

Effet de la stimulation électroconvulsive sur la neurogenèse adulte hippocampique sur le modèle animal de dépression CORT

Anne-Sophie Nguon

▶ **To cite this version:**

Anne-Sophie Nguon. Effet de la stimulation électroconvulsive sur la neurogenèse adulte hippocampique sur le modèle animal de dépression CORT. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02292775

HAL Id: dumas-02292775

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02292775

Submitted on 20 Sep 2019

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.

UFR de Médecine
UNIVERSITÉ Grenoble Alpes
BIBLIOTHÈQUES UNIVERSITAIRES Grenoble Alpes
UNIVERSITÉ Grenoble Alpes
Grenoble INP

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

UFR DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Année : 2019

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

DIPLÔME D'ÉTAT

EFFET DE LA STIMULATION ELECTROCONVULSIVE SUR LA NEUROGENESE ADULTE HIPPOCAMPIQUE SUR LE MODELE ANIMAL DE DEPRESSION CORT

Anne-Sophie NGUON
[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE
Le 12/09/2019

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :
M. le professeur Thierry BOUGEROL

Membres :
Mme la Professeure Elena MORO
M. le Professeur Mircea POLOSAN
Mme le Docteur Annie ANDRIEUX
Mme le Docteur Sylvie GORY-FAURE
M. le Docteur Jérôme HOLTZMANN (directeur de thèse)

L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

UFR de Médecine

UNIVERSITÉ Grenoble Alpes

Doyen de la Faculté : **Pr. Patrice MORAND**

Année 2018-2019

ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	APTEL Florent	Ophtalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie générale
PU-PH	BAILLET Athan	Rhumatologie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
PU-PH	BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Agents infectieux
PU-PH	BOLLA Michel	Cancérologie-Radiothérapie
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne
PU-PH	BOUZAT Pierre	Réanimation
PU-PH	BRAMBILLA Christian	Pneumologie
PU-PH	BRAMBILLA Elisabeth	Anatomie et de Pathologique Cytologiques
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
MCU-PH	BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	CAHN Jean-Yves	Hématologie
PU-PH	CANALI-SCHWEBEL Carole	Réanimation médicale
PU-PH	CARPENTIER Françoise	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie
PU-PH	CHARLES Julie	Dermatologie
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardio- vasculaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophtalmologie

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	CHIRICA Mircea	Chirurgie générale
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	CLAVARINO Giovanna	Immunologie
PU-PH	COHEN Olivier	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COURVOISIER Aurélien	Chirurgie infantile
PU-PH	COUTTON Charles	Génétique
PU-PH	COUTURIER Pascal	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PU-PH	CURE Hervé	Oncologie
PU-PH	DEBATY Guillaume	Médecine d'Urgence
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastro-entérologie, Hépatologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Addictologie
PU-PH	DEMONGEOT Jacques	Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
PU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique et procréation
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAGRET Daniel	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie générale
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie, transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaétan	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	GIOT Jean-Philippe	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
MCU-PH	GUZUN Rita	Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie, biologie moléculaire
PU-PH	HALIMI Serge	Nutrition
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Génétique et procréation
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie obstétrique
PU-PH	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale
PU-PH	JOUK Pierre-Simon	Génétique

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	JUVIN Robert	Rhumatologie
PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
MCU-PH	KASTLER Adrian	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie ; Eco. de la Santé
MCU-PH	LABLANCHE Sandrine	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
MCU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie - virologie
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU - PH	LE PISSART Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénéréologie
PU-PH	LEROUX Dominique	Génétique
PU-PH	LEROY Vincent	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	LETOUBLON Christian	Chirurgie digestive et viscérale
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
PU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
MCU-PH	LUPO Julien	Virologie
PU-PH	MAGNE Jean-Luc	Chirurgie vasculaire
MCU-PH	MAIGNAN Maxime	Médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	MALLION Jean-Michel	Cardiologie
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie, transfusion
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie - virologie
MCU-PH	MC LEER Anne	Cytologie et histologie
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie - virologie
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie
PU-PH	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hémato - transfusion
PU-PH	PASSAGGIA Jean-Guy	Anatomie
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie réanimation
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation
PU-PH	PERNOD Gilles	Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie
PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Virologie
PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie

CORPS	NOM-PRENOM	Discipline universitaire
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	PONS Jean-Claude	Gynécologie obstétrique
PU-PH	RAMBEAUD Jean-Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
MCU-PH	RENDU John	Biochimie et Biologie Moléculaire
MCU-PH	RIALLE Vincent	Biostatiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	ROMANET Jean Paul	Ophtalmologie
PU-PH	ROSTAING Lionel	Néphrologie
MCU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale, pharmaco clinique, addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie, toxicologie et pharmacologie
MCU-PH	RUBIO Amandine	Pédiatrie
PU-PH	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie Cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses, maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Réanimation
MCU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAOUI Philippe	Néphrologie
PU-PH	ZARSKI Jean-Pierre	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie

PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers
MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
PU-MG : Professeur des Universités de Médecine Générale
MCU-MG : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale

Ce travail a été réalisé au sein de l'Institut des Neurosciences de Grenoble :

EQUIPE 1: Physiopathologie du cytosquelette. ANDRIEUX Annie

INSERM U836
Grenoble Institut des Neurosciences
Batiment Edmond J. SAFRA
BP 170, 38 706 GRENOBLE CEDEX 9

Cette étude a fait l'objet d'une publication le 15 aout 2018 dans la revue *Brain Stimulation*, (cf. Annexe),

Et a également été récompensée de 2 prix :

Prix du meilleur poster, Catégorie Recherche Fondamentale, *Journée de la Recherche de Grenoble 2018,*

Prix des Internes, *17ème Congrès de l'Encéphale, 2019*.

Remerciements,

Je remercie le Pr BOUGEROL pour l'encadrement prodigué au sein de la région grenobloise ainsi que sa bienveillance au cours de ces quatre années de formation au métier de psychiatre. J'espère sincèrement pouvoir continuer à travailler au sein de son équipe ces prochaines années.

Je remercie le Pr POLOSAN d'avoir accepté d'être membre de mon jury et pour son soutien au cours de cette dernière année.

Je remercie le Pr MORO pour avoir également accepté de faire partie de mon jury, j'en suis très honorée, et pour m'avoir accueillie au sein de la consultation des troubles du mouvement où j'ai énormément appris.

Je remercie Annie ANDRIEUX pour m'avoir ouvert les portes du GIN, un tout autre univers que celui de la psychiatrie mais tout aussi intéressant, et permis de réaliser ce projet dans de bonnes conditions.

Je remercie sincèrement Sylvie GORY-FAURE pour toutes ces heures d'apprentissage et pour sa confiance au cours de ce projet. Merci pour l'accueil au sein de cette superbe équipe qui ne manque pas de joie de vivre et d'humour !

Je tiens à remercier plus particulièrement le Dr HOLTZMANN pour son encadrement des plus efficaces, sa rigueur sans faille et ses conseils. Merci de m'avoir encouragée dans cette voie et sans cesse pousser à donner le meilleur de moi-même.

Je remercie tous mes maitres de stage pour tout ce qu'ils m'ont appris lors de mon internat : Dr DROUX, Dr GAOUA, Dr RUMBACH, l'inoubliable Dr LABRUNE, Dr LAURENT, Dr DALL'IGNA, sans oublier le « Dr DUBUC » avec l'intonation s'il vous plait !

Mention Spéciale pour la Médecine Légale, merci au Pr SCOLAN pour l'accueil au sein de son service, pour son humour noir et sa détermination. Merci à Isabelle pour son encadrement et sa motivation sans limite ! Merci au « Dr Pierre Henry médecine légale », à Sophie et à Cloé, sans qui le semestre n'aurait pas été le même.

Un immense merci à tous mes co-internes (les anciens et les moins anciens) pour avoir supporté ma rigidité au travail : Boris, Pierre, Grégoire, Hélène, Téano, Marie, Arnaud, Albane, Aude, Véra et tous les autres.

Je ne peux évidemment pas oublier mes plus fidèles acolytes ! Merci à Robin pour être là quand on en a besoin, surtout quand on en a besoin. A Laura, ma binôme depuis le début. Que de chemin parcouru depuis le bureau du premier étage… ça n'aurait vraiment pas été pareil sans toi. J'espère qu'on ne se quittera pas de sitôt !

A mon père, pour m'avoir fait connaitre la médecine dès l'enfance et pour m'avoir appris à toujours faire plus.

A ma sœur Marion, pour avoir toujours été là dans les bons moments comme dans les pires. A ma sœur Emmanuelle pour sa générosité. Même si je suis loin, je serai toujours là pour vous d'une manière ou d'une autre.

A Elisa et Mathilde, vous me suivez depuis tellement d'années maintenant qu'on ne sait plus ni où ni quand cela a commencé…. Mais ce n'est pas prêt de s'arrêter !

A mes chats, le gros et le petit, pour tout le travail accompli en coulisse. Il n'y a pas de mot pour décrire toute ma gratitude. Merci de me combler autant au quotidien. Et plus particulièrement pour toi, Hugues, j'ai normalement toute la vie pour te rendre la pareille

A ceux qui sont déjà partis et que je n'oublie pas.

A ma mère.

ABBREVIATIONS

ACTH: AdrénoCorticoTrophine Hormones

BDNF: Brain Derived Neurotrophic Factor

CORT : modèle animal de dépression par excès de glucocorticoïdes

CRF: Cortico Releasing Factor

ECS: Stimulation ElectroConvulsive

ECT: ElectroConvulsivoThérapie

EdU : 5-Ethynyl-2'-deoxyuridine

FST: Forced Swim Test

HPA: Axe Hypothalamo-Hypophysaire

NSF: Novelty Suppressed Feeding

RESUME:

EFFET DE LA STIMULATION ELECTROCONVULSIVE SUR LA NEUROGENESE ADULTE HIPPOCAMPIQUE SUR LE MODELE ANIMAL DE DEPRESSION CORT

Introduction: L'électroconvulsivothérapie (ECT) a montré son efficacité ainsi que sa rapidité d'action, particulièrement dans les cas de dépression sévère ou résistante. Néanmoins ce traitement reste méconnu quant aux mécanismes biologiques qui sous-tendent son efficacité. L'utilisation d'une technique modifiée pour l'animal, la stimulation electroconvulsive (ECS), permet d'étudier ces mécanismes en l'appliquant à des modèles animaux de dépression comme l'utilisation répétée de corticoïdes (modèle CORT). Les ECS sont capables de stimuler la neurogenèse hippocampique et plus particulièrement la prolifération des progéniteurs neuronaux, mais ces progéniteurs ne sont pas liés directement à l'amélioration comportementale qui peut être observée dès la fin de la cure, comme chez l'homme, puisqu'il faut quatre semaines à ces progéniteurs pour s'intégrer au réseau. Notre objectif est d'étudier l'effet des ECS sur la population des nouveaux neurones présents au moment de la cure sur le modèle de dépression CORT.

Méthode : 21 mâles C57Bl6 ont reçu un traitement par corticoïdes (35 µg/ml/j) via l'eau de boisson sur une durée totale de 8 semaines. A la quatrième semaine de traitement elles ont reçu 4 injections d'EdU (1 par jour pendant 4 jours). 11 souris ont bénéficié d'une cure d'ECS (10 séances au total sur 15jours), les autres constituant le groupe contrôle (SHAM). Juste à la fin de la cure nous avons réalisé la révélation du marquage EdU qui a permis de comptabiliser, en aveugle, le nombre de nouveaux neurones présents dans la couche granulaire du gyrus denté de l'hippocampe.

Résultats : L'analyse des coupes hippocampiques a montré une augmentation significative du nombre de nouveaux neurones par hippocampe juste après la fin de la cure dans le groupe traité par ECS (médiane: 676 ; min-max : 478-826) par rapport au groupe SHAM (médiane: 285 ; min-max : 236-368) avec une différence $p<0.01$ (Unilateral Mann-Whitney test).

Conclusion : Les ECS améliorent la survie des nouveaux neurones présents pendant la réalisation de la cure, indépendamment d'un effet sur la prolifération des progéniteurs. Les effets bénéfiques comportementaux précoces obtenus sous ECS, pourraient ainsi être liés à une augmentation de la survie des nouveaux neurones générés spontanément.

Mots Clefs : Stimulation électro-convulsive ; corticosterone; dépression ; neurogénèse adulte hippocampique ; CORT.

ABSTRACT :

EFFECT OF ELECTROCONVULSIVE STIMULATION ON ADULT HIPPOCAMPAL NEUROGENESIS ON A NEUROENDOCRINE MODEL OF DEPRESSION

Introduction : In Major depressive disorder, the electroconvulsive therapy (ECT) is recognized as an effective treatment to face drug-resistance or severe major depression. Although the therapeutic efficacy of ECT is internationally recognized, the neurobiological mechanisms underlying the curative action of ECT remain incompletely understood. Direct access of specific markers in human is not easy, prompting the development of the animal counterpart of ECT, the electro convulsive stimulations (ECS). ECS increases hippocampal progenitor proliferation but these new progenitors have yet to be directly linked to behavioral improvement, because they need 4 weeks to integrate the network.

The objective of this project was to analyze the biological effects of ECS treatment on the newborn neuron present before ECS treatment, in a neuroendocrine model of depression, the CORT model.

Method : 21 mice received corticosterone treatment (35 μg/ml/d) in the drinking water during 8 weeks. 11 mice have been treated by ECS (10 stimulations under anesthesia, over 2 weeks), while the remainder formed a control group (SHAM). To study post-ECS newborn neurons, mice were injected with EdU (50 mg/kg) once daily for 4 days, 2 weeks before starting the ECS treatment.

Results : The number of EdU-positive cells per hippocamp, corresponding to the set of newborn neurons, is significantly higher in the ECS group (median : 676 ; min-max : 478-826) than in the SHAM group (median : 285 ; min-max : 236-368) with $p<0,01$ (Unilateral Mann-Whitney test).

Conclusion : Our work provide evidence that ECS treatment, when applied to CORT mice, increases the survival of hippocampal new-born neurons. Beneficial effect on behavioral traits could be linked to increased survival of neurons present before ECS treatment rather than to the increased number of progenitors following ECS.

Key words: Electroconvulsive stimulation; neuroendocrine model; corticosterone; depression; adult hippocampal neurogenesis; CORT.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION : 13
A) La dépression : 14
1. Épidémiologie 14
2. L'épisode dépressif caractérisé 15
3. Physiopathologie de la dépression 16
B) L'électroconvulsivothérapie : 20
1. Indications : 20
2. Modalités 21
3. Les ECS, modèle animal des ECT 23
4. Les modèles animaux utilisés pour les ECS 24
C) Mécanismes biologiques des ECT/ECS 25
1. Théories actuelles sur les mécanismes d'actions des ECT 25
2. La Neurogenèse Adulte Hippocampique 26
3. Actions des ECT/ECS sur la neurogenèse adulte hippocampique 28
D) Problématique 31
MATERIEL ET METHODE : 32
RESULTATS 35
DISCUSSION 39
ANNEXE 48
BIBLIOGRAPHIE 84

INTRODUCTION :

L'Electroconvulsivothérapie (ECT), utilisée majoritairement dans les cas de dépression sévère ou résistante, présente une efficacité et une rapidité d'action bien supérieures aux antidépresseurs médicamenteux (ANAES 1998; Nobler et al. 1997). Néanmoins, malgré plusieurs dizaines d'années d'utilisation, les mécanismes d'action sous-tendant l'effet antidépresseur de cette thérapeutique demeurent inexpliqués. Le modèle animal mis au point (ECS pour Stimulation ElectroConvulsive) pour mieux étudier ce traitement apporte des éléments de compréhension. Les travaux de Schloesser (Schloesser et al.,2015) ont confirmé l'implication de la neurogenèse adulte hippocampique, en accord avec la théorie neurogénique/neurotrophique. S'il est clair que les effets bénéfiques des ECS passent par une action sur la neurogenèse adulte hippocampique, notamment par la stimulation des progéniteurs, cela n'explique cependant pas complètement la cinétique d'action de ce traitement.

Cette étude s'inscrit dans un projet de recherche conduit depuis plusieurs années par l'Equipe 1 d'Annie ANDRIEUX de l'Institut des Neurosciences de Grenoble, sur les effets à court et long terme de la stimulation électroconvulsive. Initialement axée sur un modèle particulier de souris, les souris MAP6KO, les résultats obtenus ont permis d'impliquer les nouveaux neurones comme médiateurs de l'action rapide des ECS. Nous cherchons désormais à reproduire ces résultats dans des modèles animaux plus spécifiques de la dépression. L'hypothèse principale de ce projet est que l'action comportementale précoce observée sous ECS, et également sous ECT chez l'Homme, serait sous-tendue par une augmentation de la survie des nouveaux neurones générés spontanément.

Dans cette optique, nous présentons ici une étude réalisée sur un modèle animal de dépression, le modèle CORT, également utilisé dans les travaux de Schloesser et al. Mais

avant tout, nous aborderons différentes notions primordiales pour la compréhension de la théorie neurogénique/ neurotrophique des ECT/ECS.

Nous définirons ainsi en premier lieu la dépression et ses hypothèses étiologiques, puis nous aborderons l'électroconvulsivothérapie et son modèle animal, les ECS. Enfin, après avoir détaillé les différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique, nous nous focaliserons sur les mécanismes d'action des ECS à travers la théorie neurogénique/neurotrophique.

A) La dépression :

1. Épidémiologie

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les troubles mentaux sont responsables d'une part majeure de la morbidité dans le monde. L'OMS estime que 25% de la population mondiale est concernée à un moment ou un autre de sa vie par un trouble mental. Chaque année, plus de 350 millions de personnes souffrent de dépression dans le monde et seuls 25% d'entre elles peuvent avoir accès à des traitements efficaces. Cela en fait donc un véritable problème de santé publique.

