brain: From Adaptation to Disease. *Nat. Rev. Neurosci.* **2005**, *6* (6), 463–475.

Knöchel, C.; Schmied, C.; Linden, D. E. J.; Stäblein, M.; Prvulovic, D.; de A. de Carvalho, L.; Harrison, O.; Barros Junior, P. O.; Carvalho, A. F.; Reif, A.; et al. White Matter Abnormalities in the Fornix Are Linked to Cognitive Performance in SZ but Not in BD Disorder: An Exploratory Analysis with DTI Deterministic Tractography. *J. Affect. Disord.* **2016**, *201*, 64–78.

Koizumi, H.; Higginbotham, H.; Poon, T.; Tanaka, T.; Brinkman, B. C.; Gleeson, J. G. Doublecortin Maintains Bipolar Shape and Nuclear Translocation during Migration in the Adult Forebrain. *Nat. Neurosci.* **2006**, *9* (6), 779–786.

Kokoeva, M. V.; Yin, H.; Flier, J. S. Neurogenesis in the Hypothalamus of Adult Mice: Potential Role in Energy Balance. *Science* **2005**, *310* (5748), 679–683.

Kolman, A. Etoposide D (Kosan/Roche). *Curr. Opin. Investig. Drugs Lond. Engl.* **2000**, *5* (6), 657–667.

Konarski, J. Z.; McIntyre, R. S.; Kennedy, S. H.; Rafi-Tari, S.; Soczynska, J. K.; Ketter, T. A. Volumetric Neuroimaging Investigations in Mood Disorders: Bipolar Disorder versus Major Depressive Disorder. *Bipolar Disord.* **2008**, *10* (1), 1–37.

Konick, L. C.; Friedman, L. Meta-Analysis of Thalamic Size in Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2001**, *49* (1), 28–38.

Koo, J. W.; Duman, R. S. IL-1 β Is an Essential Mediator of the Antineurogenic and Anhedonic Effects of Stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2008**, *105* (2), 751–756.

Krishnan, V.; Nestler, E. J. Animal Models of Depression: Molecular Perspectives. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* **2011**, *7*, 121–147.

Kuhn, H. G.; Dickinson-Anson, H.; Gage, F. H. Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Adult Rat: Age-Related Decrease of Neuronal Progenitor Proliferation. *J. Neurosci.* **1996**, *16* (6), 2027–2033.

Kuhn, H. G.; Biebl, M.; Wilhelm, D.; Li, M.; Friedlander, R. M.; Winkler, J. Increased Generation of Granule Cells in Adult Bcl-2-Overexpressing Mice: A Role for Cell Death during Continued Hippocampal Neurogenesis. *Eur. J. Neurosci.* **2005**, *22* (8), 1907–1915.

Kuijpers, M.; Hoogenraad, C. C. Centrosomes, Microtubules and Neuronal Development. *Mol. Cell. Neurosci.* **2011**, *48* (4), 349–358.

Lammers, C. H.; Diaz, J.; Schwartz, J. C.; Sokoloff, P. Selective Increase of Dopamine D3 Receptor Gene Expression as a Common Effect of Chronic Antidepressant Treatments. *Mol. Psychiatry* **2000**, *5* (4), 378–388.

Lamont, S. R.; Pauls, A.; Stewart, C. A. Repeated Electroconvulsive Stimulation, but Not Antidepressant Drugs, Induces Mossy Fibre Sprouting in the Rat Hippocampus. *Brain Res.* **2001**, *893* (1–2), 53–58.

Landau, A. M.; Chakravarty, M. M.; Clark, C. M.; Zis, A. P.; Doudet, D. J. Electroconvulsive Therapy Alters Dopamine Signaling in the Striatum of Non-Human Primates. *Neuropsychopharmacology* **2011**, *36* (2), 511–518.

Laplagne, D. A.; Espósito, M. S.; Piatti, V. C.; Morgenstern, N. A.; Zhao, C.; van Praag, H.; Gage, F. H.; Schinder, A. F. Functional Convergence of Neurons Generated in the Developing and Adult Hippocampus. *PLoS Biol* **2006**, *4* (12), e409.

Lawrie, S. M.; Abukmeil, S. S. Brain Abnormality in Schizophrenia. A Systematic and Quantitative Review of Volumetric Magnetic Resonance Imaging Studies. *Br. J. Psychiatry* **1998**, *172* (2), 110–120.

Lefèvre, J.; Savarin, P.; Gans, P.; Hamon, L.; Clément, M.-J.; David, M.-O.; Bosc, C.; Andrieux, A.; Curmi, P. A. Structural Basis for the Association of MAP6 Protein with Microtubules and Its Regulation by Calmodulin. *J. Biol. Chem.* **2013**, *288* (34), 24910–24922.

Lemaire, V.; Tronel, S.; Montaron, M.-F.; Fabre, A.; Dugast, E.; Abrous, D. N. Long-Lasting Plasticity of Hippocampal Adult-Born Neurons. *J. Neurosci.* **2012**, *32* (9), 3101–3108.

Lépinoux-Chambaud, C.; Eyer, J. Review on Intermediate Filaments of the Nervous System and Their Pathological Alterations. *Histochem. Cell Biol.* **2013**, *140* (1), 13–22.

Leuner, B.; Mendolia-Loffredo, S.; Kozorovitskiy, Y.; Samburg, D.; Gould, E.; Shors, T. J. Learning Enhances the Survival of New Neurons beyond the Time When the Hippocampus Is Required for Memory. *J. Neurosci.* **2004**, *24* (34), 7477–7481.

Li, B.; Suemaru, K.; Cui, R.; Kitamura, Y.; Gomita, Y.; Araki, H. Repeated Electroconvulsive Stimuli Increase Brain-Derived Neurotrophic Factor in ACTH-Treated Rats. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, *529* (1–3), 114–121.

Li, B.; Suemaru, K.; Cui, R.; Araki, H. Repeated Electroconvulsive Stimuli Have Long-Lasting Effects on Hippocampal BDNF and Decrease Immobility Time in the Rat Forced Swim Test. *Life Sci.* **2007**, *80* (16), 1539–1543.

Li, R.; Gundersen, G. G. Beyond Polymer Polarity: How the Cytoskeleton Builds a Polarized Cell. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2008**, *9* (11), 860–873.

Li, W.; Liu, L.; Liu, Y.; Luo, J.; Lin, J.; Li, X.; Wang, B.; Min, S. Effects of Electroconvulsive Stimulation on Long-Term Potentiation and Synaptophysin in the Hippocampus of Rats With Depressive Behavior: *J. ECT* **2012**, *28* (2), 111–117.

Lie, D.-C.; Colamarino, S. A.; Song, H.-J.; Désiré, L.; Mira, H.; Consiglio, A.; Lein, E. S.; Jessberger, S.; Lansford, H.; Dearie, A. R.; et al. Wnt Signalling Regulates Adult Hippocampal Neurogenesis. *Nature* **2005**, *437* (7063), 1370–1375.

Lieuvin, A.; Labbé, J. C.; Dorée, M.; Job, D. Intrinsic Microtubule Stability in Interphase Cells. *J. Cell Biol.* **1994**, *124* (6), 985–996.

Limoa, E.; Hashioka, S.; Miyaoka, T.; Tsuchie, K.; Arauchi, R.; Azis, I. A.; Wake, R.; Hayashida, M.; Araki, T.; Furuya, M.; et al. Electroconvulsive Shock Attenuated Microgliosis and Astrogliosis in the Hippocampus and Ameliorated Schizophrenia-like Behavior of Gunn Rat. *J. Neuroinflammation* **2016**, *13* (1).

Lopez-Duran, N. L.; Kovacs, M.; George, C. J. Hypothalamic–pituitary–adrenal Axis Dysregulation in Depressed Children and Adolescents: A Meta-Analysis. *Psychoneuroendocrinology* **2009**, *34* (9), 1272–1283.

Lowery, J.; Kuczmarski, E. R.; Herrmann, H.; Goldman, R. D. Intermediate Filaments Play a Pivotal Role in Regulating Cell Architecture and Function. *J. Biol. Chem.* **2015**, *290* (28), 17145–17153.

Lu, B.; Pang, P. T.; Woo, N. H. The Yin and Yang of Neurotrophin Action. *Nat. Rev. Neurosci.* **2005**, *6* (8), 603–614.

Luo, J.; Min, S.; Wei, K.; Zhang, J.; Liu, Y. Propofol Interacts with Stimulus Intensities of Electroconvulsive Shock to Regulate Behavior and Hippocampal BDNF in a Rat Model of Depression. *Psychiatry Res.* **2012**, *198* (2), 300–306.

Ma, X.-M.; Mains, R. E.; Eipper, B. A. Plasticity in Hippocampal Peptidergic Systems Induced by Repeated Electroconvulsive Shock. *Neuropsychopharmacology* **2002**, *27* (1), 55–71.

Madsen, T. M.; Greisen, M. H.; Nielsen, S. M.; Bolwig, T. G.; Mikkelsen, J. D. Electroconvulsive Stimuli Enhance Both Neuropeptide Y Receptor Y1 and Y2 Messenger RNA Expression and Levels of Binding in the Rat Hippocampus. *Neuroscience* **2000** *a*, *98* (1), 33–39.

Madsen, T. M.; Treschow, A.; Bengzon, J.; Bolwig, T. G.; Lindvall, O.; Tingström, A. Increased Neurogenesis in a Model of Electroconvulsive Therapy. *Biol. Psychiatry* **2000** *b*, *47* (12), 1043–1049.

Madsen, T. M.; Kristjansen, P. E. G.; Bolwig, T. G.; Wörtwein, G. Arrested Neuronal Proliferation and Impaired Hippocampal Function Following Fractionated Brain Irradiation in the Adult Rat. *Neuroscience* **2003**, *119* (3), 635–642.

Madsen, T. M.; Yeh, D. D.; Valentine, G. W.; Duman, R. S. Electroconvulsive Seizure Treatment Increases Cell Proliferation in Rat Frontal Cortex. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* **2005**, *30* (1), 27–34.

Magariños, A. M.; McEwen, B. S. Stress-Induced Atrophy of Apical Dendrites of Hippocampal CA3c Neurons: Comparison of Stressors. *Neuroscience* **1995**, *69* (1), 83–88.

Malberg, J. E.; Duman, R. S. Cell Proliferation in Adult Hippocampus Is Decreased by Inescapable Stress: Reversal by Fluoxetine Treatment. *Neuropsychopharmacology* **2003**, *28* (9), 1562–1571.

Malberg, J. E.; Eisch, A. J.; Nestler, E. J.; Duman, R. S. Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus. *J. Neurosci.* **2000**, *20* (24), 9104–9110.

Manji, H. K.; Drevets, W. C.; Charney, D. S. The Cellular Neurobiology of Depression. *Nat. Med.* **2001**, *7* (5), 541–547.

Marano, C. M.; Phatak, P.; Vemulapalli, U. R.; Sasan, A.; Nalbandyan, M. R.; Ramanujam, S.; Soekadar, S.; Demosthenous, M.; Regenold, W. T. Increased Plasma Concentration of Brain-Derived Neurotrophic Factor With Electroconvulsive Therapy: A Pilot Study in Patients With Major Depression. *J. Clin. Psychiatry* **2007**, *68* (4), 512–517.

Marchisella, F.; Coffey, E. T.; Hollos, P. Microtubule and Microtubule Associated Protein Anomalies in Psychiatric Disease. *Cytoskeleton* **2016**, *73* (10), 596–611.

Margolis, R. L.; Job, D. Control of Microtubule Stability by Calmodulin-Dependent and -Independent Phosphorylation. *Adv. Cyclic Nucleotide Protein Phosphorylation Res.* **1984**, *17*, 417–425.

Marín-Burgin, A.; Mongiat, L. A.; Pardi, M. B.; Schinder, A. F. Unique Processing During a Period of High Excitation/Inhibition Balance in Adult-Born Neurons. *Science* **2012**, *335* (6073), 1238–1242.

Martins-De-Souza, D.; Dias-Neto, E.; Schmitt, A.; Falkai, P.; Gormanns, P.; Maccarrone, G.; Turck, C. W.; Gattaz, W. F. Proteome Analysis of Schizophrenia Brain Tissue. *World J. Biol. Psychiatry* **2010**, *11* (2), 110–120.

Matsuoka, Y.; Jouroukhin, Y.; Gray, A. J.; Ma, L.; Hirata-Fukae, C.; Li, H.-F.; Feng, L.; Lecanu, L.; Walker, B. R.; Planel, E.; et al. A Neuronal Microtubule-Interacting Agent, NAPVSIPQ, Reduces Tau Pathology and Enhances Cognitive Function in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2008**, *325* (1), 146–153.

Matthews, K.; Baldo, B. A.; Markou, A.; Lown, O.; Overstreet, D. H.; Koob, G. F. Rewarding Electrical Brain Stimulation: Similar Thresholds for Flinders Sensitive Line Hypercholinergic and Flinders Resistant Line Hypocholinergic Rats. *Physiol. Behav.* **1996**, *59* (6), 1155–1162.

Matus, A. Growth of Dendritic Spines: A Continuing Story. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2005**, *15* (1), 67–72.

McIntyre Burnham, W.; Cottrell, G. A.; Diosy, D.; Racine, R. J. Long-Term Changes in Entorhinal-Dentate Evoked Potentials Induced by Electroconvulsive Shock Seizures in Rats. *Brain Res.* **1995**, *698* (1–2), 180–184.

McKinney, W. T.; Bunney, W. E. Animal Model of Depression: I. Review of Evidence: Implications for Research. *Arch. Gen. Psychiatry* **1969**, *21* (2), 240–248.

Merenlender-Wagner, A.; Pikman, R.; Giladi, E.; Andrieux, A.; Gozes, I. NAP (davunetide) Enhances Cognitive Behavior in the STOP Heterozygous mouse—A Microtubule-Deficient Model of Schizophrenia. *Peptides* **2010**, *31* (7), 1368–1373.

Mikkelsen, J. D.; Woldbye, D. P. D. Accumulated Increase in Neuropeptide Y and Somatostatin Gene Expression of the Rat in Response to Repeated Electroconvulsive Stimulation. *J. Psychiatr. Res.* **2006**, *40* (2), 153–159.

Minichiello, L. TrkB Signalling Pathways in LTP and Learning. *Nat. Rev. Neurosci.* **2009**, *10* (12), 850–860.

Mitchell, P. J.; Fairhall, S. J.; Fletcher, A.; Redfern, P. H. Effects of Single and Repeated Electroconvulsive Shock on the Social and Agonistic Behaviour of Resident Rats. *Neuropharmacology* **2003**, *44* (7), 911–925.

Mitchison, T.; Kirschner, M. Dynamic Instability of Microtubule Growth. *Nature* **1984**, *312* (5991), 237–242.

Monje, M. L.; Toda, H.; Palmer, T. D. Inflammatory Blockade Restores Adult Hippocampal Neurogenesis. *Science* **2003**, *302* (5651), 1760–1765.

Moore, T. H.; Zammit, S.; Lingford-Hughes, A.; Barnes, T. R.; Jones, P. B.; Burke, M.; Lewis, G. Cannabis Use and Risk of Psychotic or Affective Mental Health Outcomes: A Systematic Review. *The Lancet* **2007**, *370* (9584), 319–328.

Moyer, C. E.; Shelton, M. A.; Sweet, R. A. Dendritic Spine Alterations in Schizophrenia. *Neurosci. Lett.* **2015**, *601*, 46–53.

Müller, V. I.; Cieslik, E. C.; Serbanescu, I.; Laird, A. R.; Fox, P. T.; Eickhoff, S. B. Altered Brain Activity in Unipolar Depression Revisited: Meta-Analyses of Neuroimaging Studies. *JAMA Psychiatry* **2016**.

Murray, F.; Smith, D. W.; Hutson, P. H. Chronic Low Dose Corticosterone Exposure Decreased Hippocampal Cell Proliferation, Volume and Induced Anxiety and Depression like Behaviours in Mice. *Eur. J. Pharmacol.* **2008**, *583* (1), 115–127.

Nakazawa, K.; Zsiros, V.; Jiang, Z.; Nakao, K.; Kolata, S.; Zhang, S.; Belforte, J. E. GABAergic Interneuron Origin of Schizophrenia Pathophysiology. *Neuropharmacology* **2012**, *62* (3), 1574–1583.

Namura, S.; Takada, M.; Kikuchi, H.; Mizuno, N. Topographical Organization of Subicular Neurons Projecting to Subcortical Regions. *Brain Res. Bull.* **1994**, *35* (3), 221–231.

Naylor, P.; Stewart, C. A.; Wright, S. R.; Carl A. Pearson, R.; Reid, I. C. Repeated ECS Induces GluR1 mRNA but Not NMDAR1A-G mRNA in the Rat Hippocampus. *Mol. Brain Res.* **1996**, *35* (1–2), 349–353.

Nelson, M. D.; Saykin, A. J.; Flashman, L. A.; Riordan, H. J. Hippocampal Volume Reduction in Schizophrenia as Assessed by Magnetic Resonance Imaging: A Meta-Analytic Study. *Arch. Gen. Psychiatry* **1998**, *55* (5), 433–440.

Nestler, E. J.; Carlezon Jr, W. A. The Mesolimbic Dopamine Reward Circuit in Depression. *Biol. Psychiatry* **2006**, *59* (12), 1151–1159.

Nestler, E. J.; Barrot, M.; DiLeone, R. J.; Eisch, A. J.; Gold, S. J.; Monteggia, L. M. Neurobiology of Depression. *Neuron* **2002 a**, *34* (1), 13–25.

Nestler, E. J.; Gould, E.; Manji, H. Preclinical Models: Status of Basic Research in Depression. *Biol. Psychiatry* **2002 b**, *52* (6), 503–528.

Nettles, J. H.; Li, H.; Cornett, B.; Krahn, J. M.; Snyder, J. P.; Downing, K. H. The Binding Mode of Epothilone A on α , β -Tubulin by Electron Crystallography. *Science* **2004**, *305* (5685), 866–869.

Neumaier, J. F.; Edwards, E.; Plotsky, P. M. 5-HT_{1B} Mrna Regulation in Two Animal Models of Altered Stress Reactivity. *Biol. Psychiatry* **2002**, *51* (11), 902–908.

Neve, R. L.; Selkoe, D. J.; Kurnit, D. M.; Kosik, K. S. A cDNA for a Human Microtubule Associated Protein 2 Epitope in the Alzheimer Neurofibrillary Tangle. *Brain Res.* **1986**, *387* (2), 193–196.