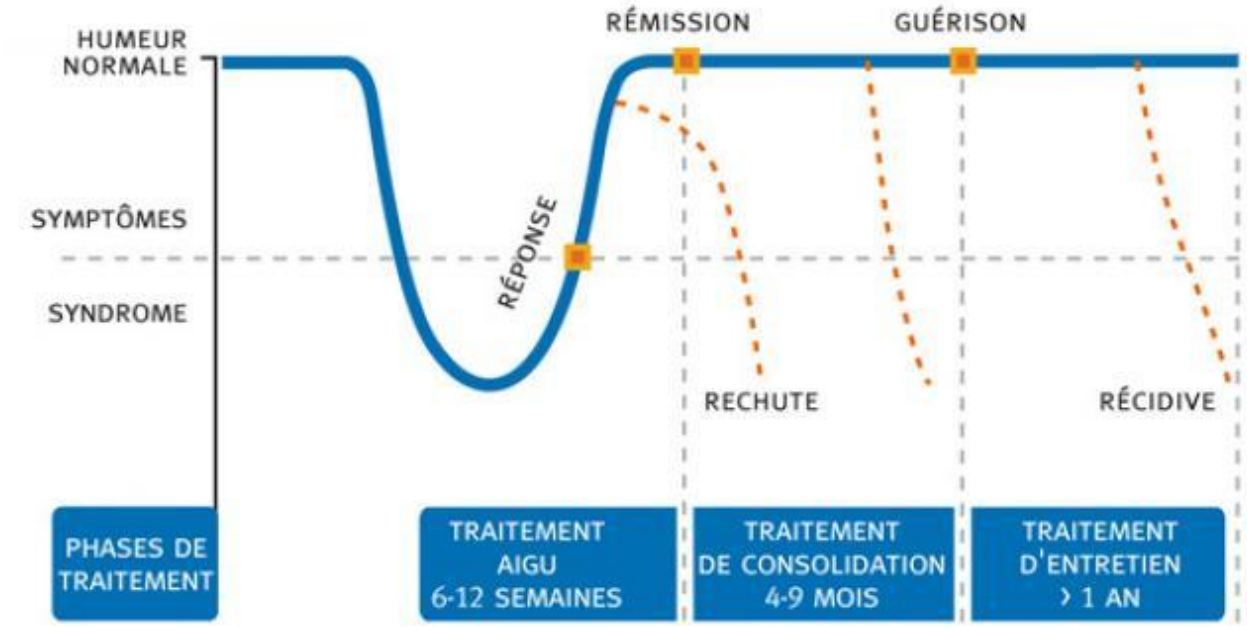
La dépression se situe au quatrième rang des maladies en termes de coût financier par maladie. Selon les prévisions, en 2020, ce trouble se situera à la seconde place parmi les différentes maladies, quels que soient l'âge et le sexe. Le suicide en est l'issue la plus tragique. On compte chaque année au niveau mondial 800 000 morts par suicide.

2. L’épisode dépressif caractérisé

En psychiatrie, le diagnostic de l'épisode dépressif caractérisé se base sur une approche catégorielle comme dans la CIM-10 (Classification Internationale des Maladies selon l’OMS) ou le DSM-5 (Manuel Diagnostic et Statistiques des troubles mentaux, classification de l’American Psychiatric Association). Ce dernier regroupe pour cette pathologie deux symptômes majeurs : la tristesse de l'humeur et l'anhédonie. Ces derniers doivent être associés à d'autres symptômes comme l'aboulie, une asthénie, des troubles psychomoteurs, l'atteinte des fonctions instinctuelles : orexie, sommeil, libido, ou encore des idées de mort. Ces symptômes doivent être présents pendant au moins quinze jours.

Bien que ce soit une pathologie très courante, la dépression n'en demeure pas moins grave car il a été établi qu’en l’absence de traitement, 15% des patients succombent à la suite d’un suicide, et qu’entre 60% et 80% des suicides sont le fait d’individus fortement dépressifs (Mann, 2003).

Les patients rétablis à la suite d’un premier épisode dépressif présentent un risque de récidive dans les six mois évalué à 50% en cas d’arrêt du traitement (Frank et al., 1990) (Figure 1). On considère que la résistance médicamenteuse, caractérisée par une absence de rémission symptomatique après le recours à deux essais successifs d'antidépresseurs de classe pharmacologique différente, bien conduits en termes de posologie et de durée, concerne au moins 15 à 30 % des épisodes dépressifs (Thase ME et al., 2011). La dépression est donc une maladie grave et difficile à traiter.



<u>Figure 1</u>: Évolution et phases d'un épisode dépressif. D'après Kupfer et al. 1991

3. Physiopathologie de la dépression

A ce jour, différentes hypothèses ont été formulées quant à l'étiologie de la dépression. Loin de s'opposer, ces différentes hypothèses semblent plutôt s'intriquer.

- *L'hypothèse monoaminergique :*

C'est la théorie la plus ancienne concernant les étiologies possibles de la dépression. Elle énonce que la dépression serait liée au dysfonctionnement du système de neurotransmetteurs mono-aminergiques (sérotonine, noradrénaline et dopamine), entraînant une diminution de ces neurotransmetteurs au niveau extracellulaire et une neurotransmission cérébrale altérée (Hirschfeld et al. 2000). Il faut cependant noter que plusieurs études sont venues apporter des limites à cette théorie, en démontrant que l'hypothèse monoaminergique, à elle seule, ne peut entièrement expliquer l'étiologie de la dépression (Duman et al. 1997).

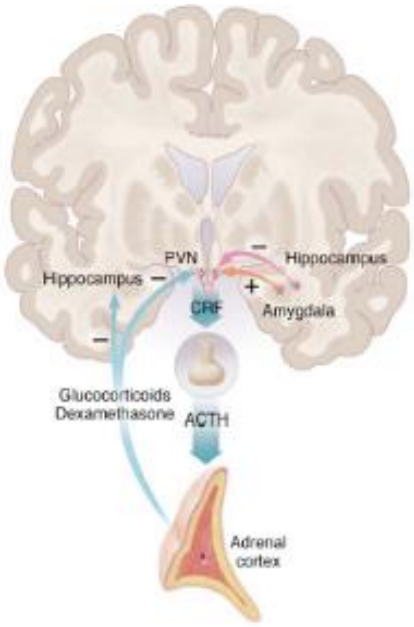
- *Rôle des facteurs génétiques et de l'environnement :*

D'un point de vue génétique, différentes études ont démontré une implication de certains gènes dans la dépression, notamment en étudiant des familles avec plusieurs cas de trouble de l'humeur. Cependant cette pathologie ne résulte pas de la dérégulation d'un seul gène, mais plutôt d'un ensemble de facteurs génétiques (Kendler et al. 1999). D'ailleurs, il a été constaté une part d'héritabilité génétique plus importante, dans les cas de dépression sévère, précoce ou atypique (Fava and Kendler, 2000; Gilbertson et al. 2002).

De plus, il existe également une part importante liée à l'interaction gêne-environnement, définie par un effet du génotype sur le risque d'expression d'une maladie qui peut être différent selon l'exposition des sujets aux facteurs environnementaux. Dans une étude réalisée par Caspi et al. en 2003, il est fait l'hypothèse qu'un polymorphisme fonctionnel situé dans le promoteur du gène codant pour le transporteur de la sérotonine (5HTTLPR) pouvait moduler l'impact des événements de vie stressants sur la vulnérabilité à la dépression.

- *La dérégulation du système HPA :*

Le système hypothalamo-hypophysaire et surrénalien, ou axe hypothalamo-hypophysaire (HPA) est le système de la réponse au stress. Il comprend différentes structures qui interagissent entre elles et qui exercent également un rétrocontrôle (cf. Figure 2). Les patients atteints de dépression présentent une hyperactivité de cet axe, et un défaut de rétrocontrôle inhibiteur, induisant un niveau élevé de glucocorticoïdes circulants (Reus et al., 1985; Barden et al., 1995; Wong et al., 2000; Carroll et al., 2007). Néanmoins, ces anomalies de l'axe HPA ne concerneraient qu'une partie des patients (Stetler and Miller 2011).



<u>Figure 2</u> : Le système hypothalamo-hypophysaire et surrénalien.

Les neurones à Cortico Releasing Factor (CRF) du Noyau Para Ventriculaire (PVN) intègrent l'information liée au stress. Les entrées neuronales intègrent également les afférences excitatrices de l'amygdale et inhibitrices de l'hippocampe. Le CRF est alors libéré par ces neurones dans le système hypophysaire et agit sur des récepteurs de l'hypophyse antérieure. Leur activation entraîne la libération d'adrénocorticotrophine (ACTH). Elle gagne le cortex surrénalien par le système sanguin où elle stimule la libération de glucocorticoïdes. Il y a alors un rétrocontrôle sur la synthèse et la libération de CRF et d'ACTH directement au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse, mais également de façon plus large au niveau cortico-limbique (hippocampe, cortex préfrontal, amygdale). De cette manière, les glucocorticoïdes peuvent inhiber leur propre synthèse. Dans les cas de dépression, il est fréquemment retrouvé des taux élevés de glucocortocoïdes qui peuvent affaiblir et endommager les systèmes de régulation. Il est également reconnu qu'un excès de glucocorticoïdes exerce un effet neurotoxique (Nestler et al., 2002a).

- *Implication du système immunitaire :*

Une autre hypothèse a émergé ces vingt dernières années : l'hypothèse immuno-inflammatoire. Elle suggère qu'une augmentation des taux de cytokines pro-inflammatoires, et une diminution des cytokines anti-inflammatoires, ainsi que l'activation

des cellules de l'immunité seraient associées à la pathogenèse de la dépression. Les premiers travaux établissant un lien entre la dépression et l'activation des cellules T ont été publiés en 1990 (Maes et al. 1997). Depuis, plusieurs études ont confirmé cette observation en montrant notamment une augmentation du taux périphérique de cytokines pro-inflammatoires chez des patients dépressifs (Dowlati et al. 2010). Des processus inflammatoires et des interactions entre les systèmes neurologique et immunitaire seraient ainsi impliqués dans le développement de la dépression.

- *La théorie neurogénique/ neurotrophique :*

Dans les années 2000, une autre hypothèse a été émise quant à la physiopathologie de la dépression lors d'études sur les cellules nerveuses. Cette hypothèse fait intervenir le processus de neurogenèse dans le déclenchement ou le traitement de cette pathologie. Cette théorie a été émise devant des altérations du volume hippocampique chez les patients déprimés (Campbell and MacQueen, 2006; Konarski et al. 2008), évoquant une altération de la neurogenèse adulte hippocampique dans la dépression devant une diminution des gyrus dentés (Boldrini M et al. 2013 ; Huang Y et al. 2013 ; Wang Z et al. 2010). Les neurotrophines, dont le Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), sont d'importants régulateurs de l'activité neuronale, impliqués aussi bien dans la différenciation des neurones que dans la survie ou la maturation neuronale. Des études post-mortem ont montré une diminution des quantités de BDNF dans l'hippocampe (Dwivedi et al. 2003), le cortex cingulaire (Tripp et al. 2012) ou l'amygdale (Guilloux et al. 2012) chez des patients dépressifs. Ces anomalies sont également retrouvées dans les modèles animaux de dépression avec une atteinte de la neurogenèse hippocampique après un stress chronique (Pham K et al., 2003 ; Lee KJ et al , 2006 ; , Van Bokhoven et al. 2001) mais également ceux utilisant l'administration de corticostérone (Cameron HA et al. 1994).

Chez les patients recevant un traitement antidépresseur, les observations post-mortem montrent une augmentation de la neurogenèse (Boldrini et al. 2013) et du BDNF

dans l'hippocampe (Chen et al. 2001). Cette augmentation de BDNF se retrouve également au niveau plasmatique (pour revue : Molendijk et al. 2014). Cette théorie est parmi les plus étudiées ces dernières années.

B) L'électroconvulsivothérapie :

1. Indications :

L'électroconvulsivothérapie (ECT) est utilisée comme traitement antidépresseur depuis plusieurs dizaines d'années. Malgré une image souvent éloignée de la réalité auprès du public et parfois même des médecins, l'ECT est l'un des traitements les plus performants dont disposent les psychiatres pour soigner la dépression. Après de nombreuses recherches, les mécanismes d'action qui sous-tendent cet effet antidépresseur, au niveau cellulaire ou moléculaire, restent encore mal connus.

L'électroconvulsivothérapie, a été initialement développée dans les années 1930, pour le traitement des maladies mentales par Cerletti et Bini. Le caractère impressionnant des crises convulsives générées, 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 vingt ans, liée à l'avènement des psychotropes et le mouvement d'antipsychiatrie, 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). Depuis, de nombreuses améliorations ont été apportées dont le recours à l'anesthésie générale et au curare, le développement de directives d'utilisation, de recommandations et de modalités d'application des ECT, l'amélioration des pramètres de stimulation, ainsi que l'abandon du terme électrochoc (ANAES 1998).

L’ECT peut être utilisée en première intention dans les dépressions sévères, ou lorsque la prise d’agents pharmacologiques n’est pas compatible avec l’état de santé du patient avec une efficacité supérieure à 80 %. Celle-ci atteint les 60% lorsque les ECT sont utilisés en seconde intention dans les dépressions résistantes (ANAES 1998, Loo et al., 2010). La définition de la dépression résistante est assez variable dans la littérature. Néanmoins, on retient de façon assez consensuelle qu'elle est caractérisée par une absence de rémission symptomatique après le recours à deux essais successifs d'antidépresseurs de classe pharmacologique différente, bien conduits en termes de posologie et de durée tout en s'assurant d'une observance de qualité (au moins 80 % du traitement pris sur la période considérée), (Rush AJ et al., 2011). 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).

Outre son efficacité remarquable, il est important de préciser sa rapidité d'action, puisque l'on peut observer des améliorations cliniques dès la première séance alors que les antidépresseurs médicamenteux mettent généralement plusieurs semaines pour commencer à faire effet.

2. Modalités

Une séance d’ECT consiste à appliquer un courant électrique, par l’intermédiaire d’électrodes sur le scalp du patient, afin d’effectuer une stimulation cérébrale focale. Cette dernière génère de façon collatérale une crise convulsive généralisée. Deux types de positionnements principaux peuvent être réalisés : en bitemporal ou en unilatéral. La crise induite par l’ECT se caractérise par la durée de la réponse neuronale à

l'electroencéphalographie et la charge totale de courant électrique (intensité, durée, fréquence, pulse) délivré. Une crise thérapeutique dure en moyenne 20 secondes. Afin d'avoir une réponse optimale, l'intensité du stimulus doit être au moins deux fois supérieure au seuil épileptogène en bilatéral, six fois en unilatéral (Szekely et al, 2012). Les séances d'ECT sont répétées sur plusieurs semaines sous forme de cure (en moyenne 2 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.

Lors de la stimulation, les effets indésirables cardio-circulatoires et cérébraux sont les plus importants avec des variations plus ou moins importantes du rythme cardiaque et de la pression artérielle. Au niveau cérébral, il est observé une vasoconstriction initiale, suivie d'une vasodilatation. D'autres effets secondaires peuvent être observés au décours de la crise tonico-clonique, à savoir des céphalées, des nausées, une amnésie transitoire, un état confusionnel, qui disparaissent rapidement après la séance d'ECT. Des troubles mnésiques plus importants peuvent être observés, avec une amnésie rétrograde et/ou antérograde. Le plus souvent ces troubles ne persistent pas. L'ECT n'induit pas de lésions cérébrales visibles avec les techniques disponibles aujourd'hui (Dwork et al. 2009).

La nécessité d'un traitement de consolidation s'impose dans les suites d'un traitement par ECT, en raison du taux élevé (estimé dans la littérature entre 35 et 80 %) de rechutes dépressives dans l'année suivant la fin des séances d'ECT, de la même façon que pour les antidépresseurs (Sackeim et al. 2001).

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, pourrait permettre de réduire ses effets secondaires, d'améliorer son efficacité et 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 (Holtzmann, 2012). Cependant le manque d'accessibilité à certains paramètres biologiques a nécessité l'étude des effets des ECT chez les animaux.

3. Les ECS, modèle animal des ECT

Comme chez l'Homme, la Stimulation Electroconvulsive (ou ECS) consiste à appliquer, sous anesthésie, des stimulations électriques induisant des crises convulsives tonico-cloniques par l'intermédiaire d'électrodes placées sur les oreilles. La première phase dite tonique, est 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 cependant toujours une seule stimulation quotidienne. La plupart des cures ECS durent en moyenne 15 jours (Scott et al., 2000; Wennström et al., 2003; Hellsten et al., 2004).

4. Les modèles animaux utilisés pour les ECS

Le développement de modèles animaux pour l'étude des troubles neuropsychiatriques représente 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. Ces derniers sont soit des modèles spontanés ou «constitutifs», 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.

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.

Une grande partie des études s'intéressant aux mécanismes d'action des ECT, par l'intermédiaire du modèle animal (ECS), ont été réalisées chez des animaux sains ou présentant des traits de dépression en lien avec la génération d'un stress aigu. Or cela n'est pas proche de la condition de l'Homme. Un modèle intéressant de dépression a été développé il y a quelques années : le modèle CORT, qui répond aux ECS (Schloesser et al., 2015) et que nous détaillerons plus précisément étant celui que nous avons choisi pour notre étude.

Le modèle « CORT» est basé sur une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HPA). Il 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 4 semaines en moyenne. Les rongeurs ainsi traités présentent au niveau comportemental, une anhédonie, une diminution de la motivation et une altération du pelage (Johnson et al., 2006; Gourley et al., 2008 a; David et al., 2009). Au niveau biologique, on peut observer chez ces animaux, une diminution de la prolifération cellulaire dans l'hippocampe, accompagnée d'une diminution de volume de ce dernier (Murray et al., 2008; David et al., 2009), et une baisse des taux de BNDF (Jacobsen JP et al. 2006). 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, permettent son utilisation courante comme modèle de dépression animale (Gregus et al., 2005; Johnson et al., 2006; Gourley et al., 2008 a, 2008 b; Murray et al., 2008).

C) Mécanismes biologiques des ECT/ECS

1. Théories actuelles sur les mécanismes d'actions des ECT

Les mécanismes d'action sous-tendant l'effet antidépresseur des ECT sont étudiés depuis plusieurs années. Différentes théories ont été énoncées afin de mieux comprendre l'effet clinique. Elles se basent notamment sur les étiologies de la dépression évoquées dans la première partie.