Newton, S. S.; Collier, E. F.; Hunsberger, J.; Adams, D.; Terwilliger, R.; Selvanayagam, E.; Duman, R. S. Gene Profile of Electroconvulsive Seizures: Induction of Neurotrophic and Angiogenic Factors. *J. Neurosci.* **2003**, *23* (34), 10841–10851.

Newton, S. S.; Girgenti, M. J.; Collier, E. F.; Duman, R. S. Electroconvulsive Seizure Increases Adult Hippocampal Angiogenesis in Rats. *Eur. J. Neurosci.* **2006**, *24* (3), 819–828.

Nibuya, M.; Morinobu, S.; Duman, R. S. Regulation of BDNF and trkB mRNA in Rat Brain by Chronic Electroconvulsive Seizure and Antidepressant Drug Treatments. *J. Neurosci.* **1995**, *15* (11), 7539–7547.

Nobrega, J.; Raymond, R.; DiStefano, L.; Burnham, W. M. Long-Term Changes in Regional Brain Cytochrome Oxidase Activity Induced by Electroconvulsive Treatment in Rats. *Brain Res.* **1993**, *605* (1), 1–8.

Nordanskog, P.; Dahlstrand, U.; Larsson, M. R.; Larsson, E.-M.; Knutsson, L.; Johanson, A. Increase in Hippocampal Volume After Electroconvulsive Therapy in Patients With Depression: A Volumetric Magnetic Resonance Imaging Study. *J. ECT* **2010**, *26* (1), 62–67.

O' Connor, R. M.; Pusccheddu, M. M.; Dinan, T. G.; Cryan, J. F. Impact of Early-Life Stress, on Group III mGlu Receptor Levels in the Rat Hippocampus: Effects of Ketamine, Electroconvulsive Shock Therapy and Fluoxetine Treatment. *Neuropharmacology* **2013**, *66*, 236–241.

O'Connor, R. M.; Grenham, S.; Dinan, T. G.; Cryan, J. F. microRNAs as Novel Antidepressant Targets: Converging Effects of Ketamine and Electroconvulsive Shock Therapy in the Rat Hippocampus. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2013**, *16* (8), 1885–1892.

O'Donovan, S.; Dalton, V.; Harkin, A.; McLoughlin, D. M. Effects of Brief Pulse and Ultrabrief Pulse Electroconvulsive Stimulation on Rodent Brain and Behaviour in the Corticosterone Model of Depression. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2014**, *FirstView*, 1–10.

Okamoto, T.; Yoshimura, R.; Ikenouchi-Sugita, A.; Hori, H.; Umene-Nakano, W.; Inoue, Y.; Ueda, N.; Nakamura, J. Efficacy of Electroconvulsive Therapy Is Associated with Changing Blood Levels of Homovanillic Acid and Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Refractory Depressed Patients: A Pilot Study. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **2008**, *32* (5), 1185–1190.

Öngür, D.; Pohlman, J.; Dow, A. L.; Eisch, A. J.; Edwin, F.; Heckers, S.; Cohen, B. M.; Patel, T. B.; Carlezon Jr., W. A. Electroconvulsive Seizures Stimulate Glial Proliferation and Reduce Expression of Sprouty2 within the Prefrontal Cortex of Rats. *Biol. Psychiatry* **2007**, *62* (5), 505–512.

Orefice, L. L.; Waterhouse, E. G.; Partridge, J. G.; Lalchandani, R. R.; Vicini, S.; Xu, B. Distinct Roles for Somatically and Dendritically Synthesized Brain-Derived Neurotrophic Factor in Morphogenesis of Dendritic Spines. *J. Neurosci.* **2013**, *33* (28), 11618–11632.

Orzi, F.; Passarelli, F.; Diana, G.; Fieschi, C. Effects of Single and Repeated Electroconvulsive Shock on Local Cerebral Glucose Utilization in the Conscious Rat. *Brain Res.* **1987**, *423* (1-2), 144–148.

Orzi, F.; Zoli, M.; Passarelli, F.; Ferraguti, F.; Fieschi, C.; Agnati, L. F. Repeated Electroconvulsive Shock Increases Glial Fibrillary Acidic Protein, Ornithine Decarboxylase, Somatostatin and Cholecystinin Immunoreactivities in the Hippocampal Formation of the Rat. *Brain Res.* **1990**, *533* (2), 223–231.

Van Os, J.; Kapur, S. Schizophrenia. *The Lancet* **2009**, *374* (9690), 635–645.

Ota, M.; Noda, T.; Sato, N.; Okazaki, M.; Ishikawa, M.; Hattori, K.; Hori, H.; Sasayama, D.; Teraishi, T.; Sone, D.; et al. Effect of Electroconvulsive Therapy on Gray Matter Volume in Major Depressive Disorder. *J. Affect. Disord.* **2015**, *186*, 186–191.

Overstreet, D. H. The Flinders Sensitive Line Rats: A Genetic Animal Model of Depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **1993**, *17* (1), 51–68.

Overstreet, D. H. Behavioral Characteristics of Rat Lines Selected for Differential Hypothermic Responses to Cholinergic or Serotonergic Agonists. *Behav. Genet.* **2002**, *32* (5), 335–348.

Overstreet, D. H.; Russell, R. W. Selective Breeding for Diisopropyl Fluorophosphate-Sensitivity: Behavioural Effects of Cholinergic Agonists and Antagonists. *Psychopharmacology (Berl.)* **1982**, *78* (2), 150–155.

Overstreet, D. H.; Booth, R. A.; Dana, R.; Risch, S. C.; Janowsky, D. S. Enhanced Elevation of Corticosterone Following Arecoline Administration to Rats Selectively Bred for Increased Cholinergic Function. *Psychopharmacology (Berl.)* **1986 a**, *88* (1), 129–130.

Overstreet, D. H.; Janowsky, D. S.; Gillin, J. C.; Shiromani, P. J.; Sutin, E. L. Stress-Induced Immobility in Rats with Cholinergic Supersensitivity. *Biol. Psychiatry* **1986 b**, *21* (7), 657–664.

Overstreet, D. H.; Rezvani, A. H.; Janowsky, D. S. Genetic Animal Models of Depression and Ethanol Preference Provide Support for Cholinergic and Serotonergic Involvement in Depression and Alcoholism. *Biol. Psychiatry* **1992**, *31* (9), 919–936.

Palmer, T. D.; Willhoite, A. R.; Gage, F. H. Vascular Niche for Adult Hippocampal Neurogenesis. *J. Comp. Neurol.* **2000**, *425* (4), 479–494.

Palmio, J.; Huuhka, M.; Laine, S.; Huhtala, H.; Peltola, J.; Leinonen, E.; Suhonen, J.; Keränen, T. Electroconvulsive Therapy and Biomarkers of Neuronal Injury and Plasticity: Serum Levels of Neuron-Specific Enolase and S-100b Protein. *Psychiatry Res.* **2010**, *177* (1–2), 97–100.

Papp, M.; Moryl, E.; Willner, P. Pharmacological Validation of the Chronic Mild Stress Model of Depression. *Eur. J. Pharmacol.* **1996**, *296* (2), 129–136.

Park, H. G.; Yu, H. S.; Park, S.; Ahn, Y. M.; Kim, Y. S.; Kim, S. H. Repeated Treatment with Electroconvulsive Seizures Induces HDAC2 Expression and down-Regulation of NMDA Receptor-Related Genes through Histone Deacetylation in the Rat Frontal Cortex. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2014**, *17* (9), 1487–1500.

Paykel, E. S. Life Events and Affective Disorders. *Acta Psychiatr. Scand. Suppl.* **2003**, No. 418, 61–66.

Penzes, P.; Cahill, M. E.; Jones, K. A.; VanLeeuwen, J.-E.; Woolfrey, K. M. Dendritic Spine Pathology in Neuropsychiatric Disorders. *Nat. Neurosci.* **2011**, *14* (3), 285–293.

Perera, T. D.; Coplan, J. D.; Lisanby, S. H.; Lipira, C. M.; Arif, M.; Carpio, C.; Spitzer, G.; Santarelli, L.; Scharf, B.; Hen, R.; et al. Antidepressant-Induced Neurogenesis in the Hippocampus of Adult Nonhuman Primates. *J. Neurosci.* **2007**, *27* (18), 4894–4901.

Piccinni, A.; Del Debbio, A.; Medda, P.; Bianchi, C.; Roncaglia, I.; Veltri, A.; Zanello, S.; Massimetti, E.; Origlia, N.; Domenici, L.; et al. Plasma Brain-Derived Neurotrophic Factor in Treatment-Resistant Depressed Patients Receiving Electroconvulsive Therapy. *Eur. Neuropsychopharmacol.* **2009**, *19* (5), 349–355.