La première théorie est celle des mono- amines. Elle suggère que les ECT

augmentent la neurotransmission dopaminergique, sérotoninergique, et adrénergiques (Heninger GR et al. 1996), notamment en améliorant la sensibilité des récepteurs. Le système GABA et glutamaergique serait également impliqué (Pfleiderer B et al. 2003; Esel E et al. 2008). Cependant les résultats basés sur cette théorie n'expliquent pas l'ensemble des mécanismes des ECT.

La théorie anticonvulsivante, quant à elle, évoque que l'efficacité des ECT résulte de la nature anticonvulsivante de ce traitement. L'argument principal en faveur de ce mécanisme est une modification du seuil épileptogène, et de la durée de la crise convulsive pendant une cure d'ECT (Sackeim HA et al. 1999; Holaday JW, 1986). Les neurohormones et le GABA participeraient à cet effet anticonvulsivant (Holaday JW, 1986).

La théorie neurogénique, particulièrement étudiée ces dernières années, énonce que les effets positifs des ECT seraient dus à une augmentation de la neurogenèse et des facteurs trophiques. L'étude chez le rongeur démontre une amélioration de la neurogenèse et de la synaptogenèse après une cure d'ECS (Chen F et al. 2009; Madsen et al. 2000). De même, les facteurs trophiques sont également augmentés après ECT (Piccinni et al. 2009).

Afin de mieux comprendre les mécanismes d'action des ECT/ECS par la théorie neurogénique/neurotrophique, nous allons développer les différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique.

2. La Neurogenèse Adulte Hippocampique

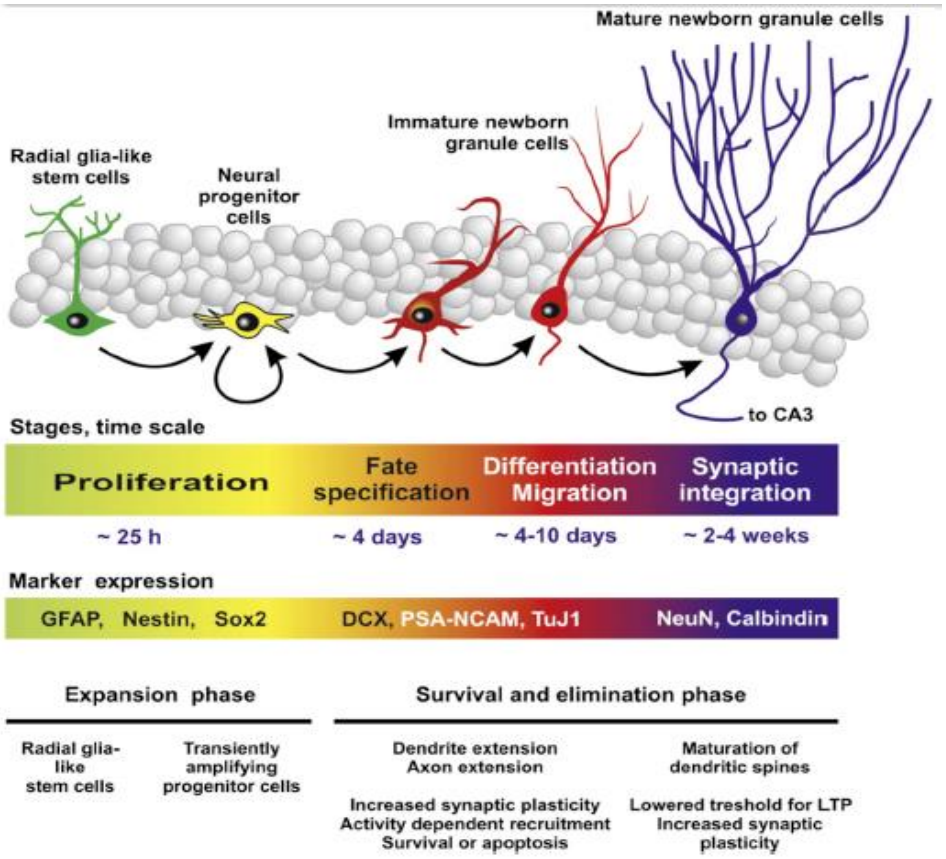
La neurogenèse adulte est le processus qui permet la création de nouveaux neurones à partir de cellules progénitrices neuronales, à l'âge adulte. La neurogenèse hippocampique a tout d'abord été identifiée chez les animaux puis plus tard décrite chez L'Homme (Eriksson et al., 1998; Spalding et al., 2005, 2013). Chez les mammifères, la neurogenèse

adulte est présente dans deux régions cérébrales, à savoir l'hippocampe et les ventricules latéraux (Gage, 2000). Dans l'hippocampe, elle a lieu dans une région précise, le gyrus denté. La neurogenèse adulte hippocampique peut être globalement divisée en trois grandes étapes : la prolifération, la différenciation et la maturation conduisant à l'intégration du nouveau neurone dans le réseau pré-existant (Figure 3). Il est considéré qu'environ 4 semaines sont nécessaires chez les souris, depuis la prolifération des précurseurs neuronaux jusqu'à la formation de nouveaux neurones intégrés au réseau neuronal sous-jacent, et donc fonctionnels (Espósito et al., 2005; Zhao et al., 2006). Les nouveaux neurones seront non distinguables morphologiquement et physiologiquement des autres neurones granulaires au bout de 2 à 4 mois de développement (van Praag et al., 2002; Espósito et al., 2005; Zhao et al., 2006).

Le phénomène de neurogenèse débute avec les cellules souches neuronales (type 1). 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 (type 2). Ces progéniteurs neuronaux ont une forte activité mitotique et donneront des neuroblastes (type 3). Les neuroblastes âgés d'une semaine présentent pour la plupart des extensions neuritiques (Zhao et al., 2006) qui se développeront progressivement afin de former les futures dendrites dans la couche moléculaire et l'axone dans la région CA3. 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 ensuite fortement augmenter jusqu'à la quatrième semaine pour atteindre progressivement un plateau vers les 2 mois (Zhao et al., 2006).

On distingue, au cours de ce processus, 2 phases de survie, une précoce et une tardive car sur l'ensemble des cellules souches, seules 50% survivent (Figure 4). Sur ces 50%, 75% ont un phénotype neuronal, et donneront soit des cellules granulaires glutamatergiques, soit

des interneurones GABAergiques de type cellules en panier. Les 15% restant donneront des astrocytes, des oligodendrocytes ou de la microglie (Steiner et al., 2004).



<u>Figure 3</u> : les différentes étapes de la neurogenèse adulte hippocampique dans le gyrus denté de l'hippocampe chez la souris. D'après Lucassen et al. 2010.

3. Actions des ECT/ECS sur la neurogenèse adulte hippocampique

Les ECT ont montré des résultats honorables concernant le traitement de la dépression chez l'Homme (ANAES 1998). Ces résultats s'observent de façon rapide (Nobler et al. 1997, Segman et al. 1995) voir même dès la première séance d'ECT. Chez l'animal, l'amélioration clinique est évaluée par l'intermédiaire de tests comportementaux

basés sur des symptômes observés chez l'Homme comme l'anhédonie, l'aboulie ou encore l'anxiété. Après ECS, les tests comportementaux initialement altérés se voient normalisés et ce dès la fin de la cure ECS (Li et al. 2007 ; Kasahara et al. 2008 ;Schloesser and al., 2015).

Cette efficacité se retrouve également au niveau anatomique puisque le volume hippocampique se voit également augmenté chez l'Homme après ECT (Bouckaert et al. 2016), ce qui est aussi confirmé chez le rongeur (Kaae, S et al. 2012). L'augmentation du volume de l'hippocampe pourrait en partie provenir de la stimulation des progéniteurs neuronaux.

D'autres études réalisées chez l'animal sont venues renforcer cette hypothèse. En effet les ECS sont capables de stimuler la neurogenèse adulte hippocampique (Segi-Nishida E et al. 2008; Madsen et al. 2000). De plus, plusieurs études ont montré une augmentation de la prolifération cellulaire dans le gyrus denté, 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). Il a ainsi 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 de leurs hypothèses était la modulation par des facteurs trophiques. Celle-ci a été validée par des études montrant la nécessité du VEGF (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. Cette augmentation de la vascularisation au niveau du gyrus denté a été proposée comme support à la stimulation de la neurogénèse adulte (Hellsten et al., 2004). Il a également été observé, à la suite d'une cure ECS, une augmentation de BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor) dans différents modèles animaux (Gesner et al., 2010).

En 2015, Schloesser et al. ont mené une étude particulièrement intéressante à propos de l'effet des ECS sur le modèle CORT. Premièrement, les résultats permettent de conclure que les ECS restaurent les anomalies comportementales induites par le traitement CORT (les tests comportementaux réalisés dès la fin de la cure ECS sont significativement améliorés dans le groupe ECS par rapport au groupe contrôle). Deuxièmement, les manipulations s'intéressant à la neurogenèse révèlent une augmentation des neuroblastes CDX+ dans le groupe ECS, mais aussi des neuroblastes présentant des extensions neuritiques donc plus matures. Cela rejoint les résultats obtenus par Hellsten en 2002, qui avait déjà observé les effets des ECS sur la neurogenèse, notamment sur les progéniteurs neuronaux sur ce même modèle animal. Enfin, ils ont également supprimé la neurogenèse 8 semaines avant la réalisation de la cure ECS, et ce jusqu'à la fin de celle-ci. Il est alors observé, qu'en l'absence de neurogenèse, les effets comportementaux des ECS sont abolis. Les mécanismes d'action des ECS passeraient par la neurogenèse hippocampique, notamment par la stimulation de la prolifération et la maturation des progéniteurs neuronaux. A noter qu'en 2003, Santarelli et al., ont démontré que l'effet antidépresseur de la fluoxetine, un inhibiteur de la recapture de la sérotonine, était également aboli en l'absence de neurogenèse adulte hippocampique.

D) Problématique

Les études menées chez l'animal pour tenter d'éclaircir les mécanismes d'action des ECT/ECS, ont montré une implication de la neurogenèse adulte hippocampique notamment par un effet sur la prolifération des progéniteurs. Cependant, partant du principe qu'un progéniteur met 4 semaines pour devenir un neurone mature intégré au réseau sous-jacent et donc fonctionnel, cela n'expliquerait pas les effets comportementaux observés de façon précoce soit au bout de 2 semaines, en fin de cure. Une cure se déroulant sur 15 jours, les effets dus à l'intégration des progéniteurs stimulés ne devraient s'observer alors théoriquement que 2 semaines après.

Aucune étude jusqu'alors n'a été réalisée sur la population de nouveaux neurones en cours d'intégration pendant la cure ECS. Notre objectif est d'étudier l'effet des ECS sur la population des nouveaux neurones, dernière étape de la neurogenèse adulte hippocampique, présents au moment de la cure sur le modèle de dépression CORT.

MATERIEL ET METHODE :

L’expérience s'est déroulée avec un total de 24 souris mâles C57Bl6. Le protocole a été validé par le Comité Local de l'Institut des Neurosciences de Grenoble (C2EA-04) et en accord avec les directives du Parlement européen relatives à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques du 22 septembre 2010 (Directive 2010/63/EU).

Administration du traitement par corticosterone.

Le traitement par corticostérone (CORT) (Sigma Aldrich) a été dissous dans 0.45% d’hydroxypropyl-β-cyclodextrin (Sigma Aldrich) et administré à la posologie de 35 μg/ml/j dans l'eau de boisson, pendant toute l'étude, soit 8 semaines. Les biberons d'eau étaient opaques afin de protéger la solution de la lumière. Elle était également changée tous les 3 jours.

Traitement par ECS

Les souris ont été séparées en 2 groupes de façon aléatoire: le groupe ECS et le groupe SHAM (groupe témoin), soit 12 souris pour le groupe ECS et 12 pour le groupe SHAM. Les ECS ont été administrées à raison d'une séance par jour pendant 5 jours, sur 2 semaines soit un total de 10 séances, avec la machine Ugo Basile Generator (model 57800). Les souris étaient préalablement anesthésiées par Isoflurane. Par la suite, les ECS étaient réalisés afin d'obtenir une crise tonico-clonique de 15 secondes en moyenne par l'intermédiaire d'électrodes placées sur les oreilles. Les paramètres de stimulation étaient les suivants : fréquence 120 Hz, largeur de pulse 0.5 ms, durée de stimulation 2s, intensité 20 mA. Ces paramètres ont préalablement été choisis lors d'études antérieures, sur la base d’une charge délivrée à deux fois le seuil épileptogène, comme chez l’Homme. Les mêmes

conditions ont été réalisées pour le groupe SHAM, c'est à dire qu'elles ont été anesthésiées et les électrodes étaient également placées, mais le courant n'était pas délivré.

Marquage EdU

Afin de suivre un pool de cellule, nous avons procédé à 4 injections intra-péritonéales d'EdU (50mg/kg/injection) 4 semaines avant la fin de la cure.

Quatre jours après la fin de la cure ECS, les souris préalablement anesthésiées, ont subi une injection intracardiaque de 4% de paraformaldehyde (PFA). Les cerveaux ont été prélevés et post-fixés une nuit dans une solution de PFA 4% puis cryoprotégés dans deux solutions successives de sucrose (15% sucrose pendant 8h puis 30% sucrose pendant 20h). Les cerveaux ont ensuite été congelés dans une solution d'isopenthane à -80°C.

Avant d'être coupé, chaque cerveau a été inclus dans de l'OCT (Tissue-Tek, Optimal Cutting Temperature) ayant la caractéristique de se durcir à basse température ce qui permet de fixer le cerveau sur une platine amovible à l'intérieur d'un dispositif réfrigéré à -20°C (Cryostat Leica CM 3000). Le cryostat permet de faire des coupes de cerveau, ici définies à 40 µm d'épaisseur. Après l'identification du début de l'hippocampe à l'aide de l'atlas pour Souris (Bregma -1.20 to -3.80 mm; Franklin et Paxinos, 2007), chaque coupe de l'hippocampe est collectée (figure 4).

Le stockage des coupes de cerveaux se fait dans une plaque contenant 48 puits remplis par une solution de PBS (tampon phosphate) + Thimerosal qui préservera les tissus d'une éventuelle dégradation par les bactéries ou champignons.

Afin de révéler le marquage EdU, le protocole suivant a été réalisé avec une coupe sur 4 sélectionnée parmi les 64 réalisées de l'ensemble de l'hippocampe : les coupes flottantes hippocampiques ont été lavées et perméabilisées pendant 120min (PBS 0.2% gelatine, 0.5% Triton X100, 0.1% saponine). Les cellules marquées à l'EdU ont été révélées après réaction (5% Tris 2 M pH 7, 80.9% H2O, 4% CuSO4 100 mM, 0.1% Cyanine 3 Azide 1 mM, 10% Ascorbic acid 1 M) et enfin trois lavages avec du PBS et

0,3%triton X100) et trois lavages avec du PBS et 0,3%triton X100. Les coupes EdU positives ont ensuite été analysées au microscope (Zeiss axioskop). Le comptage a été réalisé en aveugle du statut ECS/SHAM.

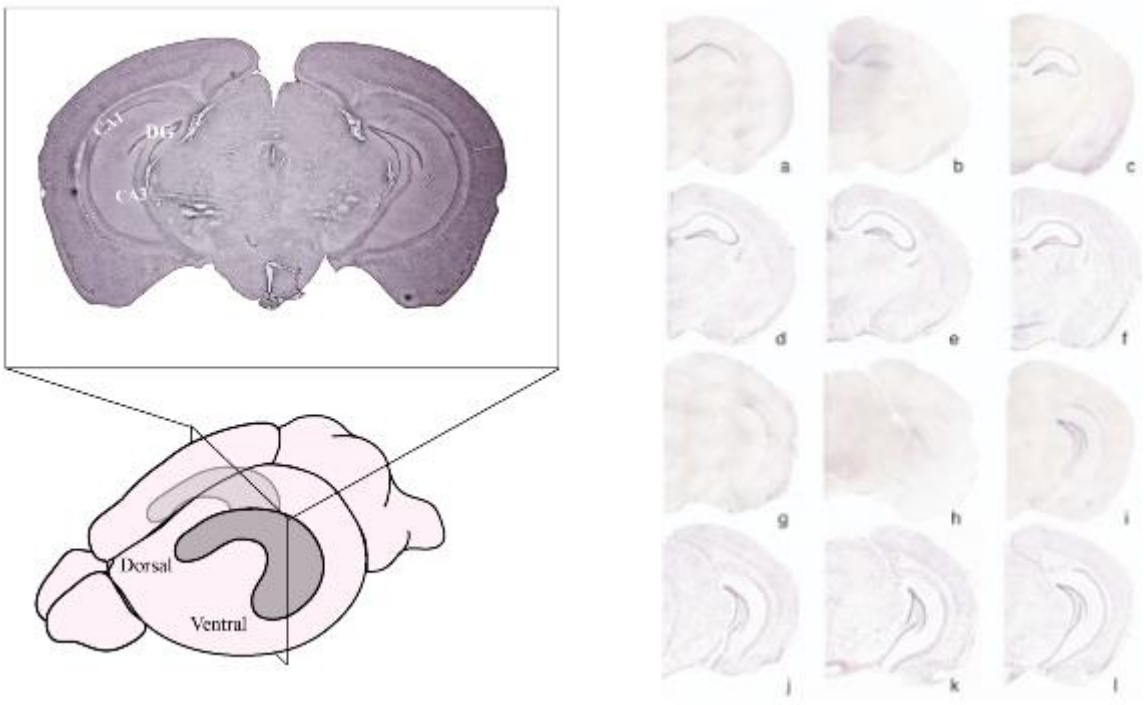


***Figure 4** : coupes coronales de l'hippocampe chez la souris adulte. De la section la plus dorsale (a) à la plus ventrale (l). D'après Leonardo et al., 2006.*

Analyse statistique:

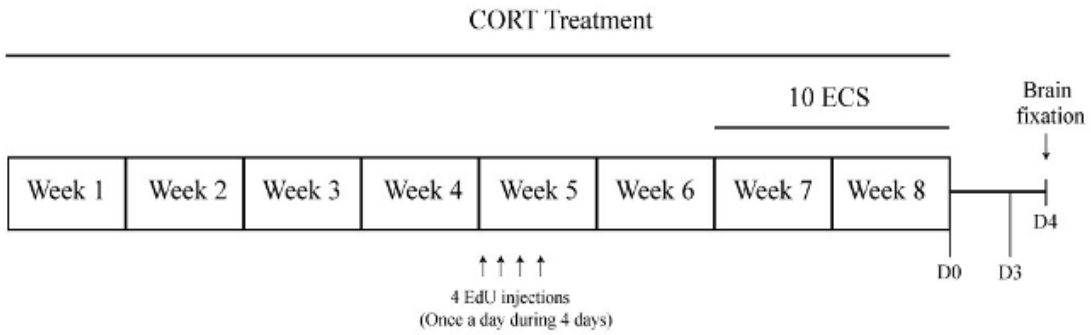
Nous avons effectué l'analyse d'une variable quantitative, le nombre de cellules positives à l'EdU, dans deux groupes indépendants de faible effectif avec le test Mann-Whitney Unilateral avec le logiciel XLSstatistique. Le seuil de significativité était $p<0,05$.