- Pirollet, F.; Job, D.; Fischer, E. H.; Margolis, R. L. Purification and Characterization of Sheep Brain Cold-Stable Microtubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1983**, *80* (6), 1560–1564.
- Ploski, J. E.; Newton, S. S.; Duman, R. S. Electroconvulsive Seizure-Induced Gene Expression Profile of the Hippocampus Dentate Gyrus Granule Cell Layer. *J. Neurochem.* **2006**, *99* (4), 1122–1132.
- Poo, M. Neurotrophins as Synaptic Modulators. *Nat. Rev. Neurosci.* **2001**, *2* (1), 24–32.
- Porter, R. H.; Burnet, P. W.; Eastwood, S. L.; Harrison, P. J. Contrasting Effects of Electroconvulsive Shock on mRNAs Encoding the High Affinity Kainate Receptor Subunits (KA1 and KA2) and Cyclophilin in the Rat. *Brain Res.* **1996**, *710* (1-2), 97–102.
- Powell, K. J.; Hori, S. E.; Leslie, R.; Andrieux, A.; Schellinck, H.; Thorne, M.; Robertson, G. S. Cognitive Impairments in the STOP Null Mouse Model of Schizophrenia. *Behav. Neurosci.* **2007**, *121* (5), 826–835.
- Van Praag, H.; Kempermann, G.; Gage, F. H. Running Increases Cell Proliferation and Neurogenesis in the Adult Mouse Dentate Gyrus. *Nat. Neurosci.* **1999**, *2* (3), 266–270.
- Van Praag, H.; Schinder, A. F.; Christie, B. R.; Toni, N.; Palmer, T. D.; Gage, F. H. Functional Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Nature* **2002**, *415* (6875), 1030–1034.
- Pucilowski, O.; Overstreet, D. H.; Rezvani, A. H.; Janowsky, D. S. Chronic Mild Stress-Induced Anhedonia: Greater Effect in a Genetic Rat Model of Depression. *Physiol. Behav.* **1993**, *54* (6), 1215–1220.
- Qiu, G.; Helmeste, D. M.; Samaranayake, A. N.; Lau, W.-M.; Lee, T. M. C.; Tang, S.-W.; So, K.-F. Modulation of the Suppressive Effect of Corticosterone on Adult Rat Hippocampal Cell Proliferation by Paroxetine. *Neurosci. Bull.* **2007**, *23* (3), 131–135.
- Rajkowska, G. Postmortem Studies in Mood Disorders Indicate Altered Numbers of Neurons and Glial Cells. *Biol. Psychiatry* **2000**, *48* (8), 766–777.
- Rantakallio, P.; Jones, P.; Moring, J.; Von Wendt, L. Association between Central Nervous System Infections during Childhood and Adult Onset Schizophrenia and Other Psychoses: A 28-Year Follow-Up. *Int. J. Epidemiol.* **1997**, *26* (4), 837–843.
- Rapinesi, C.; Kotzalidis, G. D.; Curto, M.; Serata, D.; Ferri, V. R.; Scatena, P.; Carbonetti, P.; Napoletano, F.; Miele, J.; Scaccianoce, S.; et al. Electroconvulsive Therapy Improves Clinical Manifestations of Treatment-Resistant Depression without Changing Serum BDNF Levels. *Psychiatry Res.* **2015**, *227* (2–3), 171–178.
- Reichmann, F.; Holzer, P. Neuropeptide Y: A Stressful Review. *Neuropeptides* **2016**, *55*, 99–109.
- Renner, M.; Specht, C. G.; Triller, A. Molecular Dynamics of Postsynaptic Receptors and Scaffold Proteins. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2008**, *18* (5), 532–540.
- Reus, V. I.; Peeke, H. V.; Miner, C. Habituation and Cortisol Dysregulation in Depression. *Biol. Psychiatry* **1985**, *20* (9), 980–989.
- Richard, M.; Sacquet, J.; Jany, M.; Schweitzer, A.; Jourdan, F.; Andrieux, A.; Pellier-Monnin, V. STOP Proteins Contribute to the Maturation of the Olfactory System. *Mol. Cell. Neurosci.* **2009**, *41* (2), 120–134.
- Risch, S. C.; Kalin, N. H.; Janowsky, D. S. Cholinergic Challenges in Affective Illness: Behavioral and Neuroendocrine Correlates. *J. Clin. Psychopharmacol.* **1981**, *1* (4), 186–192.

Rocha, R. B.; Dondossola, E. R.; Grande, A. J.; Colonetti, T.; Ceretta, L. B.; Passos, I. C.; Quevedo, J.; da Rosa, M. I. Increased BDNF Levels after Electroconvulsive Therapy in Patients with Major Depressive Disorder: A Meta-Analysis Study. *J. Psychiatr. Res.* **2016**, *83*, 47–53.

Rosoklija, G.; Toomayan, G.; Ellis, S. P.; Keilp, J.; Mann, J. J.; Latov, N.; Hays, A. P.; Dwork, A. J. Structural Abnormalities of Subicular Dendrites in Subjects With Schizophrenia and Mood Disorders: Preliminary Findings. *Arch. Gen. Psychiatry* **2000**, *57* (4), 349–356.

Rot, M. aan het; Mathew, S. J.; Charney, D. S. Neurobiological Mechanisms in Major Depressive Disorder. *Can. Med. Assoc. J.* **2009**, *180* (3), 305–313.

Ryan, K. M.; O'Donovan, S. M.; McLoughlin, D. M. Electroconvulsive Stimulation Alters Levels of BDNF-Associated microRNAs. *Neurosci. Lett.* **2013**, *549*, 125–129.

Sackeim, H. A. The Definition and Meaning of Treatment-Resistant Depression. *J. Clin. Psychiatry* **2001**, *62* (suppl 16), 10–17.

Saha, S.; Chant, D.; McGrath, J. A Systematic Review of Mortality in Schizophrenia: Is the Differential Mortality Gap Worsening Over Time? *Arch. Gen. Psychiatry* **2007**, *64* (10), 1123–1131.

Sahay, A.; Scobie, K. N.; Hill, A. S.; O'Carroll, C. M.; Kheirbek, M. A.; Burghardt, N. S.; Fenton, A. A.; Dranovsky, A.; Hen, R. Increasing Adult Hippocampal Neurogenesis Is Sufficient to Improve Pattern Separation. *Nature* **2011**, *472* (7344), 466–470.

Sanacora, G.; Zarate, C. A.; Krystal, J. H.; Manji, H. K. Targeting the Glutamatergic System to Develop Novel, Improved Therapeutics for Mood Disorders. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2008**, *7* (5), 426–437.

Santarelli, L.; Saxe, M.; Gross, C.; Surget, A.; Battaglia, F.; Dulawa, S.; Weisstaub, N.; Lee, J.; Duman, R.; Arancio, O.; et al. Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the Behavioral Effects of Antidepressants. *Science* **2003**, *301* (5634), 805–809.

Sartorius, A.; Neumann-Haefelin, C.; Vollmayr, B.; Hoehn, M.; Henn, F. A. Choline Rise in the Rat Hippocampus Induced by Electroconvulsive Shock Treatment. *Biol. Psychiatry* **2003 a**, *53* (7), 620–623.

Sartorius, A.; Vollmayr, B.; Neumann-Haefelin, C.; Ende, G.; Hoehn, M.; Henn, F. A. Specific Creatine Rise in Learned Helplessness Induced by Electroconvulsive Shock Treatment. *Neuroreport* **2003 b**, *14* (17), 2199–2201.

Sartorius, A.; Mahlstedt, M. M.; Vollmayr, B.; Henn, F. A.; Ende, G. Elevated Spectroscopic Glutamate/??-Amino Butyric Acid in Rats Bred for Learned Helplessness: *NeuroReport* **2007**, *18* (14), 1469–1473.

Saxe, M. D.; Battaglia, F.; Wang, J.-W.; Malleret, G.; David, D. J.; Monckton, J. E.; Garcia, A. D. R.; Sofroniew, M. V.; Kandel, E. R.; Santarelli, L.; et al. Ablation of Hippocampal Neurogenesis Impairs Contextual Fear Conditioning and Synaptic Plasticity in the Dentate Gyrus. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2006**, *103* (46), 17501–17506.

Saxe, M. D.; Malleret, G.; Vronskaya, S.; Mendez, I.; Garcia, A. D.; Sofroniew, M. V.; Kandel, E. R.; Hen, R. Paradoxical Influence of Hippocampal Neurogenesis on Working Memory. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2007**, *104* (11), 4642–4646.

Schaar, B. T.; Kinoshita, K.; McConnell, S. K. Doublecortin Microtubule Affinity Is Regulated by a Balance of Kinase and Phosphatase Activity at the Leading Edge of Migrating Neurons. *Neuron* **2004**, *41* (2), 203–213.

Scharfman, H. E. The CA3 “backprojection” to the Dentate Gyrus. In *Progress in Brain Research*; Scharfman, H. E., Ed.; The Dentate Gyrus: A Comprehensive Guide to Structure, Function, and Clinical Implications; Elsevier, 2007; Vol. 163, pp 627–637.

Scharfman, H.; Goodman, J.; Macleod, A.; Phani, S.; Antonelli, C.; Croll, S. Increased Neurogenesis and the Ectopic Granule Cells after Intrahippocampal BDNF Infusion in Adult Rats. *Exp. Neurol.* **2005**, *192* (2), 348–356.

Schloesser, R. J.; Orvoen, S.; Jimenez, D. V.; Hardy, N. F.; Maynard, K. R.; Sukumar, M.; Manji, H. K.; Gardier, A. M.; David, D. J.; Martinowich, K. Antidepressant-like Effects of Electroconvulsive Seizures Require Adult Neurogenesis in a Neuroendocrine Model of Depression. *Brain Stimulat.* **2015**.

Schloesser, R.; Manji, H.; Martinowich, K. Suppression of Adult Neurogenesis Leads to an Increased Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis Response. [Miscellaneous Article]. *Neuroreport April 22 2009* **2009**, *20* (6), 553–557.

Schmidt, E. Z.; Reininghaus, B.; Enzinger, C.; Ebner, C.; Hofmann, P.; Kapfhammer, H. P. Changes in Brain Metabolism after ECT–Positron Emission Tomography in the Assessment of Changes in Glucose Metabolism Subsequent to Electroconvulsive Therapy — Lessons, Limitations and Future Applications. *J. Affect. Disord.* **2008**, *106* (1–2), 203–208.

Schmidt, H.; Duman, R. The Role of Neurotrophic Factors in Adult Hippocampal Neurogenesis, Antidepressant Treatments and Animal Models of Depressive-like Behavior. *Behav. Pharmacol. Sept. 2007* **2007**, 5–6.

Schmidt-Hieber, C.; Jonas, P.; Bischofberger, J. Enhanced Synaptic Plasticity in Newly Generated Granule Cells of the Adult Hippocampus. *Nature* **2004**, *429* (6988), 184–187.

Schwartz, K.; Yadid, G.; Weizman, A.; Rehavi, M. Decreased Limbic Vesicular Monoamine Transporter 2 in a Genetic Rat Model of Depression. *Brain Res.* **2003**, *965* (1-2), 174–179.

Schwenk, B. M.; Lang, C. M.; Hogg, S.; Tahirovic, S.; Orozco, D.; Rentzsch, K.; Lichtenthaler, S. F.; Hoogenraad, C. C.; Capell, A.; Haass, C.; et al. The FTLD Risk Factor TMEM106B and MAP6 Control Dendritic Trafficking of Lysosomes. *EMBO J.* **2013**.

Scott, A. I. F.; Turnbull, L. W.; Blane, A.; Douglas, R. H. B. Electroconvulsive Therapy and Brain Damage. *The Lancet* **1991**, *338* (8761), 264.

Scott, A. I.; Douglas, R. H.; Whitfield, A.; Kendell, R. E. Time Course of Cerebral Magnetic Resonance Changes after Electroconvulsive Therapy. *Br. J. Psychiatry* **1990**, *156* (4), 551–553.

Scott, B. W.; Wojtowicz, J. M.; Burnham, W. M. Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Rat Following Electroconvulsive Shock Seizures. *Exp. Neurol.* **2000**, *165* (2), 231–236.

Seeman, P.; Chau-Wong, M.; Tedesco, J.; Wong, K. Brain Receptors for Antipsychotic Drugs and Dopamine: Direct Binding Assays. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1975**, *72* (11), 4376.

Segi-Nishida, E.; Warner-Schmidt, J. L.; Duman, R. S. Electroconvulsive Seizure and VEGF Increase the Proliferation of Neural Stem-like Cells in Rat Hippocampus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105* (32), 11352–11357.

Seguin, J. A.; Brennan, J.; Mangano, E.; Hayley, S. Proinflammatory Cytokines Differentially Influence Adult Hippocampal Cell Proliferation Depending upon the Route and Chronicity of Administration. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* **2009**, *5*, 5–14.

Sekino, Y.; Kojima, N.; Shirao, T. Role of Actin Cytoskeleton in Dendritic Spine Morphogenesis. *Neurochem. Int.* **2007**, *51* (2–4), 92–104.

Semple, D. M.; McIntosh, A. M.; Lawrie, S. M. Cannabis as a Risk Factor for Psychosis: Systematic Review. *J. Psychopharmacol. (Oxf.)* **2005**, *19* (2), 187–194.

Seri, B.; García-Verdugo, J. M.; McEwen, B. S.; Alvarez-Buylla, A. Astrocytes Give Rise to New Neurons in the Adult Mammalian Hippocampus. *J. Neurosci.* **2001**, *21* (18), 7153–7160.

Sharma, N.; Kress, Y.; Shafit-Zagardo, B. Antisense MAP-2 Oligonucleotides Induce Changes in Microtubule Assembly and Neuritic Elongation in Pre-Existing Neurites of Rat Cortical Neurons. *Cell Motil. Cytoskeleton* **1994**, *27* (3), 234–247.

Shelton, M. A.; Newman, J. T.; Gu, H.; Sampson, A. R.; Fish, K. N.; MacDonald, M. L.; Moyer, C. E.; DiBitetto, J. V.; Dorph-Petersen, K.-A.; Penzes, P.; et al. Loss of Microtubule-Associated Protein 2 Immunoreactivity Linked to Dendritic Spine Loss in Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* **2015**, *78* (6), 374–385.

Shen, H.; Numachi, Y.; Yoshida, S.; Toda, S.; Awata, S.; Matsuoka, H.; Sato, M. Electroconvulsive Shock Regulates Serotonin Transporter mRNA Expression in Rat Raphe Nucleus. *Psychiatry Clin. Neurosci.* **2001**, *55* (1), 75–77.

Shen, H.; Numachi, Y.; Yoshida, S.; Fujiyama, K.; Toda, S.; Awata, S.; Matsuoka, H.; Sato, M. Electroconvulsive Shock Increases Serotonin Transporter in the Rat Frontal Cortex. *Neurosci. Lett.* **2003**, *341* (2), 170–172.

Shen, Q.; Goderie, S. K.; Jin, L.; Karanth, N.; Sun, Y.; Abramova, N.; Vincent, P.; Pumiglia, K.; Temple, S. Endothelial Cells Stimulate Self-Renewal and Expand Neurogenesis of Neural Stem Cells. *Science* **2004**, *304* (5675), 1338–1340.

Shenton, M. E.; Dickey, C. C.; Frumin, M.; McCarley, R. W. A Review of MRI Findings in Schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2001**, *49* (1–2), 1–52.

Shepherd, A. M.; Laurens, K. R.; Matheson, S. L.; Carr, V. J.; Green, M. J. Systematic Meta-Review and Quality Assessment of the Structural Brain Alterations in Schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2012**, *36* (4), 1342–1356.

Shih, R. A.; Belmonte, P. L.; Zandi, P. P. A Review of the Evidence from Family, Twin and Adoption Studies for a Genetic Contribution to Adult Psychiatric Disorders. *Int. Rev. Psychiatry* **2004**, *16* (4), 260–283.

Shimazu, K.; Zhao, M.; Sakata, K.; Akbarian, S.; Bates, B.; Jaenisch, R.; Lu, B. NT-3 Facilitates Hippocampal Plasticity and Learning and Memory by Regulating Neurogenesis. *Learn. Mem.* **2006**, *13* (3), 307–315.

Shimizu, H.; Iwayama, Y.; Yamada, K.; Toyota, T.; Minabe, Y.; Nakamura, K.; Nakajima, M.; Hattori, E.; Mori, N.; Osumi, N.; et al. Genetic and Expression Analyses of the STOP (MAP6) Gene in Schizophrenia. *Schizophr. Res.* **2006**, *84* (2–3), 244–252.

Shors, T. J.; Miesegaes, G.; Beylin, A.; Zhao, M.; Rydel, T.; Gould, E. Neurogenesis in the Adult Is Involved in the Formation of Trace Memories. *Nature* **2001**, *410* (6826), 372–376.

Shumake, J.; Barrett, D.; Gonzalez-Lima, F. Behavioral Characteristics of Rats Predisposed to Learned Helplessness: Reduced Reward Sensitivity, Increased Novelty Seeking, and Persistent Fear Memories. *Behav. Brain Res.* **2005**, *164* (2), 222–230.

Sierra, A.; Encinas, J. M.; Deudero, J. J. P.; Chancey, J. H.; Enikolopov, G.; Overstreet-Wadiche, L. S.; Tsirka, S. E.; Maletic-Savatic, M. Microglia Shape Adult Hippocampal Neurogenesis through Apoptosis-Coupled Phagocytosis. *Cell Stem Cell* **2010**, *7* (4), 483–495.

Sisti, H. M.; Glass, A. L.; Shors, T. J. Neurogenesis and the Spacing Effect: Learning over Time Enhances Memory and the Survival of New Neurons. *Learn. Mem.* **2007**, *14* (5), 368–375.

Smiałowska, M.; Szewczyk, B.; Brański, P.; Wierońska, J. M.; Pałucha, A.; Bajkowska, M.; Pilc, A. Effect of Chronic Imipramine or Electroconvulsive Shock on the Expression of mGluR1a and mGluR5a Immunoreactivity in Rat Brain Hippocampus. *Neuropharmacology* **2002**, *42* (8), 1016–1023.

Smith, M. A.; Zhang, L.-X.; Lyons, W. E.; Mamounas, L. A. Anterograde Transport of Endogenous Brain-Derived Neurotrophic Factor in Hippocampal Mossy Fibers. [Miscellaneous Article]. *Neuroreport May 26 1997* **1997**, *8* (8), 1829–1834.

Snyder, J. S.; Soumier, A.; Brewer, M.; Pickel, J.; Cameron, H. A. Adult Hippocampal Neurogenesis Buffers Stress Responses and Depressive Behaviour. *Nature* **2011**, *476* (7361), 458–461.

Snyder, S. H.; Banerjee, S. P.; Yamamura, H. I.; Greenberg, D. Drugs, Neurotransmitters, and Schizophrenia. *Science* **1974**, *184* (4143), 1243–1253.