RESULTATS

Nous cherchons à étudier l'effet des ECS sur une population de nouveaux neurones, générés spontanément, avant la cure sur le modèle CORT. Afin d'étudier la bonne population de neurones, le protocole a été conçu de manière à pouvoir dénombrer à la fin de la cure les nouveaux neurones intégrés dans le réseau pendant la cure.

Il faut attendre un minimum de 4 semaines de traitement par corticoïdes pour que les souris présentent les symptômes de la dépression. Lors de cette phase de traitement, 2 souris sont décédées de manière inexpliquée.

Après ces 4 semaines, nous avons pu procéder à l'injection d'EdU, afin de marquer les cellules en cours de prolifération (Figure 3). Chez la souris, au cours du processus de neurogenèse adulte, il faut environ 4 semaines à un neuroblaste nouvellement formé pour atteindre le stade de neurone mature, intégré dans le réseau pré-existant. Il était donc important d'injecter l'EdU 2 semaines avant le début de la cure, qui dure elle-même 2 semaines, pour observer en fin de cure les nouveaux neurones intégrés (Figure 5). L'effet observé sera donc totalement indépendant d'un effet des ECS sur la prolifération des progéniteurs puisque les cellules marquées par l'EdU au cours de l'expérience arrêteront de proliférer bien avant le début de la cure.



<u>Figure 5:</u> Chronogramme de la manipulation

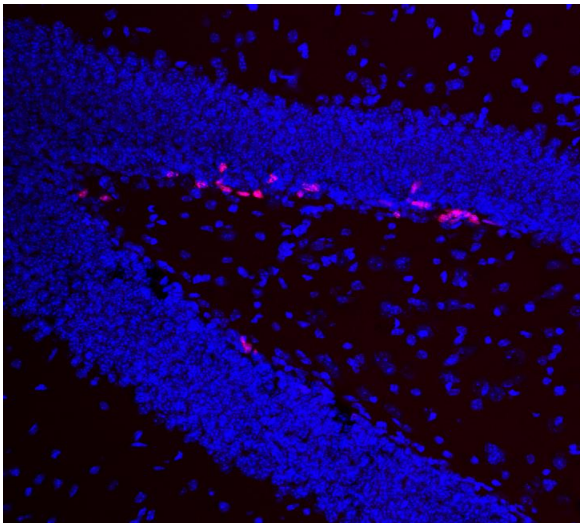
La réalisation de la cure s'est déroulée comme expliquée dans la partie "Matériel et Méthode". Les 22 souris restantes après les 4 semaines de traitement initial à la CORT ont été partagées de façon aléatoire en deux groupes : 12 ECS et 10 Sham. Nous avons volontairement mis plus de souris ECS que SHAM. En effet, ce type de traitement chez la souris a été utilisé plusieurs fois dans le laboratoire et une perte de 10 % des animaux ECS en cours de cure a pu être observé à plusieurs reprises (mais pas systématiquement). Une souris du groupe ECS est décédée après la première séance d'ECS. La suite de l'expérimentation a donc été faite avec 11 souris ECS et 10 sham. A noter que les souris ont toutes présenté des crises tonico-cloniques d'au moins 15 secondes.

La Cyanine 3, couplée à l'Azide qui s'est fixée à l'EdU au cours de l'étape de révélation, peut être observé en fluorescence. Nous avons ainsi pu procéder au comptage des cellules positives à l'EdU au sein de la couche granulaire du gyrus denté de l'hippocampe, par analyse au microscope à épifluorescence (Figure 6). La quantification a été faite sur une coupe sur 4 (16 coupes sur les 64 obtenues par cerveau) sur l'ensemble de l'hippocampe. Pour chaque coupe, Nous avons quantifié le nombre de cellules EdU positive pour les deux hippocampes. Le nombre de cellules obtenu sur l'ensemble des

coupes analysées a été multiplié par deux pour représenter le nombre de cellules comptées par hippocampe.

Nous avons ainsi pu mettre en évidence une différence significative du nombre de cellules EdU positives entre le groupe ECS et le groupe SHAM dans la couche granulaire du gyrus denté et ce dès la fin de la cure ECS, soit après 10 séances de stimulation électroconvulsive. (ECS : médiane 676 ; min-max : 478-826 ; SHAM : médiane : 285 ; min-max:236-368 ; avec différence $p<0,001$.) (Figure 7).

Nous avons donc pu montrer qu'une cure d'ECS de deux semaines, dans le modèle de souris CORT, permet une augmentation du taux d'intégration/survie des neurones en cours de différenciation pendant de la cure.



<u>Figure 6:</u> Marquage des cellules à l'EdU (en rouge) dans la couche granulaire du gyrus denté de l'hippocampe.

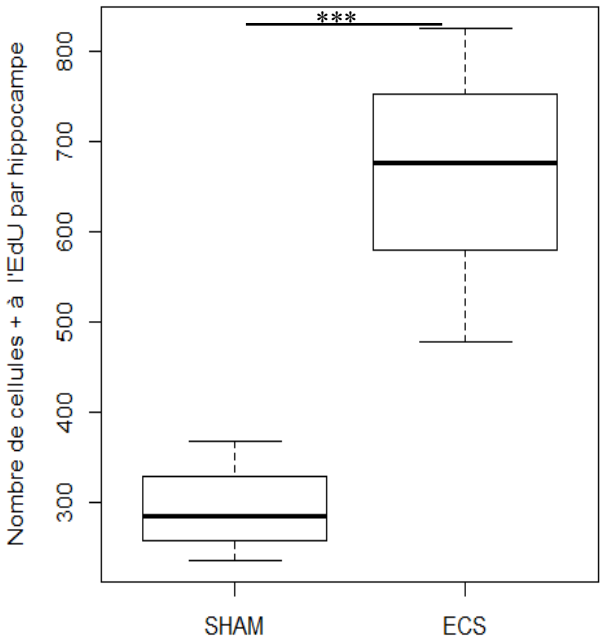


***Figure7** : Nombre de cellules positives à l'EdU par hippocampe, ECS n=11, SHAM n=10; *** : p < 0.001. Unilateral Mann-Whitney test.*

DISCUSSION

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux mécanismes biologiques qui sous-tendent l'efficacité des ECS dans un modèle animal de dépression, le modèle « CORT », et plus particulièrement sur l'effet des ECS sur les étapes tardives de la neurogenèse adulte hippocampique.

L'étude menée par Schloesser et al. en 2015, a permis d'établir une restauration comportementale du modèle CORT, modèle de dépression animal, grâce à la stimulation électroconvulsive. Cette même étude a également permis de mettre en évidence que cet effet comportemental passe par la neurogenèse adulte hippocampique. En effet, lorsque la neurogénèse adulte est inhibée, il n'y a plus de restauration des défauts comportementaux suite aux ECS répétées. En 2002, Hellsten et al. avait déjà travaillé sur le modèle CORT et mis en évidence que les ECS avaient un impact sur la neurogenèse adulte hippocampique et plus particulièrement sur la prolifération des progéniteurs alors même que le traitement par corticoïdes altère la neurogenèse. Schloesser et al. en 2015 confirme ces résultats. Cet effet a été étudié sur les cellules DCX+, soit au stade de neuroblastes et également sur la maturation de ces neuroblastes qui était augmentée dans le groupe ECS CORT par rapport au groupe SHAM CORT.

Notre protocole novateur qui consiste à marquer un pool de cellules deux semaines avant le début de la cure permet d'aller plus loin et de proposer que les ECS, en plus de leur effet sur la prolifération, semblent jouer un rôle important dans l'intégration et la survie des nouveaux neurones. Cette nouvelle hypothèse est compatible avec les effets bénéfiques immédiats des ECS/ECT observés chez l'animal mais également chez les patients

Comme décrit dans la partie « Matériel et Méthode », nous nous sommes efforcés

de rester le plus proche de la pratique des ECT chez l'Homme. Ainsi, nous avons réalisé une cure d'ECS de façon rapprochée. De plus cette cure a été faite alors que la population étudiée était toujours sous traitement CORT ce qui, d'une part est en accord avec l'induction d'un stress chronique qui perdure même pendant la cure et qui, d'autre part, renforce également les résultats obtenus concernant la neurogenèse, puisque l'on connaît les effets du traitement par corticoïdes sur la neurogenèse (David et al, 2009).

Nous avons étudié, par l'intermédiaire du marquage à l'EdU, une population âgée de 4 semaines, qui selon les stades de la neurogenèse (Figure 3) correspond au stade de nouveaux neurones. Leur survie dépend en partie de leur intégration au réseau neuronal sous-jacent. Nous avons montré une forte augmentation du nombre de nouveaux neurones au sein de la couche granulaire du gyrus denté de l'hippocampe après une cure ECS dans le modèle CORT. Les ECS améliorent donc la survie des nouveaux neurones de l'hippocampe produits spontanément. Ces résultats, associés à ceux de Schloesser et al. en 2015, permettent de mieux comprendre l'origine de l'amélioration comportementale du modèle CORT sous ECS. En effet nous pourrions émettre l'hypothèse que l'amélioration clinique rapide obtenue sous ECS pourrait être, au moins en partie, expliquée par la nette amélioration de la survie des nouveaux neurones générés spontanément.

Ces résultats s'intègrent dans un plus vaste projet de recherche où le même type d'expérience a été réalisé avec un autre modèle animal de pathologie psychiatrique : les souris invalidées pour le gène MAP6. Les souris MAP6KO sont viables et fertiles mais présentent de fortes anomalies anatomiques, neurophysiologiques et comportementales. En effet, le volume cérébral global est diminué, (Powel et al. 2007), il existe des altérations de certains systèmes de neurotransmissions dont les monoamines et le glutamate (Andrieux et al 2002, Fournet et al, 2010) mais aussi une neurogenèse adulte et une plasticité synaptique anormale (Andrieux et al 2002, Fournet et al, 2012). Les troubles comportementaux

observés chez ces souris peuvent s'apparenter aux symptômes dépressifs mais également à ceux observer dans la schizophrénie. Les défauts biologiques et de comportements de ces souris sont améliorés par des traitements comme les neuroleptiques ou les antidépresseurs (Fournet et al., 2012, Delotterie et al., 2010).

De récents résultats obtenus sur ce modèle sont particulièrement intéressants car ils rendent compte d'un certain nombre d'effet des ECS. Premièrement, il est observé une amélioration comportementale sur le test Forced Swim Test (FST) un jour après la fin de la cure, mais également sur le test Novelty Suppressed Feeding (NSF). Ces deux tests comportementaux confirment la restauration comportementale de ce type de souris après une cure d'ECS. Deuxièmement, l'analyse de la prolifération des progéniteurs neuronaux de l'hippocampe s'est également révélée significativement supérieure chez les MAP6KO traitées (Thèse de Jonckheere Julie, 2017), comme cela a pu être démontré dans d'autres modèles animaux, dont le modèle CORT (Hellsten 2002, Schloesser 2015). Enfin, il a également été étudié l'effet des ECS sur une population de nouveaux neurones générés spontanément avant la cure ECS. Les résultats ont montré une augmentation de 73% de nouveaux neurones dans la couche granulaire du gyrus denté dans le groupe ECS par rapport au groupe témoin (Jonckheere et al, 2018).

En réalisant la même expérience mais sur le modèle CORT, dans les mêmes conditions, et en retrouvant les mêmes résultats sur une population de nouveaux neurones préalablement présents nous renforçons fortement les résultats obtenus. Nous pouvons donc dire que les ECS induisent une augmentation forte de la survie des nouveaux neurones de l'hippocampe produits spontanément. Ainsi les ECS ont une action directe et rapide sur les neurones déjà présents. L'amélioration clinique précoce obtenue par les ECT/ECS pourrait être expliquée par la nette amélioration de la survie des nouveaux neurones générés spontanément.

Il est également intéressant de souligner que les résultats sont obtenus dans deux modèles différents, l'un « constitutif », le modèle MAP6KO résultant d'anomalies génétiques, et l'autre sur un modèle induit pharmacologiquement, le modèle CORT. Dès lors, même si l'étude présentée ici possède ses propres limites du fait du modèle CORT, qui n'est pas représentatif de l'ensemble des anomalies biologiques ou même de l'ensemble du phénotype dépressif, la reproductibilité des résultats dans différents modèles de principes différents tend à pallier cette limite. De plus, le modèle MAP6KO est un modèle de pathologie psychiatrique assez général puisque les anomalies observées peuvent correspondre à la fois à un modèle de dépression mais également à un modèle de schizophrénie. Reproduire les résultats sur un modèle plus spécifique de la dépression permet de cibler davantage les effets des ECS sur cette pathologie.

Une étude récente, menée par Ueno et al en 2019, propose une manipulation similaire à la nôtre chez des souris de phénotype sauvage. Le marquage du pool cellulaire était réalisé une semaine avant la cure ECS qui durait néanmoins 3 semaines pour un total de 11 séances. L'analyse des coupes hippocampiques fait état d'une augmentation significative de la survie ainsi qu'une augmentation de la maturation neuronale dans le groupe traité par ECS comparativement au groupe témoin. Ceci confirme une action des ECS sur les différentes étapes de la neurogenèse en cours au moment de la cure.

Nous avons donc émis l'hypothèse que l'amélioration comportementale observée de façon précoce, c'est-à-dire dès la fin de la cure, pourrait être liée à une augmentation de la survie des nouveaux neurones déjà présents et théoriquement fonctionnels. Afin de renforcer cette hypothèse, il serait intéressant, en se basant sur l'étude de Schloesser et al. (2015), de réaliser une expérience permettant de s'assurer de ce lien. Notamment en réalisant une cure ECS chez des souris dont la neurogenèse aurait été bloquée 3 semaines auparavant et pendant toute la durée de la cure. Nous serions donc en présence uniquement, en fin de cure, de nouveaux neurones, générés avant la cure et présents

pendant, sans génération suivante. Un test comportemental en fin de cure permettrait de déterminer si l'effet comportemental précoce dépend uniquement de cette population particulière ou non.

L'apport des résultats amenés par ce travail permet de mieux comprendre la cinétique d'action des ECS. Nous pouvons émettre l'hypothèse que l'administration de la cure d'ECS augmente la survie des neurones en cours d'intégration responsable de l'amélioration comportementale rapide de fin de cure. Les effets comportementaux plus tardifs, c'est à dire dans les semaines suivant la cure seraient eux, sous tendus par l'action des ECS sur la prolifération des progéniteurs (ces progéniteurs stimulés ayant besoin d'environ 4 semaines pour devenir des nouveaux neurones matures fonctionnels). Chez l'Homme, il est constaté qu'après une cure initiale d'ECT, les effets bénéfiques s'altèrent et ne persistent pas en l'absence d'une cure de consolidation (Frank E et al. 1990; Sackeim et al. 2001). Dans le modèle animal, nous constatons les mêmes observations (Jonckheereet al, 2018). Le traitement de consolidation permettrait, en stimulant régulièrement la neurogenèse, de maintenir les effets bénéfiques.

Les ECS et les antidépresseurs ont des cibles communes et notamment la neurogenèse adulte hippocampique. Mais ces deux traitements n'ont pas la même temporalité, puisqu'il faut plusieurs semaines pour juger de l'efficacité d'un traitement antidépresseur médicamenteux. Les ECT sont utilisées majoritairement pour leur action rapide nécessaire dans les situations d'urgence.

Une possible explication à cette différence de cinétique temporelle sur la symptomatologie de la dépression, pourrait être que chaque traitement va moduler la neurogenèse adulte différemment. Les ECS comme les antidépresseurs augmentent la prolifération des progéniteurs. Mais il semblerait que seules les ECS soient capables d'avoir une action directe sur l'intégration des nouveaux neurones (Jonckheere et al, 2018) permettant

d'obtenir l'effet bénéfique de manière rapide. Les antidépresseurs, quant à eux, ne pourraient agir que sur la prolifération, les progéniteurs nécessitant 4 semaines pour s'intégrer, les effets bénéfiques seraient beaucoup moins rapides (David et al. 2009)**.** Ceci revient à dire que l'amélioration fonctionnelle serait 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, qui a été montré avec le modèle MAP6KO).

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, dans les recherches sur le modèle MAP6KO, il a été démontré 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 effectués sur le rat 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 (Zhao et al., 2012). Ainsi, les ECS pourraient augmenter la complexité de l'arborisation dendritique et la densité synaptique, et induirait donc une amélioration des connexions que reçoivent les nouveaux neurones, permettant ainsi d'augmenter leur survie.

À une plus grande échelle, cette amélioration de survie et de connectivité, permettrait un meilleur dialogue entre différentes régions cérébrales. Il a d'ailleurs été observé que l'hippocampe ventral répondait davantage aux traitements antidépresseurs (médicamenteux et ECS) que l'hippocampe dorsal (Jonckheere Ruiz de Larrinaga, 2017). Or 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

(Fanselow and Dong, 2010). Chez l'Homme, les progrès de l'imagerie permettent de mieux comprendre les améliorations cliniques observées après une cure. Abbott et al., En 2014 ont montré que les ECT étaient capables de restaurer les anomalies de connectivité fonctionnelle observées chez les patients déprimés notamment au niveau de l'hippocampe. En effet, avant la cure ECT, les patients déprimés présentent une hypoconnectivité de l'hippocampe avec le cortex cingulaire antérieur et le cortex temporal et ce de façon bilatérale. Les ECT augmente la connectivité hippocampique, en corrélation avec l'amélioration clinique. L'augmentation de la connectivité n'est cependant pas corrélée avec le volume hippocampique. L'amélioration franche de la connectivité pourrait s'expliquer par une action sur la synaptogenèse de neurones déjà existants ce qui expliquerait également l'augmentation de volume du subuculus, zone principale des afférences de l'hippocampe avec des connections mono-synaptiques sous corticales (amygdale et noyau acumbens) et cortical (frontal, cingulaire et pariétal). Par la suite, d'autres études ont montré des modifications de la connectivité entre les régions limbiques et préfrontales parfois visibles dès une seule séance d'ECT (Cano et al, 2016). Cette technique de stimulation cérébrale agit également sur le Default Mode Network, réseau qui serait impliqué dans les ruminations et anormalement activé dans la dépression (Beall et al, 2012). Les améliorations cliniques observées sous ECT pourraient trouver leur source dans des modifications structurelles et fonctionnelles notamment de l'hippocampe qui semble jouer un rôle primordial dans la dépression et son traitement.

Les connexions de l'hippocampe 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 "neurogenèse 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 neurogenèse 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 neurogenèse hippocampale fonctionnelle (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011; Surget et al., 2011). Ces études ont également montré que l’inhibition de la neurogenèse 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 neurogenèse induisait une altération de son activité (Schloesser et al., 2009; Snyder et al., 2011). Ainsi la neurogenèse adulte serait nécessaire à la régulation de l’activité de l’axe HPA en condition de stress et pour la réponse aux antidépresseurs.

Pour conclure, l’étude des effets des ECS sur le modèle CORT a permis de répondre à un certain nombre de questions quant à l’efficacité des ECT.

Nous savons désormais que les effets sont multiples et se font à plusieurs niveaux. Les effets comportementaux précoces observés en clinique à la fois chez l’Homme et chez l’animal, qui jusque-là n’étaient pas expliqués, pourraient s’intégrer dans l’hypothèse d’une action précoce des ECS via leur action sur la survie et l’intégration de nouveaux-neurones générés spontanément.

THÈSE SOUTENUE PAR : Anne-Sophie NGUON

TITRE :

EFFET DE LA STIMULATION ELECTROCONVULSIVE SUR LA NEUROGENESE ADULTE HIPPOCAMPIQUE SUR LE MODELE ANIMAL DE DEPRESSION CORT.

CONCLUSION :

L'électroconvulsivothérapie utilisée particulièrement dans les cas de dépression sévère ou résistante, a montré son efficacité et sa rapidité d'action. La mise au point d'une technique modifiée pour l'animal, la stimulation electroconvulsive (ECS), permet aujourd'hui d'étudier les mécanismes biologiques à l'œuvre dans cette thérapeutique, en l'appliquant à des modèles animaux de dépression. Les ECS sont capables de stimuler la neurogenèse hippocampique et plus particulièrement la prolifération des progéniteurs neuronaux. Ces derniers n'étant cependant pas intégrés au réseau neuronal sous-jacent, ils ne peuvent soutenir les améliorations comportementales précoces observées en fin de cure. Mais au-delà d'un effet sur la prolifération des progéniteurs neuronaux, notre étude montre une action sur la survie des nouveaux neurones présents au moment de la cure et générés spontanément. Cette action directe sur une population fonctionnelle pourrait être à l'origine de l'amélioration comportementale précoce. Les résultats apportés permettent donc de mieux comprendre la cinétique d'action de la stimulation électro convulsive.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Grenoble, le : 17/4/15

Pour le Président
et par délégation
Le Doyen de Médecine
Pr. Patrice MORAND

LE DOYEN

Pr. Patrice MORAND

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Pr. Thierry BOUGEROL

ANNEXE

Elsevier Editorial System(tm) for BRAIN STIMULATION

Manuscript Draft

Manuscript Number: BRS-D-18-00313R1

Title: Short- and long-term efficacy of electroconvulsive stimulation in animal models of depression: The essential role of neuronal survival

Article Type: Original Article

Keywords: ECS - ECT - Adult Neurogenesis - MAP6 KO mice - Neuroplasticity - antidepressant

Corresponding Author: Dr. Sylvie Gory-Fauré,

Corresponding Author's Institution: INSERM U1216

First Author: Julie Jonckheere

Order of Authors: Julie Jonckheere; Jean-Christophe Deloulme; Gaelle Dall'Igna; Nicolas Chauliac; Albane Pelluet; Anne-Sophie Nguon; Celia Lentini; Jacques Brocard; Eric Denarier; Sabin Brugière; Yohann Couté; Christophe Heinrich; Christophe Porcher; Jerome Holtzmann; Annie Andrieux; Marie-Françoise Suaud-Chagny; Sylvie Gory-Fauré

Abstract: Background: Severe and medication-resistant psychiatric diseases, such as major depressive disorder, bipolar disorder or schizophrenia, can be effectively and rapidly treated by electroconvulsive therapy (ECT). Despite extensive long-standing clinical use, the neurobiological mechanisms underlying the curative action of ECT remain incompletely understood.
Objective: Unravel biological basis of electroconvulsive stimulation (ECS) efficacy, the animal equivalent of ECT.
Methods: Using MAP6 KO mouse, a genetic model that constitutively exhibits features relevant to some aspects of depression; we analyzed the behavioral and biological consequences of ECS treatment alone (10 stimulations over a 2-week period) and associated with a continuation protocol (2 stimulations per week during 5 weeks).
Results: ECS treatment, had a beneficial effect on constitutive behavioral defects. We showed that behavioral improvement is associated with a strong increase in the survival and integration of neurons born before ECS treatment. Retroviral infection revealed the larger number of integrated neurons to exhibit increased dendritic complexity and spine density, as well as remodeled synapses. Furthermore, our results show that ECS triggers a cortical increase in synaptogenesis. A sustained newborn neuron survival rate, induced by ECS treatment, is associated with the behavioral improvement, but relapse occurred 40 days after completing the ECS treatment. However, a 5-week continuation protocol following the initial ECS treatment led to persistent improvement of behavior correlated with sustained rate survival of newborn neurons.
Conclusion: Altogether, these results reveal that increased synaptic connectivity and extended neuronal survival are key to the short and long-term efficacy of ECT.

Short- and long-term efficacy of electroconvulsive stimulation in animal models of depression: The essential role of neuronal survival

Abbreviated title: ECT drives neuronal survival

Julie Jonckheere[1], Jean-Christophe Deloulme[1], Gaelle Dall'Igna[1,2], Nicolas Chauliac[1,2] Albane Pelluet[1,2], Anne-Sophie Nguon[1,2], Celia Lentini[1], Jacques Brocard[1], Eric Denarier[1,3], Sabine Brugière[4], Yohann Couté[4], Christophe Heinrich[1], Christophe Porcher[5], Jerome Holtzmann[1,2], Annie Andrieux[1,3*], Marie-Françoise Suaud-Chagny[6,7], and Sylvie Gory-Fauré[1*]

[1] Univ. Grenoble Alpes, Inserm U1216, GIN, 38000 Grenoble, France

[2] Univ. Grenoble Alpes, CHU Grenoble Alpes, Service Hospitalo Universitaire de Psychiatrie, 38000 Grenoble, France

[3] Univ. Grenoble Alpes, CEA, Inserm U1216, BIG-GPC, 38000 Grenoble, France

[4] Univ. Grenoble Alpes, CEA, Inserm, BIG-BGE, 38000 Grenoble, France

[5] Univ. Aix-Marseille, INSERM U1249, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, Parc Scientifique de Luminy, 13273 Marseille, France

[6] INSERM, U1028; CNRS, UMR5292; Lyon Neuroscience Research Center, Psychiatric Disorders: from Resistance to Response Team, Lyon, F-69000, France

[7] University Lyon 1, Villeurbanne, F-69000, France

*Corresponding authors: SGF (sylvie.gory-faure@univ-grenoble-alpes.fr) and AA (annie.andrieux@univ-grenoble-alpes.fr). Grenoble Institut des Neurosciences, Université Grenoble Alpes - Site Santé La Tronche BP170 38042 Grenoble Cedex 9, France.

Acknowledgments

The authors are grateful to the discovery platform and informatics group at EDyP and from the Photonic Microscopy Facility, Grenoble (PIC-GIN) for technical support. We also thank S. Andrieu, M. Lapierre, L. Romian, F. Mehr, and F. Rimet for animal care, and C. Corrao, F. Vossier, and C. Paoli for technical assistance. This work was supported by INSERM, CEA, University Grenoble Alpes and in part by awards from the French National Research Agency to AA (2010-Blanc-120201 CBioS) and from the Proteomics French Infrastructure (ANR-10-INBS-08-01 grant) and Labex GRAL (ANR-10-LABX-49-01) to YC. JJ's PhD stipend was awarded by the Région Rhône-Alpes, Cluster HVN-ARC2.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no competing interests.

Abstract

Background: Severe and medication-resistant psychiatric diseases, such as major depressive disorder, bipolar disorder or schizophrenia, can be effectively and rapidly treated by electroconvulsive therapy (ECT). Despite extensive long-standing clinical use, the neurobiological mechanisms underlying the curative action of ECT remain incompletely understood.

Objective: Unravel biological basis of electroconvulsive stimulation (ECS) efficacy, the animal equivalent of ECT.

Methods: Using MAP6 KO mouse, a genetic model that constitutively exhibits features relevant to some aspects of depression; we analyzed the behavioral and biological consequences of ECS treatment alone (10 stimulations over a 2-week period) and associated with a continuation protocol (2 stimulations per week for 5 weeks).

Results: ECS treatment had a beneficial effect on constitutive behavioral defects. We showed that behavioral improvement is associated with a strong increase in the survival and integration of neurons born before ECS treatment. Retroviral infection revealed the larger number of integrated neurons to exhibit increased dendritic complexity and spine density, as well as remodeled synapses. Furthermore, our results show that ECS triggers a cortical increase in synaptogenesis. A sustained newborn neuron survival rate, induced by ECS treatment, is associated with the behavioral improvement, but relapse occurred 40 days after completing the ECS treatment. However, a 5-week continuation protocol following the initial ECS treatment led to persistent improvement of behavior correlated with sustained rate survival of newborn neurons.

Conclusion: Altogether, these results reveal that increased synaptic connectivity and extended neuronal survival are key to the short and long-term efficacy of ECS.

Key words (max 6) : ECS – ECT – Adult Neurogenesis - MAP6 KO mice – Neuroplasticity - antidepressant

Introduction

Electroconvulsive Therapy (ECT) is a very effective treatment for drug-resistant major depressive disorder and bipolar disorder, as well as acute resistant schizophrenia [1]. Multiple mechanisms modifying the brain's macro- and micro-environment have been proposed to support the therapeutic effect of ECT, including changes in neurotransmission, gene expression, functional connectivity, or even modifications to the neuroendocrine and immune systems [2]. These theories of how ECT works were mainly developed based on results obtained from electroconvulsive stimulation (ECS), the animal equivalent of ECT [3]. However, much of the data remains inconclusive as the vast majority of studies were performed with "naive" animals in which the biological effects induced by ECS might not be due to relief of underlying disease and did not correlate with behavioral improvements over time. Notably, some analyses of the effect of ECS on animal models developed to assess antidepressant activity used acutely-induced behavioral deficits or animal models developed to study stress and anxiety such as the CORT or Learned Helplessness rat models [4-7]. Extensive literature mining clearly shows that we still lack evidence from animal models exhibiting hallmark constitutive behavioral and biological characteristics of severe psychiatric disorders. In this context, we developed a translational approach with MAP6 KO mice (also known as STOP KO mice). These animals constitutively exhibit behavioral and biological features relevant to some aspects of major depressive disorder, such as social withdrawal [8-10], anhedonia [11], and reduced motivation [11-13]. Biological defects include diminished neurogenesis [13], impaired synaptic plasticity in the hippocampus [10, 14], and abnormal excitatory and monoaminergic transmissions [10, 13, 15, 16].

The neurotrophic theory for ECT/ECS suggests that its effect is linked to its capacity to stimulate hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and growth factor expression [17-21]. With regard to neurogenesis, current evidence clearly indicates that repeated ECS increases hippocampal progenitor proliferation [17-19, 22], but these new progenitors have yet to be directly linked to behavioral improvement. Here, we scheduled ECS treatment to mimic clinical ECT protocols in

humans, our results demonstrate that its beneficial effect on behavioral traits was linked to increased integration of neurons present before ECS treatment in MAP6 KO mice. In addition, ECS treatment induced an overall increase in neuronal connectivity. Finally, we demonstrate that the behavioral and biological effects of ECS can be sustained for several weeks by applying a continuation ECS protocol following the initial ECS treatment.

Materials & Methods

Protocol design

Initially, the effect of ECS treatment on the behavioral deficits observed in MAP6 KO mice was assayed (Fig1). Next, the biological effects of ECS treatment on neuronal progenitor proliferation and neurotrophic factors levels (Fig2) and on new-born neurons integration and connectivity (Fig3) were investigated. Subsequently, the relationship between behavioral improvement and survival of newborn neurons was investigated (Fig 4), and finally the impact of a consolidation protocol on these two last parameters was assayed (Fig 5).

Animals

MAP6 KO model: Homogeneous inbred C57BL6/129SvPas-F1 MAP6 KO and MAP6 KO/Thy1-eYFP-H mice were obtained as previously described [23]. All experiments were performed using 2-5-month-old males and mice were carefully matched for age across treatment groups. Researchers performing all procedures, apart from ECS treatment, were blinded to the animal's treatment group. The study protocol (APAFIS number 8303-2016060110523424v4) was approved by the local animal welfare committee (Comité Local GIN, C2EA-04) and complied with EU guidelines (directive 2010/63/EU). Every precaution was taken to minimize stress and the number of animals used in each experiment.

CORT model: Corticosterone (Sigma Aldrich) was dissolved in 0.45% hydroxypropyl-β-cyclodextrin (Sigma Aldrich). CORT (35 µg/ml/d) was administered to C57Bl6 male mice *ad libitum* via the drinking water as described in [21].

Electroconvulsive Seizures (ECS)

Initial ECS treatment consisted of 10 ECS sessions delivered using an Ugo Basile generator (model 57800) over a 12-day period (D1-5 and D8-12). Mice were anesthetized using isoflurane prior to ECS delivery via bilateral ear-clip electrodes. Titration experiments were performed with MAP6 KO mice to determine the seizure threshold (seizures lasting more than 10 s). The duration of stimulation was then doubled to obtain the following parameters: frequency 120 Hz, pulse width 0.5 ms, total stimulation duration 2 s, current 20 mA. Continuation ECS treatment consisted of 10 ECS sessions over a 5-week period (2 ECS sessions/week) after the initial ECS treatment. Sham-treated animals were handled similarly, but no current was delivered.

Behavioral tests

Forced swimming test (FST)

The FST [24] was performed in a vertical glass cylinder (h=30 cm; d=15 cm) containing 20 cm of water maintained at 24+/-1 °C. The total duration of immobility and climbing were recorded for 6 min. An animal was considered immobile when it floated passively, performing only slow movements to keep its head above water. Climbing was defined as upward-directed movements of the forepaws along the side of the container.

Novelty suppressed feeding test (NSF)

The NSF test is an anxiety-based conflict test where the motivation to eat competes with fear of a brightly lit area [25, 26]. The NSF test was performed for 15 min. Briefly, animals had no access to food in their home cage for 20 h prior to performing the test, for the test, a single food pellet was placed on a brightly-lit white paper platform placed in the center of a plastic box (L37 x l57 x h20

cm) where the floor was covered with approximately 2 cm of bedding. The animal was placed in a corner of the box and the latency to eat was recorded.

Open field test

Mice were placed in an open field (50 X 50 cm) and motor activity was automatically recorded for 20 min.

BrdU, EdU and DCX staining

To study neuronal proliferation, mice were injected with 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) (100 mg/kg) on D3 following ECS treatment (2 injections spaced 6 h apart) and on D4 (1 injection). Animals were sacrificed 2 h after the final BrdU injection. To study post-ECS cell survival, mice were injected with BrdU or EdU (5-ethynyl-2'-deoxyuridine) (50 mg/kg) once daily for 4 days, 2 weeks before starting the ECS treatment. To study cell survival after the continuation protocol, mice were injected with EdU (50 mg/kg) once daily for 4 days, 2 weeks before starting the initial ECS treatment, and with BrdU (50 mg/kg) once daily for the last 4 days of initial treatment. Mice were sacrificed by transcardial perfusion with 4% paraformaldehyde, and brains were post-fixed for 15 h cryoprotected in sucrose, before slicing into coronal free-floating sections (40 µm). Immunochemistry to reveal BrdU and DCX was performed as previously described [13] with anti-BrdU (1:2000 dilution of rat AbC117-7513, Abcys) and anti-DCX antibodies (guinea-pig at 1:10000; AB2253, Millipore). For EdU staining, free-floating sections permeabilized for 90 min (in PBS 0.2% gelatin, 0.5% Triton X100, 0.1% saponin). EdU-labeled cells were visualized following a 15-min click reaction (5% Tris 2 M pH 7, 80.9% H_2O, 4% $CuSO_4$ 100 mM, 0.1% Cyanine 3 Azide 1 mM, 10% Ascorbic acid 1 M). Sections were viewed by microscopy (Zeiss axioskop). BrdU- or EdU-labeled nuclei were counted within the dentate gyrus every 4 sections throughout the rostro-caudal extent of the hippocampus from bregma -1.34 to -3.38. As anti-BrdU antibodies also recognized EdU-positive cells, the EdU cell count was subtracted from the BrdU cell count to determine the real number of BrdU-positive cells. DCX-labeled cells were counted within the dentate gyrus on 8 sections through the rostro-caudal extent of the hippocampus.