Soetanto, A.; Wilson, R. S.; Talbot, K.; Un, A.; Schneider, J. A.; Sobiesk, M.; Kelly, J.; Leurgans, S.; Bennett, D. A.; Arnold, S. E. Association of Anxiety and Depression With Microtubule-Associated Protein 2- and Synaptopodin-Immunolabeled Dendrite and Spine Densities in Hippocampal CA3 of Older Humans. *Arch. Gen. Psychiatry* **2010**, *67* (5), 448–457.

Song, H.; Stevens, C. F.; Gage, F. H. Astroglia Induce Neurogenesis from Adult Neural Stem Cells. *Nature* **2002**, *417* (6884), 39–44.

Spalding, K. L.; Bhardwaj, R. D.; Buchholz, B. A.; Druid, H.; Frisén, J. Retrospective Birth Dating of Cells in Humans. *Cell* **2005**, *122* (1), 133–143.

Spalding, K. L.; Bergmann, O.; Alkass, K.; Bernard, S.; Salehpour, M.; Huttner, H. B.; Boström, E.; Westerlund, I.; Vial, C.; Buchholz, B. A.; et al. Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans. *Cell* **2013**, *153* (6), 1219–1227.

Star, E. N.; Kwiatkowski, D. J.; Murthy, V. N. Rapid Turnover of Actin in Dendritic Spines and Its Regulation by Activity. *Nat. Neurosci.* **2002**, *5* (3), 239–246.

Steiner, B.; Kronenberg, G.; Jessberger, S.; Brandt, M. D.; Reuter, K.; Kempermann, G. Differential Regulation of Gliogenesis in the Context of Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice. *Glia* **2004**, *46* (1), 41–52.

Steiner, J.; Bielau, H.; Brisch, R.; Danos, P.; Ullrich, O.; Mawrin, C.; Bernstein, H.-G.; Bogerts, B. Immunological Aspects in the Neurobiology of Suicide: Elevated Microglial Density in Schizophrenia and Depression Is Associated with Suicide. *J. Psychiatr. Res.* **2008**, *42* (2), 151–157.

Stenfors, C.; Mathé, A. A.; Theodorsson, E. Repeated Electroconvulsive Stimuli: Changes in Neuropeptide Y, Neurotensin and Tachykinin Concentrations in Time. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **1994**, *18* (1), 201–209.

Stenfors, C.; Bjellerup, P.; Mathé, A. A.; Theodorsson, E. Concurrent Analysis of Neuropeptides and Biogenic Amines in Brain Tissue of Rats Treated with Electroconvulsive Stimuli. *Brain Res.* **1995 a**, *698* (1-2), 39–45.

Stenfors, C.; Bjellerup, P.; Mathé, A. A.; Theodorsson, E. Concurrent Analysis of Neuropeptides and Biogenic Amines in Brain Tissue of Rats Treated with Electroconvulsive Stimuli. *Brain Res.* **1995 b**, *698* (1-2), 39–45.

Stewart, C. A.; Davies, S. N. Repeated Electroconvulsive Stimulation Impairs Synaptic Plasticity in the Dentate Gyrus in Vivo but Has No Effect in CA1 in Vitro. *Neurosci. Lett.* **1996**, *213* (3), 177–180.

Stewart, C. A.; Reid, I. C. Repeated ECS and Fluoxetine Administration Have Equivalent Effects on Hippocampal Synaptic Plasticity. *Psychopharmacology (Berl.)* **2000**, *148* (3), 217–223.

Stewart, C.; Reid, I. Electroconvulsive Stimulation and Synaptic Plasticity in the Rat. *Brain Res.* **1993**, *620* (1), 139–141.

Stewart, C.; Jeffery, K.; Reid, I. LTP-like Synaptic Efficacy Changes Following Electroconvulsive Stimulation. *Neuroreport* **1994**, *5* (9), 1041–1044.

Sullivan, P. F.; Neale, M. C.; Kendler, K. S. Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *Am. J. Psychiatry* **2000**, *157* (10), 1552–1562.

Sultan, S.; Li, L.; Moss, J.; Petrelli, F.; Cassé, F.; Gebara, E.; Lopatar, J.; Pfrieger, F. W.; Bezzi, P.; Bischofberger, J.; et al. Synaptic Integration of Adult-Born Hippocampal Neurons Is Locally Controlled by Astrocytes. *Neuron* **2015**, *88* (5), 957–972.

Surget, A.; Tanti, A.; Leonardo, E. D.; Laugeray, A.; Rainer, Q.; Touma, C.; Palme, R.; Griebel, G.; Ibarguen-Vargas, Y.; Hen, R.; et al. Antidepressants Recruit New Neurons to Improve Stress Response Regulation. *Mol. Psychiatry* **2011**, *16* (12), 1177–1188.

Szebenyi, G.; Bollati, F.; Bisbal, M.; Sheridan, S.; Faas, L.; Wray, R.; Haferkamp, S.; Nguyen, S.; Caceres, A.; Brady, S. T. Activity-Driven Dendritic Remodeling Requires Microtubule-Associated Protein 1A. *Curr. Biol. CB* **2005**, *15* (20), 1820–1826.

Taliaz, D.; Stall, N.; Dar, D. E.; Zangen, A. Knockdown of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Specific Brain Sites Precipitates Behaviors Associated with Depression and Reduces Neurogenesis. *Mol. Psychiatry* **2010**, *15* (1), 80–92.

Taliaz, D.; Nagaraj, V.; Haramati, S.; Chen, A.; Zangen, A. Altered Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression in the Ventral Tegmental Area, but Not in the Hippocampus, Is Essential for Antidepressant-Like Effects of Electroconvulsive Therapy. *Biol. Psychiatry* **2013**, *74* (4), 305–312.

Tanaka, T.; Serneo, F. F.; Tseng, H.-C.; Kulkarni, A. B.; Tsai, L.-H.; Gleeson, J. G. Cdk5 Phosphorylation of Doublecortin Ser297 Regulates Its Effect on Neuronal Migration. *Neuron* **2004**, *41* (2), 215–227.

Tandon, R.; Nasrallah, H. A.; Keshavan, M. S. Schizophrenia, “just the Facts” 4. Clinical Features and Conceptualization. *Schizophr. Res.* **2009**, *110* (1–3), 1–23.

Tannenbaum, B.; Tannenbaum, G. S.; Sudom, K.; Anisman, H. Neurochemical and Behavioral Alterations Elicited by a Chronic Intermittent Stressor Regimen: Implications for Allostatic Load. *Brain Res.* **2002**, *953* (1–2), 82–92.

Tanti, A.; Belzung, C. Neurogenesis along the Septo-Temporal Axis of the Hippocampus: Are Depression and the Action of Antidepressants Region-Specific? *Neuroscience* **2013**, *252*, 234–252.

Tashiro, A.; Sandler, V. M.; Toni, N.; Zhao, C.; Gage, F. H. NMDA-Receptor-Mediated, Cell-Specific Integration of New Neurons in Adult Dentate Gyrus. *Nature* **2006**, *442* (7105), 929–933.

Tashiro, A.; Makino, H.; Gage, F. H. Experience-Specific Functional Modification of the Dentate Gyrus through Adult Neurogenesis: A Critical Period during an Immature Stage. *J. Neurosci.* **2007**, *27* (12), 3252–3259.

Taylor, K. R.; Holzer, A. K.; Bazan, J. F.; Walsh, C. A.; Gleeson, J. G. Patient Mutations in Doublecortin Define a Repeated Tubulin-Binding Domain. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275* (44), 34442–34450.

Tendolkar. Electroconvulsive therapy increases hippocampal and amygdala volume in therapy refractory depression: A longitudinal pilot study <http://www.sciencedirect.com/gate2.inist.fr/science/article/pii/S0925492713002606> (accessed Nov 2, 2016).

Teng, J.; Takei, Y.; Harada, A.; Nakata, T.; Chen, J.; Hirokawa, N. Synergistic Effects of MAP2 and MAP1B Knockout in Neuronal Migration, Dendritic Outgrowth, and Microtubule Organization. *J Cell Biol* **2001**, *155* (1), 65–76.

Thornicroft, G. Premature Death among People with Mental Illness. *BMJ* **2013**, *346*, f2969.

Tögel, M.; Wiche, G.; Propst, F. Novel Features of the Light Chain of Microtubule-Associated Protein MAP1B: Microtubule Stabilization, Self Interaction, Actin Filament Binding, and Regulation by the Heavy Chain. *J. Cell Biol.* **1998**, *143* (3), 695–707.

Toni, N.; Laplagne, D. A.; Zhao, C.; Lombardi, G.; Ribak, C. E.; Gage, F. H.; Schinder, A. F. Neurons Born in the Adult Dentate Gyrus Form Functional Synapses with Target Cells. *Nat. Neurosci.* **2008**, *11* (8), 901–907.

Tordera, R. M.; Pei, Q.; Sharp, T. Evidence for Increased Expression of the Vesicular Glutamate Transporter, VGLUT1, by a Course of Antidepressant Treatment. *J. Neurochem.* **2005**, *94* (4), 875–883.

Tozuka, Y.; Fukuda, S.; Namba, T.; Seki, T.; Hisatsune, T. GABAergic Excitation Promotes Neuronal Differentiation in Adult Hippocampal Progenitor Cells. *Neuron* **2005**, *47* (6), 803–815.

Tronel, S.; Fabre, A.; Charrier, V.; Olier, S. H. R.; Gage, F. H.; Abrous, D. N. Spatial Learning Sculptures the Dendritic Arbor of Adult-Born Hippocampal Neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2010**, *107* (17), 7963–7968.