BDNF assays

Mice were euthanized by cervical dislocation. Bilateral hippocampi were harvested and rapidly dissected on ice, frozen in liquid nitrogen and stored at – 80°C.

For real-time RT-qPCR, RNA was isolated using Mini RNeasy kit (Qiagen), quantified based on absorbance at 260 nm (NanoPhotometer, IMPLEN), and 1 µg RNA was converted to cDNA using the QuantiTect Reverse Transcription kit (Qiagen) according to the manufacturer's instructions. PCR was performed on a LightCycler 480 SYBR Green I Master (Roche Applied Science) with 1 µL cDNA and 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) according to the manufacturer's instructions. Relative mRNA levels were calculated using LC480 software, after normalizing for GAPDH levels. PCR was performed in triplicate.

BDNF proteins were analyzed in brain homogenate by ELISA (BDNF E_{max} ImmunoAssay System, Promega) according to the manufacturer's protocol. BDNF levels were normalized relative to total protein content, as determined by BCA assay (Thermo Scientific).

Analyzing newborn neurons using retroviruses

Virus injection

The viral solution (10^8 pfu/mL) was prepared with the retroviral vector (pCAG-IRES-GFP) and HEK 293T as a packaging cell line. Viral particles were collected by ultra-speed centrifugation. Four weeks before the end of ECS treatment, mice were anesthetized with chloral hydrate solution (400 mg/kg) and stereotaxic surgery was performed to deliver the virus solution (500 nL) to the dentate gyrus in the hippocampus at a rate of 0.4 µL/min. The injection site for adult mice was determined based on previous studies, using the position relative to the bregma as reference: anteroposterior: -2.1 mm; lateral: +/-1.42 mm; ventral: -1.9 mm (from skull).

GFP immunolabeling

GFP immunolabeling was performed on free-floating coronal sections after blocking and permeabilization for 1 h with PBS, 0.1% Tween 20, 0.5% Triton X100, and 5% normal goat serum. Sections were incubated overnight at 4 °C with primary rabbit anti-GFP antibody (1:1000 dilution of #11122, Invitrogen). After washing with PBS, 0.1% Tween 20, sections were incubated for 1 h with Alexa488-coupled secondary anti-rabbit antibody (1:1000; Jackson Laboratories).

Sholl analysis

Image stacks showing individual neurons were acquired at 20x magnification (Zeiss LSM 710 confocal microscope). Image stacks were enhanced with a DoG filter and segmented. Single neurons were recovered using the "Find connected region" Fiji software plugin [27]. The resulting stack was used for Sholl analysis [28] with a starting radius and step size of 5 µm.

Spine analysis

Stacks of serial optical sections were produced for each neuron (at 63x magnification) and 3D reconstructions of dendritic arbors and spines were generated (NeuronStudio software version 0.9.92) to measure spine density [29]. Images were acquired on the distal part of the dendritic arbors of GFP-labeled newborn neurons.

[12, 13]Dendritic spine quantification

Spine analysis was performed in the motor cortex of the MAP6 KO Thy1-eYFP-H mouse line. Some neurons in this area express the YFP transgene, allowing the detection of spines for individual neurons. Stacks of serial optical sections were produced for each neuron [29] and spine density was quantified using NeuronStudio software.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed using Prism 5.0 software (GraphPad Software) or XLSTAT 2016 (Microsoft). Bilateral non-parametric Mann-Whitney U tests were used to compare WT vs. KO; KO Sham vs. KO ECS comparisons were performed using unilateral Mann-Whitney U tests

since only improvement of the condition was sought. Choice of this type of test was justified based on previous and present results obtained with these MAP6 KO versus wild type animals [12, 13].

Results

MAP6 KO mice exhibit several behavioral and biological defects reminiscent of major depressive episodes, including social withdrawal [9, 10, 14], anhedonia and reduced motivation [11-13]. Biological defects include diminished neurogenesis [13], impaired plasticity [10, 14] and abnormal excitatory and monoaminergic transmissions [10, 13, 15, 16]. Here, we analyzed the impact of 10 sessions of ECS treatment over 2 weeks on MAP6 KO mice, in terms of behavioral, anatomic and physiological parameters (Figure 1A).

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

The effect of ECS treatment on despair behavior in MAP6 KO mice was analyzed using the FST, a standardized protocol to assess despair behavior in an inescapable aversive situation, based on immobility as an indicator of resignation and climbing as an indicator of motivation. MAP6 KO mice have been reported to display greater immobility and decreased climbing attempts compared to WT mice [12, 14]. On day-1 (D1) after the end of treatment, ECS-treated MAP6 KO mice displayed decreased despair behavior compared to sham-treated mice, with a 34.3% reduction in immobility time (189 ± 26.8 s for Sham- (n=10) vs. 114 ± 18.7 s for ECS-treated mice (n=11), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0138, Figure 1B), and increased motivation, with a 78.6% increase in time spent climbing (31 ± 11 s for Sham- (n=10) vs. 77 ± 20.3 s for ECS-treated mice (n=11), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0166, Figure 1B).

In parallel, we monitored the depressive/anxiety-like status of MAP6 KO mice using the NSF test, where the animal's motivation to eat competes with the aversive signal of bright illumination; latency to eat is measured. MAP6 KO mice displayed a significant higher latency than WT mice (235 ± 19 s for WT mice (n=7) vs. 171 ± 14.5 s for MAP6 KO mice (n=9), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0131, Figure 1C). Interestingly, at D4 after the end of the treatment, the latency to eat for ECS-treated MAP6 KO mice was 226 ± 51.5 s, whereas sham-treated MAP6 KO mice had a latency of 413 ± 57 s (for Sham-and ECS-treated mice (n= 13); unilateral Mann-Whitney test,

p=0.0289, Figure 1D). The difference between the values observed after sham treatment (413 ± 57 s) or without treatment (235 ± 19 s) was probably due to stress induced by handling animals over the two weeks of the protocol.

We checked the effect of ECS on locomotor activity, since it could influence performance in FST and NSF tests. Locomotor activity was monitored in an open-field on D3 after ECS treatment for 20 minutes; no significant difference between Sham- and ECS-treated mice was observed (8514±1045 cm for Sham- (n=8) vs. 7605±818 cm for ECS treated mice (n=10)).

Altogether, these behavioral tests clearly demonstrated a considerable beneficial effect of ECS treatment on constitutive depressive/anxiety-like behavior in MAP6 KO mice.

ECS treatment does not alter proteomic profile

ECS treatment has been suggested to activate specific neuronal pathways. We therefore analyzed the proteomic content of total brain and hippocampal samples from MAP6 KO mice treated by ECS or sham protocols (Supplementary data). The results did not confirm this hypothesis: among more than 2,000 different proteins identified, only three were significantly differentially expressed (2-fold change) between ECS and sham conditions (Supplementary data). Thus, ECS treatment induced no major detectable changes in the brain proteome and no specific biological pathway is activated/inhibited following ECS treatment. However, minor modifications to expression levels for a large number of proteins may nevertheless significantly alter brain activity. Based on these results, and in line with the available evidence, we therefore focused our study on the neurogenic effects of ECT.

ECS treatment enhances proliferation of adult hippocampal neuronal progenitors

ECS treatment has been linked to enhanced proliferation of neuronal progenitors in the hippocampus in both rodent and non-human primate models [17, 18, 22]. We therefore analyzed progenitor proliferation in MAP6 KO mice after ECS/sham treatment.

BrdU was used to label proliferating cells (Figure 2A). The number of BrdU-positive cells in the hippocampus was measured at D4 after completing treatment (Figure 2B). ECS-treated mice had 46% more BrdU-positive cells than sham-treated mice (1267 ± 143 for Sham (n=4) vs. 2150 ± 272 for ECS-treated mice (n=5), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0278; Figure 2C). Subsequently, we examined whether ECS also triggered progenitor differentiation to form neuroblasts/immature neurons. DCX immunolabeling was performed at D4 after completing treatment to identify neuroblasts/immature neurons (Figure 2D). ECS treatment resulted in a 127% increase in DCX-positive hippocampal cells compared to sham treatment (5080 ± 753 for Sham (n=8) vs. 11539 ± 776 for ECS-treated mice (n=8), unilateral Mann-Whitney test, $p < 0.0001$; Figure 2E). These results indicate that ECS enhances the proliferation of hippocampal progenitors and triggers their differentiation to form neuroblasts/immature neurons.

ECS treatment increases BDNF expression

BDNF has been shown to support adult hippocampal neurogenesis [30], we thus examined whether hippocampal levels of BDNF were modified after administering ECS. On D4 following ECS treatment, hippocampal BDNF mRNA and protein levels, were 108.9% and 66.3% higher, respectively, in ECS-treated MAP6 KO mice compared to sham-treated mice (1.23 ± 0.32 for sham (n=7) vs. 2.57 ± 0.23 for ECS-treated mice (n=7), arbitrary units, unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0087; Figure 2F and 42.65 ± 1.49 for sham (n=12) vs. 67.48 ± 3.36 for ECS-treated mice (n=10), pg/mg total proteins. unilateral Mann-Whitney test, p= < 0.0001; Figure 2G). Thus, in MAP6 KO mice, ECS enhances the expression of the trophic factor, BDNF.

ECS treatment enhances survival of hippocampal neurons born before treatment and favors their maturation and integration

The proliferation of neuronal progenitors induced by ECS treatment cannot account for the rapid behavioral improvement observed from D1 after treatment (Figure 1B, 1D) as, in mice, progenitors

would require 4 weeks to differentiate before actively contributing to neuronal functions. We thus examined how ECS treatment affected the integration of the spontaneously born neuroblasts/immature neurons into the preexisting neuronal network. To do so, spontaneously proliferating cells were labeled with BrdU 4 weeks before the end of ECS treatment. Following ECS treatment, the number of BrdU-positive cells, corresponding to the set of newborn cells which had reached maturity, was measured (timeline shown Figure 3A). ECS-treated MAP6 KO mice had 73% more BrdU-positive cells in their hippocampus than sham-treated mice (498 ± 69 for Sham (n=8) vs. 828 ± 96 for ECS-treated mice (n=8), unilateral Mann-Whitney test, p=0.0076; Figure 3B). The nature of proliferating cells, was determined 3 days after ECS treatment using the neuronal marker NeuN. In ECS-treated mice, 92±0.9% of BrdU-positive cells were NeuN-positive in the granular zone (out of 301 cells counted from four mice). ECS therefore strongly enhances the survival and integration of spontaneously produced newborn neurons in the hippocampus of MAP6 KO mice.

To assay if enhanced survival of hippocampal neurons might be a general consequence of ECS treatment, we analyzed neuron survival in cortisone (CORT)-induced depression, a neuroendocrine depression model known to positively respond to ECS treatment [21]. CORT was administered to male wild-type mice by addition to drinking water. Proliferating cells were labeled with EdU, 4 weeks before the end of ECS treatment (timeline shown Figure 3C). Following treatment, we determined the number of hippocampal EdU-positive cells, corresponding to the set of newborn cells which had reached maturity. ECS-treated CORT mice had 125% more EdU-positive cells in their hippocampus than sham-treated mice (293 ± 13 for Sham (n=10) vs. 661 ± 34 for ECS-treated mice (n=10), unilateral Mann-Whitney test, $p < 0.0001$,; Figure 3D). ECS therefore strongly enhances the survival and integration of spontaneously produced newborn neurons in the hippocampus of CORT treated mice, similar to its effect in MAP6 KO mice.

he maturation and integration status of these newborn neurons was investigated in MAP6 KO mice, using a retrovirus (pCAG-IRES-GFP virus) to identify cells in the dentate gyrus; the timeline was

as shown in Figure 3A (virus injection replacing BrdU injection). GFP was visualized on D4 after ECS treatment, i.e., four weeks after virus injection, to allow morphological identification of newborn neurons, including their dendritic organization and complexity (Figure 3E). Sholl analysis of neuronal dendritic arborization indicated increased dendritic complexity in ECS-treated animals, with a 30% increase in the number of dendritic intersections (2.58 ± 0.12 for Sham (n=11) vs. 3.38 ± 0.2 for ECS-treated mice (n=8), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0022, Figure 3F). Dendritic spine density was also increased (+22%) in the distal part of newborn neurons after ECS treatment (1.35±0.17 for Sham (n=10) vs. 1.66±0.09 for ECS-treated mice (n=19) spines/µm, Unilateral Mann-Whitney test, p=0.0284, Figure 3G). In addition, we examined the three main morphologies for spines: thin, stubby and mushroom spines (Figure 3H). No difference in density was observed for thin and stubby spines between treatments, however the density of mature mushroom-like spines was significantly higher after ECS treatment compared to sham treatment (0.07±0.01 for Sham (n=10) vs. (0.17±0.01) for ECS-treated mice (n=19) spines/µm; unilateral Mann-Whitney test, p< 0.0001, Figure 3H). These results suggest that ECS treatment boosts dendritic arborization and mature spine density, enhancing the connectivity of neurons already present before ECS treatment.

Reduced dendritic spine density has been reported in animal models of depression [31, 32]. We also observed reduced spine density (compared to WT mice) in MAP6 KO mice cross-bred with *Thy1*-eYFP-H transgenic mice to visualize dendritic spines *in vivo* in layer 5 cortical neurons (Peris 2018, submitted). Using these animals, we assessed how ECS treatment affects spine density in mature cortical neurons (Figure 3I). ECS treatment increased spine density by 29% compared to sham treatment (1.07±0.06 for Sham (n=17) vs. 1.36±0.09 for ECS-treated mice (n=26) spines/µm, unilateral Mann-Whitney test, p=0.0303, Figure 3J), indicating that ECS treatment induces a general increase in dendritic spine density.

Behavioral improvement of MAP6 KO mice was associated with survival of newborn neurons

As our animal model exhibited constitutive symptoms which were alleviated just after ECS treatment, we evaluated long-term effects including possible relapse, as observed in humans treated by ECT. The NSF test was applied at several time points following treatment (Figure 4A). The latency to eat in ECS-treated mice remained lower than in sham-treated mice at D10 (-69.9%) and D17 (-68.2%) post-treatment (D10, 458 ± 81 s for Sham (n=13) vs. 138 ± 26 s for ECS-treated mice (n=13), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0005; D17, 493 ± 103 s for Sham (n=7) versus 114 ± 55 s for ECS-treated mice (n=7), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0055, Figure 4B). In contrast, at D33 post-treatment, the differences between the two groups were no longer significant (Figure 4B). Thus, ECS treatment alleviated the depressive/anxiety-like state of MAP6 KO mice for at least 17 days after treatment.

We next examined the survival of newborn neurons over time (Figure 4A). The number of surviving newborn neurons was significantly increased in ECS-treated mice compared to sham-treated mice at D11 (+70%), D18 (+108%) and D40 (+44%) post-treatment (D11, 374 ± 72 for sham (n=7) vs. 635 ± 16 for ECS-treated mice (n=6), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0175; D18, 239± 27 for sham (n=7) vs. 498 ± 45 for ECS-treated mice (n=7), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0006; D40, 114 ± 10 for sham (n=5) vs. 164 ± 10 for ECS-treated mice (n=6), unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0273, Figure 4C). Interestingly, there were fewer positive cells in the ECS-treated group at D40 (164 ± 10 neurons) than in the sham-treated group at D11 (374±72 neurons). This result might explain the behavioral relapse observed at D33 (Figure 4B). The kinetics of newborn neuron death appeared similar after ECS or sham treatment.

We analyzed the relationship between behavioral ability (latency to eat in the NSF test) and neuron survival rates, using the values obtained for each mouse in Fig 4B. Behavioral improvement was found to significantly correlate with the survival of newborn neurons (R^2 = 0.18 and p=0.0077), a result which supports a possible causal link between behavioral and neurobiological effects of ECS.

ECS continuation protocol linked to persistent behavioral and biological improvements

To prevent the relapse observed after ECS treatment, we set up a continuation protocol and examined its effect on behavior and neuronal survival. Following the initial ECS treatment, mice were treated by a continuation protocol for 5 weeks, applying two active ECS sessions (ECS/ECS) or two sham treatments (ECS/sham) per week (Figure 5A). The NSF test was used 4 days after completing the protocol. The ECS/ECS protocol maintained the behavioral improvement (latency to eat 126±25 s, n=9) better than the ECS/sham treatment (latency 387±88 s, n=10) (unilateral Mann-Whitney test, p= 0.011, Figure 5B). Notably, the latency to eat in MAP6 KO mice after ECS/ECS treatment was similar to that exhibited by ECS-treated mice at D10 and D17 (Figure 4B), whereas after ECS/sham treatment, the latency to eat was in the same range as that measured for ECS-treated mice at D33 (Figure 4B).

To determine the effect of the continuation protocol on the survival of newborn neurons, two pools of proliferating neurons were labeled: neurons spontaneous proliferating 4 weeks before the end of the initial ECS treatment (EdU injection), and neurons proliferating at the end of the initial ECS treatment (BrdU) (timeline shown in Figure 5A). On D40 after completing the initial ECS treatment, the number of EdU and BrdU cells in ECS/ECS- and ECS/sham-treated mice was determined for the whole hippocampus. The number of EdU-positive cells (neurons spontaneously born 9 weeks before counting) was not significantly different between ECS/ECS- and ECS/sham-treated mice (Figure 5C). In contrast, the number of BrdU-positive cells (neurons born 5 weeks before counting) was significantly higher in ECS/ECS-treated mice (1917±393 neurons, n=9) than in ECS/sham-treated mice (983±205 neurons, n=9) (unilateral Mann-Whitney test, p= 0.0252, Figure 5D).

These results indicate that the ECS continuation protocol promoted the survival of newborn neurons produced during the initial ECS treatment, possibly enabling the persistence of behavioral improvement.

Discussion

In this study we used MAP6 KO mice, an animal model with constitutive hallmarks of psychiatric-like disorders to analyze the behavioral and long-range biological effects of ECS.

Proteomics analysis of brain or hippocampal protein content revealed no major detectable changes after ECS treatment. It might be of interest in future studies to determine the proteomic profile for more specific compartments, such as the synaptic compartment by working on synaptosomal preparations. By applying sub-fractioning it will be possible to analyze more than the tip of the iceberg and to quantify any changes in expression levels for non-major proteins. As no relevant specific biological pathway was identified by our proteomics analysis, we focused our study on the neurogenic effects of ECS. Indeed, adult hippocampal neurogenesis is known to be reduced in depressive conditions, both in animal models and in humans [25, 33, 34], and experiments involving ablation of neuronal progenitors indicate that active neurogenesis is necessary for ECS to be effective [21, 25].

Proliferation of neuronal progenitors is reported to be increased after ECS treatment in several animal models of depression [21, 35], and ECS boosted their proliferation in our model. However, this proliferation increase might not be fully responsible for the rapid efficacy of ECS. Indeed, our results clearly demonstrate, for the first time, that ECS treatment efficiency most probably relies also on a direct and rapid increase in survival of hippocampal neurons, associated with an overall increase in synaptogenesis and synapse remodeling. Post-treatment, the newly-integrated neurons exhibit greater dendritic complexity and larger numbers of mushroom-type active dendritic spines, which allow better integration in existing neuronal networks. Based on these findings, we hypothesize that ECS enhances hippocampal and cortical neuronal connectivity and functions. BDNF expression was also increased following ECS. Although the cellular pathways for adult hippocampal neurogenesis are currently not fully deciphered, a prominent role for BDNF and its signaling pathway may boost the integration and survival of newborn neurons, with a pivotal role in regulating spine density [36, 37]. Moreover, like Zhao et al.[38], who showed increased spine

density in mature hippocampal neurons in rats following ECS, dendritic spine density was also increased in mature cortical neurons in our model animals. Altogether, these results suggest a general increase in overall glutamatergic neuronal connectivity. Alterations to the Hypothalamic Pituitary Adrenal (HPA) axis have been reported in psychiatric disorders, in particular, it is known to be hyperactive in depressive conditions [39]. The HPA axis is negatively controlled by the hippocampus, thus the increased efficacy of hippocampal glutamatergic neurotransmission following ECS could tone down the hyperactivation of the HPA axis, producing improvements in depressive/anxiety symptoms. ECS-induced neurogenesis in brain areas involved in psychiatric disorders such as frontal areas and striatum may also account for the behavioral improvement observed [40, 41].

In our model, like in humans [42, 43], a behavioral relapse was observed several weeks after completing ECS treatment. Interestingly, this relapse was associated with the loss of recently-integrated neurons. Thus, ECS treatment does not increase the longevity of neurons. The behavioral relapse occurs even if the progenitor pool was enhanced during ECS treatment, indicating a failure to further integrate. In an attempt to maintain a higher integration rate for newborn neurons, we applied a continuation protocol similar to the highly beneficial protocol used in humans [43, 44]. Two stimulations per week for 5 weeks following the initial ECS treatment were found to prevent relapse, with sustained survival of newborn neurons and associated behavioral improvements. Overall, our data are compatible with the hypothesis that the initial ECS treatment favors proliferation of progenitors and promotes the survival of neurons born before ECS treatment, while continuation protocols allow the survival of neurons born during the initial ECS treatment.

These new findings allow us to propose a timeline for ECS action. The beneficial effect observed immediately after ECS treatment may mainly be due to increased survival and integration of spontaneously produced newborn neurons combined with a rapid increase in overall neuronal connectivity. The advantage of applying a continuation protocol is clear as behavioral defects are persistently alleviated, probably thanks to continued integration of new neurons. Compared to

pharmacological treatments, including antidepressants and antipsychotics known to enhance proliferation [45-49], the more rapid effect of ECS is probably due to the enhanced integration of neurons, which is not triggered by drug treatments. The enhanced neuronal survival we observed in the neuroendocrine CORT model [6, 7] largely favors this hypothesis.

Our model should help to optimize the stimulation schedule over time with the objective of minimizing the number of sessions while maintaining an optimal level of behavioral improvement. In particular it will be of interest to determine if the continuation treatment alone, without the acute treatment, is sufficient to obtain sustained behavioral effects.

Translation of the present results to humans is hampered by several limitations. The method by which ECS is administered in mice may produce biological and behavioral effects that are quite distinct from those induced by human ECT as current distribution might differ due to electrode placement and duration/intensity of stimulation. Also, in contrast to human studies, for each animal, we did not consider the seizure threshold so as to adapt the intensity of stimulation accordingly.

In clinical conditions, ECT is often administered to patients alongside pharmacological therapies, and continuation protocols associate ECT with a maximal antidepressant dose to prevent relapses [41]. Very few randomized studies have been published describing the combination of ECT and pharmacological treatments in humans [50-54]. This lack of data most probably stems from the difficulty of recruiting sufficiently large patient cohorts. The studies published mainly relate to venlafaxine, lithium or ketamine [50-54]. Thus, our mice model will be a nice tool to directly compare the capacity of several pharmacological molecules to potentiate ECT treatment, particularly during consolidation phases.

Our results suggest that ECS efficacy is linked to increased neuron survival associated with enhanced neuronal connectivity (increased spine density). Both these events can be considered as markers of alleviation of depressive-like behaviors. These preclinical bio-markers might be of interest when assaying the potential anti-depressive activity of any innovative neuro-active molecules. It will be of interest to assess the impact of epothilone D or Davunetive on these

biomarkers, as both molecules have been shown to alleviate several MAP6 behavioral deficits [11, 55-58].

Finally, within the context of the recent controversy surrounding the existence of adult neurogenesis in humans [59, 60], the results presented here implicating neurogenesis in ECT's efficacy, associated with the observation of an increased hippocampal volume following ECT treatment in humans [61], both support active neurogenesis in human hippocampus.

References

[1] Group UER. Efficacy and safety of electroconvulsive therapy in depressive disorders: a systematic review and meta-analysis. Lancet 2003;361(9360):799-808.

[2] Singh A, Kar SK. How Electroconvulsive Therapy Works?: Understanding the Neurobiological Mechanisms. Clinical psychopharmacology and neuroscience : the official scientific journal of the Korean College of Neuropsychopharmacology 2017;15(3):210-21.

[3] Bolwig TG. How does electroconvulsive therapy work? Theories on its mechanism. Canadian journal of psychiatry Revue canadienne de psychiatrie 2011;56(1):13-8.

[4] Jimenez Vasquez PA, Salmi P, Ahlenius S, Mathe AA. 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):115-23.

[5] Sartorius A, Mahlstedt MM, Vollmayr B, Henn FA, Ende G. Elevated spectroscopic glutamate/gamma-amino butyric acid in rats bred for learned helplessness. Neuroreport 2007;18(14):1469-73.

[6] Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalynchuk LE. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. Behav Brain Res 2005;156(1):105-14.

[7] Murray F, Smith DW, Hutson PH. 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):115-27.

[8] Volle J, Brocard J, Saoud M, Gory-Faure S, Brunelin J, Andrieux A, et al. Reduced expression of STOP/MAP6 in mice leads to cognitive deficits. Schizophrenia bulletin 2013;39:969-78.

[9] Begou M, Volle J, Bertrand JB, Brun P, Job D, Schweitzer A, et al. The stop null mice model for schizophrenia displays [corrected] cognitive and social deficits partly alleviated by neuroleptics. Neuroscience 2008;157:29-39.

[10] Andrieux A, Salin PA, Vernet M, Kujala P, Baratier J, Gory-Faure S, et al. The suppression of brain cold-stable microtubules in mice induces synaptic defects associated with neuroleptic-sensitive behavioral disorders. Genes Dev 2002;16:2350-64.

[11] Fournet V, de Lavilleon G, Schweitzer A, Giros B, Andrieux A, Martres MP. 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;123:982-96.

[12] Fournet V, Schweitzer A, Chevarin C, Deloulme JC, Hamon M, Giros B, et al. The deletion of STOP/MAP6 protein in mice triggers highly altered mood and impaired cognitive performances. J Neurochem 2012;121:99-114.

[13] Fournet V, Jany M, Fabre V, Chali F, Orsal D, Schweitzer A, et al. The deletion of the microtubule-associated STOP protein affects the serotonergic mouse brain network. J Neurochem 2010;115:1579-94.

[14] Delotterie D, Ruiz G, Brocard J, Schweitzer A, Roucard C, Roche Y, et al. Chronic administration of atypical antipsychotics improves behavioral and synaptic defects of STOP null mice. Psychopharmacology (Berl) 2010;208:131-41.

[15] 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;85:3487-93.

[16] Brun P, Begou M, Andrieux A, Mouly-Badina L, Clerget M, Schweitzer A, et al. Dopaminergic transmission in STOP null mice. J Neurochem 2005;94:63-73.

[17] Madsen TM, Treschow A, Bengzon J, Bolwig TG, Lindvall O, Tingstrom A. Increased neurogenesis in a model of electroconvulsive therapy. Biological psychiatry 2000;47(12):1043-9.

[18] Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 2000;20(24):9104-10.

[19] Segi-Nishida E, Warner-Schmidt JL, Duman RS. 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):11352-7.

[20] Newton SS, Collier EF, Hunsberger J, Adams D, Terwilliger R, Selvanayagam E, et al. Gene profile of electroconvulsive seizures: induction of neurotrophic and angiogenic factors. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 2003;23(34):10841-51.

[21] Schloesser RJ, Orvoen S, Jimenez DV, Hardy NF, Maynard KR, Sukumar M, et al. Antidepressant-like Effects of Electroconvulsive Seizures Require Adult Neurogenesis in a Neuroendocrine Model of Depression. Brain stimulation 2015;8(5):862-7.

[22] Perera TD, Coplan JD, Lisanby SH, Lipira CM, Arif M, Carpio C, et al. Antidepressant-induced neurogenesis in the hippocampus of adult nonhuman primates. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 2007;27(18):4894-901.

[23] Deloulme JC, Gory-Faure S, Mauconduit F, Chauvet S, Jonckheere J, Boulan B, et al. Microtubule-associated protein 6 mediates neuronal connectivity through Semaphorin 3E-dependent signalling for axonal growth. Nature communications 2015;6:7246.

[24] Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. Arch Int Pharmacodyn Ther 1977;229(2):327-36.

[25] David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. Neuron 2009;62(4):479-93.

[26] Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. Science 2003;301(5634):805-9.

[27] Schindelin J, Arganda-Carreras I, Frise E, Kaynig V, Longair M, Pietzsch T, et al. Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. Nat Methods 2012;9(7):676-82.

[28] Ferreira T, Ou Y, Li S, Giniger E, van Meyel DJ. Dendrite architecture organized by transcriptional control of the F-actin nucleator Spire. Development 2014;141(3):650-60.

[29] Rodriguez A, Ehlenberger DB, Dickstein DL, Hof PR, Wearne SL. Automated three-dimensional detection and shape classification of dendritic spines from fluorescence microscopy images. PloS one 2008;3(4):e1997.

[30] Foltran RB, Diaz SL. BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? J Neurochem 2016;138(2):204-21.

[31] Donohue HS, Gabbott PL, Davies HA, Rodriguez JJ, Cordero MI, Sandi C, 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.

[32] Licznerski P, Duman RS. Remodeling of axo-spinous synapses in the pathophysiology and treatment of depression. Neuroscience 2013;251:33-50.

[33] Miller BR, Hen R. The current state of the neurogenic theory of depression and anxiety. Curr Opin Neurobiol 2015;30:51-8.

[34] Apple DM, Fonseca RS, Kokovay E. The role of adult neurogenesis in psychiatric and cognitive disorders. Brain Res 2017;1655:270-6.

[35] Ekstrand J, Hellsten J, Wennstrom M, Tingstrom A. Differential inhibition of neurogenesis and angiogenesis by corticosterone in rats stimulated with electroconvulsive seizures. ProgNeuropsychopharmacolBiolPsychiatry 2008;32(6):1466-72.

[36] Sairanen M, Lucas G, Ernfors P, Castren M, Castren E. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience 2005;25(5):1089-94.

[37] Liu RJ, Lee FS, Li XY, Bambico F, Duman RS, Aghajanian GK. Brain-derived neurotrophic factor Val66Met allele impairs basal and ketamine-stimulated synaptogenesis in prefrontal cortex. Biological psychiatry 2012;71(11):996-1005.

[38] Zhao C, Warner-Schmidt J, Duman RS, Gage FH. Electroconvulsive seizure promotes spine maturation in newborn dentate granule cells in adult rat. Developmental neurobiology 2012;72(6):937-42.

[39] Jacobson L. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: neuropsychiatric aspects. Comprehensive Physiology 2014;4(2):715-38.

[40] Inta D, Lima-Ojeda JM, Lau T, Tang W, Dormann C, Sprengel R, et al. Electroconvulsive therapy induces neurogenesis in frontal rat brain areas. PloS one 2013;8(7):e69869.

[41] Ernst A, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Perl S, Tisdale J, et al. Neurogenesis in the striatum of the adult human brain. Cell 2014;156(5):1072-83.

[42] Trevino K, McClintock SM, Husain MM. A review of continuation electroconvulsive therapy: application, safety, and efficacy. The journal of ECT 2010;26(3):186-95.

[43] Gill SP, Kellner CH. Clinical Practice Recommendations for Continuation and Maintenance Electroconvulsive Therapy for Depression: Outcomes From a Review of the Evidence and a Consensus Workshop Held in Australia in May 2017. The journal of ECT 2018.

[44] Petrides G, Tobias KG, Kellner CH, Rudorfer MV. Continuation and maintenance electroconvulsive therapy for mood disorders: review of the literature. Neuropsychobiology 2011;64(3):129-40.

[45] Encinas JM, Vaahtokari A, Enikolopov G. Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. Proc Natl Acad Sci U S A 2006;103(21):8233-8.

[46] Surget A, Tanti A, Leonardo ED, Laugeray A, Rainer Q, Touma C, et al. Antidepressants recruit new neurons to improve stress response regulation. Mol Psychiatry 2011;16(12):1177-88.

[47] Keilhoff G, Grecksch G, Bernstein HG, Roskoden T, Becker A. Risperidone and haloperidol promote survival of stem cells in the rat hippocampus. European archives of psychiatry and clinical neuroscience 2010;260(2):151-62.

[48] Xue F, Chen YC, Zhou CH, Wang Y, Cai M, Yan WJ, et al. Risperidone ameliorates cognitive deficits, promotes hippocampal proliferation, and enhances Notch signaling in a murine model of schizophrenia. Pharmacology, biochemistry, and behavior 2017;163:101-9.

[49] O'Leary OF, Cryan JF. A ventral view on antidepressant action: roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis. Trends Pharmacol Sci 2014;35(12):675-87.

[50] McGirr A, Berlim MT, Bond DJ, Chan PY, Yatham LN, Lam RW. Adjunctive ketamine in electroconvulsive therapy: updated systematic review and meta-analysis. The British journal of psychiatry : the journal of mental science 2017;210(6):403-7.

[51] Prudic J, Haskett RF, McCall WV, Isenberg K, Cooper T, Rosenquist PB, et al. Pharmacological strategies in the prevention of relapse after electroconvulsive therapy. The journal of ECT 2013;29(1):3-12.

[52] Sackeim HA, Dillingham EM, Prudic J, Cooper T, McCall WV, Rosenquist P, et al. Effect of concomitant pharmacotherapy on electroconvulsive therapy outcomes: short-term efficacy and adverse effects. Archives of general psychiatry 2009;66(7):729-37.

[53] Kellner CH, Husain MM, Knapp RG, McCall WV, Petrides G, Rudorfer MV, et al. A Novel Strategy for Continuation ECT in Geriatric Depression: Phase 2 of the PRIDE Study. The American journal of psychiatry 2016;173(11):1110-8.

[54] Kellner CH, Husain MM, Knapp RG, McCall WV, Petrides G, Rudorfer MV, et al. Right Unilateral Ultrabrief Pulse ECT in Geriatric Depression: Phase 1 of the PRIDE Study. The American journal of psychiatry 2016;173(11):1101-9.

[55] Merenlender-Wagner A, Shemer Z, Touloumi O, Lagoudaki R, Giladi E, Andrieux A, et al. New horizons in schizophrenia treatment: autophagy protection is coupled with behavioral improvements in a mouse model of schizophrenia. Autophagy 2014;10:2324-32.

[56] Daoust A, Bohic S, Saoudi Y, Debacker C, Gory-Faure S, Andrieux A, et al. Neuronal transport defects of the MAP6 KO mouse - a model of schizophrenia - and alleviation by Epothilone D treatment, as observed using MEMRI. NeuroImage 2014;96:133-42.

[57] 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;31:1368-73.

[58] Andrieux A, Salin P, Schweitzer A, Begou M, Pachoud B, Brun P, et al. Microtubule stabilizer ameliorates synaptic function and behavior in a mouse model for schizophrenia. Biological psychiatry 2006;60:1224-30.

[59] Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, Sandoval K, Qi D, Kelley KW, et al. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. Nature 2018;555(7696):377-81.

[60] Boldrini M, Fulmore CA, Tartt AN, Simeon LR, Pavlova I, Poposka V, et al. Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. Cell stem cell 2018;22(4):589-99 e5.

[61] Joshi SH, Espinoza RT, Pirnia T, Shi J, Wang Y, Ayers B, et al. Structural Plasticity of the Hippocampus and Amygdala Induced by Electroconvulsive Therapy in Major Depression. Biological psychiatry 2016;79(4):282-92.

Legends

Figure 1: ECS treatment affects behavior

(A) Timeline for ECS and behavioral tests. MAP6 KO mice received 10 ECS sessions (see experimental procedures) before testing with the forced swim test (FST) on day 1 and novelty suppressed feeding test (NSF) 4 days after the end of ECS.

(B) ECS treatment decreased immobility time in the forced swim test. The total duration of immobility and climbing was measured at D1 (mean ± s.e.m.; n=10 and n=11 for sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, * $p = 0.0138$ for immobility and $p = 0.0166$ for climbing).

(C) MAP6-KO mice exhibited higher latency to eat compare to WT mice in the novelty suppressed feeding test. (mean ± s.e.m.; n=7 and n=9 for WT and MAP6 KO mice, respectively, Mann-Whitney test, * $p = 0.0131$).

(D) ECS treatment decreased latency to eat at D4 in ECS-treated MAP6 KO mice compared to sham-treated MAP6 KO mice in the NSF test (mean ± s.e.m., n=13 for sham- and ECS-treated mice; Mann-Whitney test, * $p = 0.0289$).