Tsen, P.; El Mansari, M.; Blier, P. Effects of Repeated Electroconvulsive Shocks on Catecholamine Systems: Electrophysiological Studies in the Rat Brain. *Synap. N. Y. N* **2013**, *67* (10), 716–727.

Tso, I. F.; Fang, Y.; Phan, K. L.; Welsh, R. C.; Taylor, S. F. Abnormal GABAergic Function and Face Processing in Schizophrenia: A Pharmacologic-fMRI Study. *Schizophr. Res.* **2015**, *168* (1–2), 338–344.

Tsoi, D. T.-Y.; Hunter, M. D.; Woodruff, P. W. R. History, Aetiology, and Symptomatology of Schizophrenia. *Psychiatry* **2008**, *7* (10), 404–409.

Tucker, R. P.; Binder, L. I.; Matus, A. I. Differential Localization of the High- and Low-Molecular Weight Variants of MAP2 in the Developing Retina. *Brain Res.* **1988**, *466* (2), 313–318.

Udina, M.; Castellví, P.; Moreno-España, J.; Navinés, R.; Valdés, M.; Forns, X.; Langohr, K.; Solà, R.; Vieta, E.; Martín-Santos, R. Interferon-Induced Depression in Chronic Hepatitis C: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Clin. Psychiatry* **2012**, *73* (8), 1128–1138.

Vaidya, V. A.; Siuciak, J. A.; Du, F.; Duman, R. S. Hippocampal Mossy Fiber Sprouting Induced by Chronic Electroconvulsive Seizures. *Neuroscience* **1999**, *89* (1), 157–166.

Vallièrès, L.; Campbell, I. L.; Gage, F. H.; Sawchenko, P. E. Reduced Hippocampal Neurogenesis in Adult Transgenic Mice with Chronic Astrocytic Production of Interleukin-6. *J. Neurosci.* **2002**, *22* (2), 486–492.

Vanelle, J.-M.; Sauvaget-Oiry, A.; Juan, F. Indications de L'électroconvulsivothérapie. *Presse Médicale* **2008**, *37* (5, Part 2), 889–893.

Vivar, C.; Potter, M. C.; Choi, J.; Lee, J.; Stringer, T. P.; Callaway, E. M.; Gage, F. H.; Suh, H.; Praag, H. van. Monosynaptic Inputs to New Neurons in the Dentate Gyrus. *Nat. Commun.* **2012**, *3*, 1107.

Volk, D. W.; Austin, M. C.; Pierri, J. N.; Sampson, A. R.; Lewis, D. A. Decreased Glutamic Acid Decarboxylase67 Messenger RNA Expression in a Subset of Prefrontal Cortical Γ -Aminobutyric Acid Neurons in Subjects With Schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* **2000**, *57* (3), 237–245.

Volle, J.; Brocard, J.; Saoud, M.; Gory-Faure, S.; Brunelin, J.; Andrieux, A.; Suaud-Chagny, M.-F. Reduced Expression of STOP/MAP6 in Mice Leads to Cognitive Deficits. *Schizophr. Bull.* **2013**, *39* (5), 969–978.

Vollmayr, B.; Simonis, C.; Weber, S.; Gass, P.; Henn, F. Reduced Cell Proliferation in the Dentate Gyrus is Not Correlated with the Development of Learned Helplessness. *Biol. Psychiatry* **2003**, *54* (10), 1035–1040.

Vollmayr, B.; Bachteler, D.; Vengeliene, V.; Gass, P.; Spanagel, R.; Henn, F. Rats with Congenital Learned Helplessness Respond Less to Sucrose but Show No Deficits in Activity or Learning. *Behav. Brain Res.* **2004**, *150* (1–2), 217–221.

Wang, H.; Wang, Z.; Wang, S.; Li, M.; Nan, L.; Rhie, J. K.; Covey, J. M.; Zhang, R.; Hill, D. L. Preclinical Pharmacology of Epothilone D, a Novel Tubulin-Stabilizing Antitumor Agent. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **2005**, *56* (3), 255–260.

Wang, J.-W.; David, D. J.; Monckton, J. E.; Battaglia, F.; Hen, R. Chronic Fluoxetine Stimulates Maturation and Synaptic Plasticity of Adult-Born Hippocampal Granule Cells. *J. Neurosci.* **2008**, *28* (6), 1374–1384.

Ward, K. E.; Friedman, L.; Wise, A.; Schulz, S. C. Meta-Analysis of Brain and Cranial Size in Schizophrenia. *Schizophr. Res.* **1996**, *22* (3), 197–213.

Warner-Schmidt, J. L.; Madsen, T. M.; Duman, R. S. Electroconvulsive Seizure Restores Neurogenesis and Hippocampus-Dependent Fear Memory after Disruption by Irradiation. *Eur. J. Neurosci.* **2008**, *27* (6), 1485–1493.

Watkins, C. J.; Pei, Q.; Newberry, N. R. Differential Effects of Electroconvulsive Shock on the Glutamate Receptor mRNAs for NR2A, NR2B and mGluR5b. *Mol. Brain Res.* **1998**, *61* (1–2), 108–113.

Weber, T.; Baier, V.; Lentz, K.; Herrmann, E.; Krumm, B.; Sartorius, A.; Kronenberg, G.; Bartsch, D. Genetic Fate Mapping of Type-1 Stem Cell-Dependent Increase in Newborn Hippocampal Neurons after Electroconvulsive Seizures. *Hippocampus* **2013**, n/a–n/a.

Wei, H.; Sun, S.; Li, Y.; Yu, S. Reduced Plasma Levels of Microtubule-Associated STOP/MAP6 Protein in Autistic Patients. *Psychiatry Res.* **2016**, *245*, 116–118.

Weingarten, M. D.; Lockwood, A. H.; Hwo, S. Y.; Kirschner, M. W. A Protein Factor Essential for Microtubule Assembly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1975**, *72* (5), 1858.

Wennström, M.; Hellsten, J.; Ekdahl, C. T.; Tingström, A. Electroconvulsive Seizures Induce Proliferation of NG2-Expressing Glial Cells in Adult Rat Hippocampus. *Biol. Psychiatry* **2003**, *54* (10), 1015–1024.

Wennström, M.; Hellsten, J.; Tingström, A. Electroconvulsive Seizures Induce Proliferation of NG2-Expressing Glial Cells in Adult Rat Amygdala. *Biol. Psychiatry* **2004**, *55* (5), 464–471.

West, C. H. K.; Weiss, J. M. Effects of Chronic Antidepressant Drug Administration and Electroconvulsive Shock on Activity of Dopaminergic Neurons in the Ventral Tegmentum. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* **2011**, *14* (2), 201–210.

Willner, P. Animal Models as Simulations of Depression. *Trends Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 131–136.

Willner, P. Validity, Reliability and Utility of the Chronic Mild Stress Model of Depression: A 10-Year Review and Evaluation. *Psychopharmacology (Berl.)* **1997**, *134* (4), 319–329.

Willner, P. Chronic Mild Stress (CMS) Revisited: Consistency and Behavioural-Neurobiological Concordance in the Effects of CMS. *Neuropsychobiology* **2005**, *52* (2), 90–110.

Willner, P.; Towell, A.; Sampson, D.; Sophokleous, S.; Muscat, R. Reduction of Sucrose Preference by Chronic Unpredictable Mild Stress, and Its Restoration by a Tricyclic Antidepressant. *Psychopharmacology (Berl.)* **1987**, *93* (3), 358–364.

Winocur, G.; Wojtowicz, J. M.; Sekeres, M.; Snyder, J. S.; Wang, S. Inhibition of Neurogenesis Interferes with Hippocampus-Dependent Memory Function. *Hippocampus* **2006**, *16* (3), 296–304.

Witte, H.; Bradke, F. The Role of the Cytoskeleton during Neuronal Polarization. *Curr. Opin. Neurobiol.* **2008**, *18* (5), 479–487.

Wong, G. T.-H.; Chang, R. C.-C.; Law, A. C.-K. A Breach in the Scaffold: The Possible Role of Cytoskeleton Dysfunction in the Pathogenesis of Major Depression. *Ageing Res. Rev.* **2013**, *12* (1), 67–75.

Wong, M.-L.; Kling, M. A.; Munson, P. J.; Listwak, S.; Licinio, J.; Prolo, P.; Karp, B.; McCutcheon, I. E.; Geraciotti, T. D.; DeBellis, M. D.; et al. Pronounced and Sustained Central Hypernoradrenergic Function in Major Depression with Melancholic Features: Relation to Hypercortisolism and Corticotropin-Releasing Hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2000**, *97* (1), 325–330.

Woo, N. H.; Teng, H. K.; Siao, C.-J.; Chiaruttini, C.; Pang, P. T.; Milner, T. A.; Hempstead, B. L.; Lu, B. Activation of p75^{NTR} by proBDNF Facilitates Hippocampal Long-Term Depression. *Nat. Neurosci.* **2005**, *8* (8), 1069–1077.

Wu, M. D.; Hein, A. M.; Moravan, M. J.; Shaftel, S. S.; Olschowka, J. A.; O'Banion, M. K. Adult Murine Hippocampal Neurogenesis Is Inhibited by Sustained IL-1 β and Not Rescued by Voluntary Running. *Brain. Behav. Immun.* **2012**, *26* (2), 292–300.

Wu, M. V.; Hen, R. Functional Dissociation of Adult-Born Neurons along the Dorsoventral Axis of the Dentate Gyrus. *Hippocampus* **2014**, *24* (7), 751–761.

Yamada, K. M.; Spooner, B. S.; Wessells, N. K. AXON GROWTH: ROLES OF MICROFILAMENTS AND MICROTUBULES*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1970**, *66* (4), 1206–1212.

Yang, C.; Wang, G.; Wang, H.; Liu, Z.; Wang, X. Cytoskeletal Alterations in Rat Hippocampus Following Chronic Unpredictable Mild Stress and Re-Exposure to Acute and Chronic Unpredictable Mild Stress. *Behav. Brain Res.* **2009**, *205* (2), 518–524.

Yang, J.; Harte-Hargrove, L. C.; Siao, C.-J.; Marinic, T.; Clarke, R.; Ma, Q.; Jing, D.; LaFrancois, J. J.; Bath, K. G.; Mark, W.; et al. proBDNF Negatively Regulates Neuronal Remodeling, Synaptic Transmission, and Synaptic Plasticity in Hippocampus. *Cell Rep.* **2014**, *7* (3), 796–806.

Yanpallewar, S. U.; Barrick, C. A.; Palko, M. E.; Fulgenzi, G.; Tessarollo, L. Tamalin Is a Critical Mediator of Electroconvulsive Shock-Induced Adult Neuroplasticity. *J. Neurosci.* **2012**, *32* (7), 2252–2262.

Yirmiya, R.; Rimmerman, N.; Reshef, R. Depression as a Microglial Disease. *Trends Neurosci.* **2015**, *38* (10), 637–658.

Yoshida, K.; Higuchi, H.; Kamata, M.; Yoshimoto, M.; Shimizu, T.; Hishikawa, Y. Single and Repeated Electroconvulsive Shocks Activate Dopaminergic and 5-Hydroxytryptaminergic Neurotransmission in the Frontal Cortex of Rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **1998 a**, *22* (2), 435–444.

Yoshida, K.; Higuchi, H.; Kamata, M.; Yoshimoto, M.; Shimizu, T.; Hishikawa, Y. Single and Repeated Electroconvulsive Shocks Activate Dopaminergic and 5-Hydroxytryptaminergic Neurotransmission in the Frontal Cortex of Rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* **1998 b**, *22* (2), 435–444.

Young, E. A.; Spencer, R. L.; McEwen, B. S. Changes at Multiple Levels of the Hypothalamo-Pituitary Adrenal Axis Following Repeated Electrically Induced Seizures. *Psychoneuroendocrinology* **1990**, *15* (3), 165–172.

Yuan, P.; Zhou, R.; Wang, Y.; Li, X.; Li, J.; Chen, G.; Guitart, X.; Manji, H. K. Altered Levels of Extracellular Signal-Regulated Kinase Signaling Proteins in Postmortem Frontal Cortex of Individuals with Mood Disorders and Schizophrenia. *J. Affect. Disord.* **2010**, *124* (1–2), 164–169.

Yuuki, N.; Ida, I.; Oshima, A.; Kumano, H.; Takahashi, K.; Fukuda, M.; Oriuchi, N.; Endo, K.; Matsuda, H.; Mikuni, M. HPA Axis Normalization, Estimated by DEX/CRH Test, but Less Alteration on Cerebral Glucose Metabolism in Depressed Patients Receiving ECT after Medication Treatment Failures. *Acta Psychiatr. Scand.* **2005**, *112* (4), 257–265.

Zachrisson, O. C. G.; Balldin, J.; Ekman, R.; Naesh, O.; Rosengren, L.; Ågren, H.; Blennow, K. No Evident Neuronal Damage after Electroconvulsive Therapy. *Psychiatry Res.* **2000**, *96* (2), 157–165.

Zangen, A.; Overstreet, D. H.; Yadid, G. High Serotonin and 5-Hydroxyindoleacetic Acid Levels in Limbic Brain Regions in a Rat Model of Depression; Normalization by Chronic Antidepressant Treatment. *J. Neurochem.* **1997**, *69* (6), 2477–2483.

Zangen, A.; Nakash, R.; Overstreet, D. H.; Yadid, G. Association between Depressive Behavior and Absence of Serotonin–dopamine Interaction in the Nucleus Accumbens. *Psychopharmacology (Berl.)* **2001**, *155* (4), 434–439.

Zetterström, T. S. C.; Pei, Q.; Grahame-Smith, D. G. Repeated Electroconvulsive Shock Extends the Duration of Enhanced Gene Expression for BDNF in Rat Brain Compared with a Single Administration. *Mol. Brain Res.* **1998**, *57* (1), 106–110.

Zhao, C.; Teng, E. M.; Summers, R. G.; Ming, G.; Gage, F. H. Distinct Morphological Stages of Dentate Granule Neuron Maturation in the Adult Mouse Hippocampus. *J. Neurosci.* **2006**, *26* (1), 3–11.

Zhao, C.; Warner-Schmidt, J.; S. Duman, R.; Gage, F. H. Electroconvulsive Seizure Promotes Spine Maturation in Newborn Dentate Granule Cells in Adult Rat. *Dev. Neurobiol.* **2012**, *72* (6), 937–942.

Zhao, M.; Li, D.; Shimazu, K.; Zhou, Y.-X.; Lu, B.; Deng, C.-X. Fibroblast Growth Factor Receptor-1 Is Required for Long-Term Potentiation, Memory Consolidation, and Neurogenesis. *Biol. Psychiatry* **2007**, *62* (5), 381–390.

Résumé

L'électroconvulsivothérapie (ECT) est une réponse thérapeutique reconnue comme efficace face à la résistance et au délai d'action des agents pharmacologiques, pour les épisodes dépressifs majeurs. Bien que l'efficacité thérapeutique des ECT soit reconnue de tous, la connaissance incomplète des effets biologiques qui sous-tendent l'effet thérapeutique contribue à discréditer ce soin. Les marqueurs biologiques ne sont pas facilement accessibles chez l'Homme, il a donc été développé chez les rongeurs, l'équivalent des ECT : les stimulations électro-convulsives (ECS). A ce jour, les divers résultats provenant des études chez les animaux n'ont pas permis d'obtenir des conclusions claires, et ceci est majoritairement dû à l'utilisation d'animaux naïfs. Dans ce contexte, l'objectif du projet de thèse était d'analyser les effets biologiques et comportementaux des ECS répétées, modèle de l'électroconvulsivothérapie, sur un modèle animal de troubles psychiatriques : la souris MAP6 KO. En effet, ces souris expriment constitutivement des altérations biologiques et comportementales assimilées à certains symptômes de la dépression. Nous avons montré qu'un traitement par ECS améliore certaines des altérations comportementales des souris MAP6 KO, avec un maintien dans le temps différent selon le comportement analysé. Au niveau biologique, le traitement par ECS n'induit pas de modification détectable de l'expression des protéines dans le cerveau, mais induit une augmentation de la neurogénèse adulte hippocampale, et plus particulièrement une augmentation du taux d'intégration des neurones néoformés. L'augmentation du nombre de nouveaux neurones survivants pourrait être favorisée par l'augmentation de la complexité de l'arborisation dendritique et de la densité synaptique. De plus nous observons une augmentation de la densité des épines dendritiques dans les neurones corticaux et une augmentation de l'expression du BDNF dans l'hippocampe. En conclusion, le projet de thèse montre que les ECS appliquées aux souris MAP6 KO-ont un effet important au niveau de la plasticité cérébrale et plus particulièrement au niveau de l'intégration des nouveaux neurones issus de la neurogénèse adulte hippocampique.

Mots clefs: Stimulations électro-convulsives ; souris MAP6 KO; dépression ; neuroplasticité ; neurogénèse adulte hippocampique

Abstract

In Major depressive disorder, the electroconvulsive therapy (ECT) is recognized as an effective treatment to face drug-resistance and action latency of pharmacological agents. Although the therapeutic efficacy of ECT is internationally recognized, the ill-characterized biological effects of ECT contribute to discredit this treatment. Direct access of specific markers in human is not easy, prompting the development of the animal counterpart of ECT, the electroconvulsive stimulations (ECS). To date, current results arising from ECS studies in animals remain not fully conclusive because mainly data have been obtained with unchallenged/naive animals. The objective of this project was to analyze the biological and behavioral effects of ECS treatment, on an animal model of psychiatric disorder: the MAP6 KO mice. Indeed MAP6 KO mice (also known as STOP KO mice) constitutively exhibit behavioural and biological features relevant to some aspects of major depressive disorder. We found that ECS treatment has an overall beneficial effect on several constitutive behavioural defects, displayed by MAP6 KO mice, with variable lasting times. At biological levels, ECS treatment did not induce detectable modification of brain proteins expression pattern, but induce an overall increase of hippocampal neurogenesis, and more particularly potentiate the integration rate of newborn neurons, probably through an increase dendritic complexity and dendritic spines density. We also found that ECS enhance dendritic spines density *in vivo* in cortical neurons and increase hippocampal levels of the trophic factor, BDNF. In summary our work provide evidence that ECS treatment when applied to MAP6 KO mice induces major neuronal plasticity events, the stronger being the increased integration rate of hippocampal new-born neurons.

Key words: Electroconvulsive stimulations; MAP6 KO mice; depression; neuroplasticity; adult hippocampal neurogenesis