Figure 2: ECS treatment enhances proliferation of hippocampal progenitors

(A) Timeline illustrating ECS and BrdU administration. MAP6 KO mice received 10 ECS sessions and were injected 3 times with BrdU from D3 to D4 after the final ECS session.

(B) Representative images of cells stained by BrdU antibodies in the dentate gyrus of sham- and ECS-treated MAP6 KO mice. Scale bar=400µm.

(C) ECS treatment increased the number of BrdU-positive cells in the sub-granular zone of the hippocampus at D4. Number of BrdU-positive cells per hippocampus (mean ± s.e.m.; n=4 and n=5 for sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, * $p = 0.0278$).

(D) Representative images of immunochemistry experiments to reveal DCX-positive cells in the dentate gyrus of sham- and ECS-treated MAP6-KO mice. Scale bar=400µm.

(E) ECS treatment increased the number of DCX-positive cells in the granular cell layer of the hippocampus at D4. Number of DCX-positive cells per hippocampus (mean ± s.e.m.; n=8 for sham- and ECS-treated mice, Mann-Whitney test, *** $p < 0.0001$).

(F) ECS treatment increases BDNF mRNA levels in the hippocampus of MAP6-KO mice at D4. BDNF mRNA levels were quantify by real-time RT-qPCR (mean ± s.e.m., n=7 for sham- and ECS-treated mice, Mann-Whitney test, ** $p = 0.0087$).

(G) ECS treatment increased BDNF protein expression in the hippocampus of MAP6-KO mice at D4. BDNF was quantified by ELISA (mean ± s.e.m.; n=12 and n=10 for sham- and ECS-treated mice, respectively, Mann-Whitney test, *** $p < 0.0001$).

Figure 3: ECS treatment improves survival and integration of newborn hippocampal neurons

(A) Timeline for administration of ECS and BrdU or retrovirus. 4 weeks before the final ECS session, retrovirus or BrdU were injected. All measurements were performed at D4.

(B) ECS treatment increased the number of BrdU-positive cells in the subventricular zone of the hippocampus. Number of BrdU-positive cells per hippocampus (mean ± s.e.m.; n=8 for sham- and ECS-treated mice; Mann-Whitney test, ** p= 0.0076).

(C)Timeline for administration of CORT and EdU.

(D) ECS treatment increased the number of EdU-positive cells in the subventricular zone of the hippocampus. Number of EdU-positive cells per hippocampus (mean ± s.e.m.; n=10 for sham- and ECS-treated mice; Mann-Whitney test, *** p< 0.0001).

(E) Representative images of newborn neurons infected by the retrovirus, in the dentate gyrus of sham- and ECS-treated MAP6-KO mice.

(F) Quantification of dendritic arborization complexity by Sholl analysis mean intersection (mean ± s.e.m.; n=11 and n=8 neurons from 2 and 3 sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, ** p =0.0022).

(G-H) ECS treatment increases total spine density (E) and mushroom-like spine density (F) in newborn neurons (mean ± s.e.m.; n=10 and n=19 dendritic segments from 2 and 3 sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, * p = 0.0284, *** p < 0.0001).

(I) Representative images of spines in the cortex of Sham- and ECS-treated MAP6-KO mice, scale bar: 10 µm.

(J) ECS treatment increases spine density in cortical neurons (mean ± s.e.m.; n=17 and n=26 dendritic segments from three sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, * p = 0.0303).

Figure 4: Time course for efficacy of ECS treatment

(A) Timeline for ECS and EdU administrations.

(B) ECS treatment decreased latency to eat at several time points (mean ± s.e.m.; at D10, n=13 for sham- and ECS-treated mice; at D17, n=7 for sham- and ECS-treated mice; at D33, n=7 and n=8 for sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, *** p = 0.0005, ** p = 0.0055; ns, not significant).

(C) ECS treatment increased the number of EdU-positive cells in the hippocampus at several time points (mean ± s.e.m.; at D11: n=7 and n=6 for sham- and ECS-treated mice, respectively; at D18: n=7 for sham- and ECS-treated mice; at D40, n=5 and n=6 for sham- and ECS-treated mice, respectively; Mann-Whitney test, * p = 0.0175, *** p = 0.0006, *p = 0.0273).

(D) Latency to eat significantly correlates with % of EdU-positive cells in the hippocampus (number of EdU-positive cells for each animal (n=19 for Sham- and n=19 for ECS-treated mice) divided by the mean number of EdU-positive cells in sham-treated animals).

Figure 5: ECS continuation protocol prolongs behavioral and biological effects of ECS

(A) Timeline illustrating continuation treatment and BrdU/EdU injections. After the initial ECS treatment (as in Figure 1A), mice received ECS or sham treatment twice a week, for 5 weeks (continuation treatment).

(B) ECS/ECS treatment induced sustained behavioral improvement compared to ECS/sham treatment. 5 weeks after the end of the initial ECS treatment the latency to eat in the novelty suppressed feeding test was maintained in the ECS/ECS group (mean +/- s.e.m.; n=10 and n=9 for ECS/sham- and ECS/ECS mice, respectively Mann-Whitney test: * $p = 0.011$).

(C) Number of EdU-positive cells in the hippocampus on D4 following the ECS continuation treatment (mean +/- s.e.m. n=9 for ECS/sham- and ECS/ECS mice)

(D) Number of BrdU-positive cells in the hippocampus on D4 following the ECS continuation treatment (mean +/- s.e.m. n=9 for ECS/sham- and ECS/ECS-treated mice; Mann-Whitney test, * $p = 0.0252$).

Figure 1

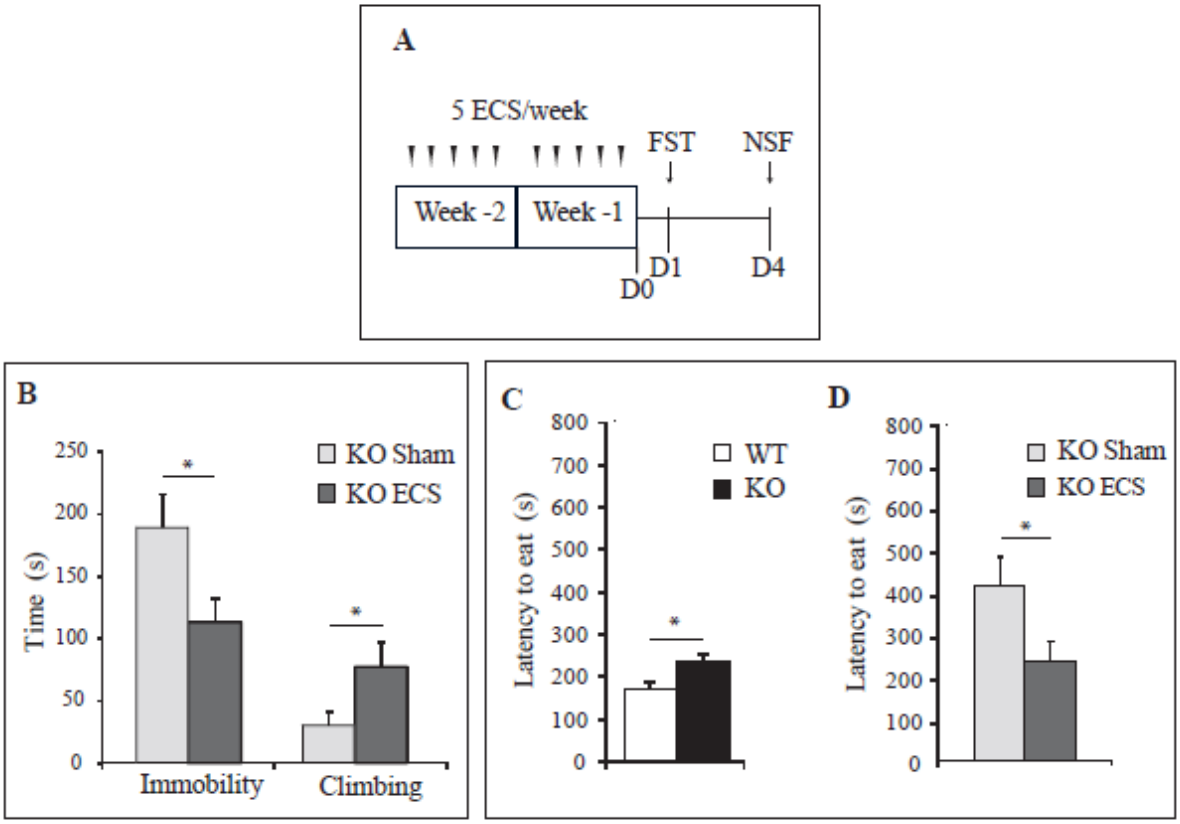

A
5 ECS/week
FST
NSF
Week -2
Week -1
D0
D1
D4
B
Time (s)
250
200
150
100
50
0
KO Sham
KO ECS
*
*
Immobility
Climbing
C
Latency to eat (s)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
WT
KO
*
D
Latency to eat (s)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
KO Sham
KO ECS
*

Figure 2

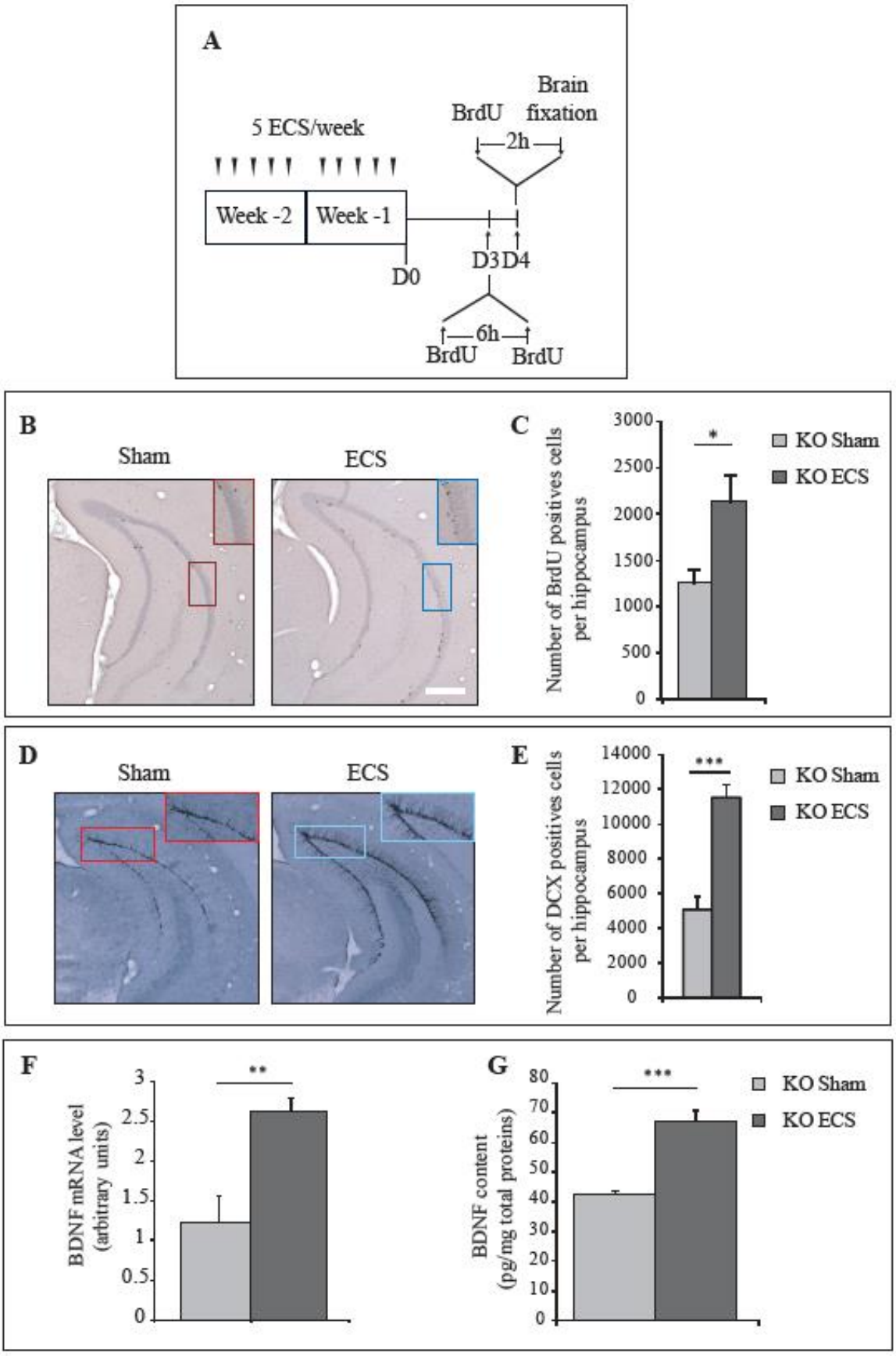

A
5 ECS/week
Week -2
Week -1
D0
D3 D4
BrdU
Brain fixation
2h
6h
BrdU
BrdU
B
Sham
ECS
C
Number of BrdU positives cells per hippocampus
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
*
KO Sham
KO ECS
D
Sham
ECS
E
Number of DCX positives cells per hippocampus
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
***
KO Sham
KO ECS
F
BDNF mRNA level (arbitrary units)
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
**
G
BDNF content (pg/mg total proteins)
80
70
60
50
40
30
20
10
0
***
KO Sham
KO ECS

Figure 3

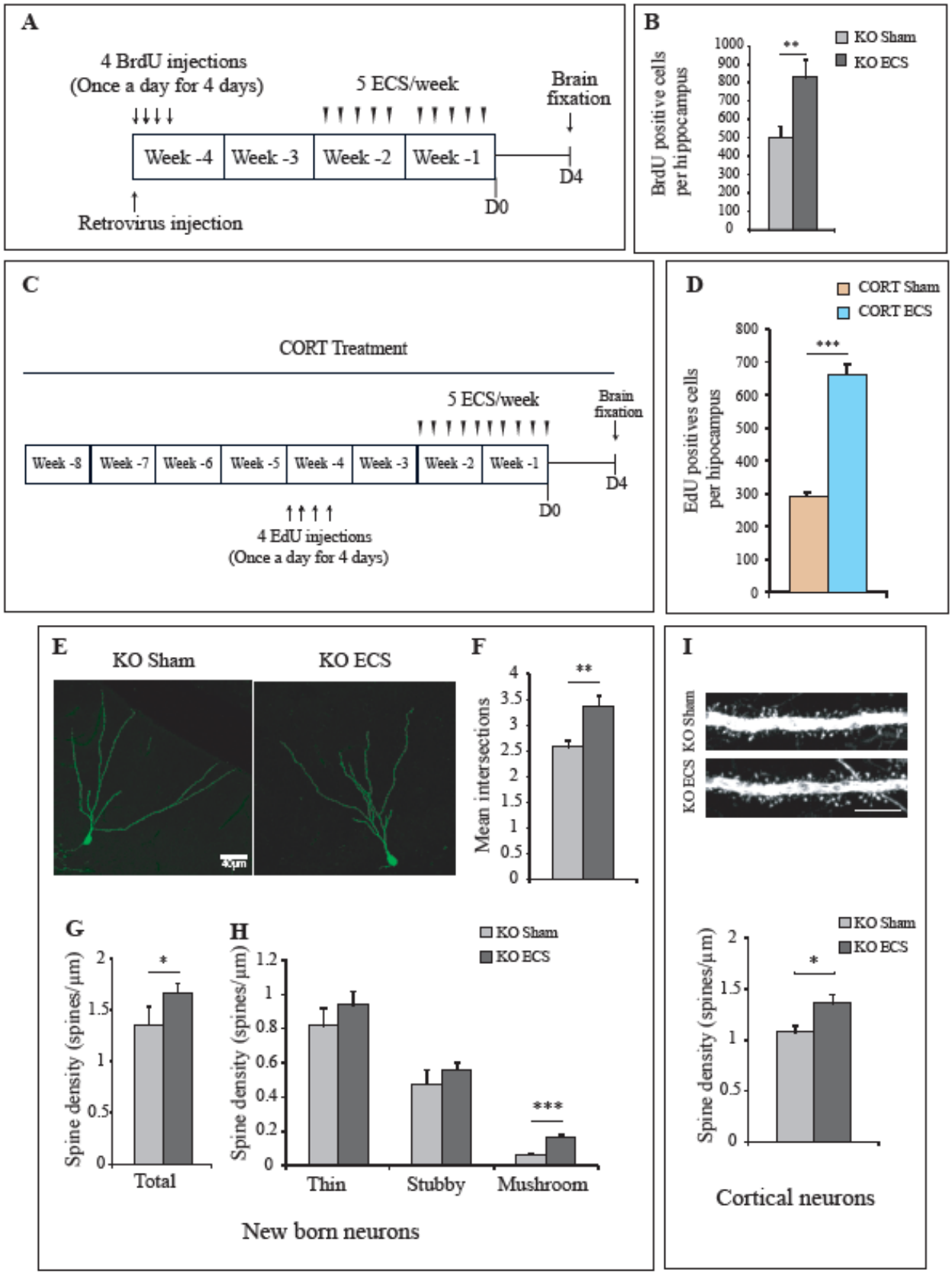

A
4 BrdU injections
(Once a day for 4 days)
5 ECS/week
Brain fixation
Week -4
Week -3
Week -2
Week -1
D4
D0
Retrovirus injection
B
BrdU positive cells per hippocampus
KO Sham
KO ECS
**
C
CORT Treatment
5 ECS/week
Brain fixation
Week -8
Week -7
Week -6
Week -5
Week -4
Week -3
Week -2
Week -1
D4
D0
4 EdU injections
(Once a day for 4 days)
D
CORT Sham
CORT ECS
EdU positives cells per hippocampus
***
E
KO Sham
KO ECS
4µm
F
Mean intersections
**
G
Spine density (spines/µm)
*
Total
H
KO Sham
KO ECS
Spine density (spines/µm)
***
Thin
Stubby
Mushroom
New born neurons
I
KO Sham
KO ECS
Spine density (spines/µm)
*
Cortical neurons

Figure 4

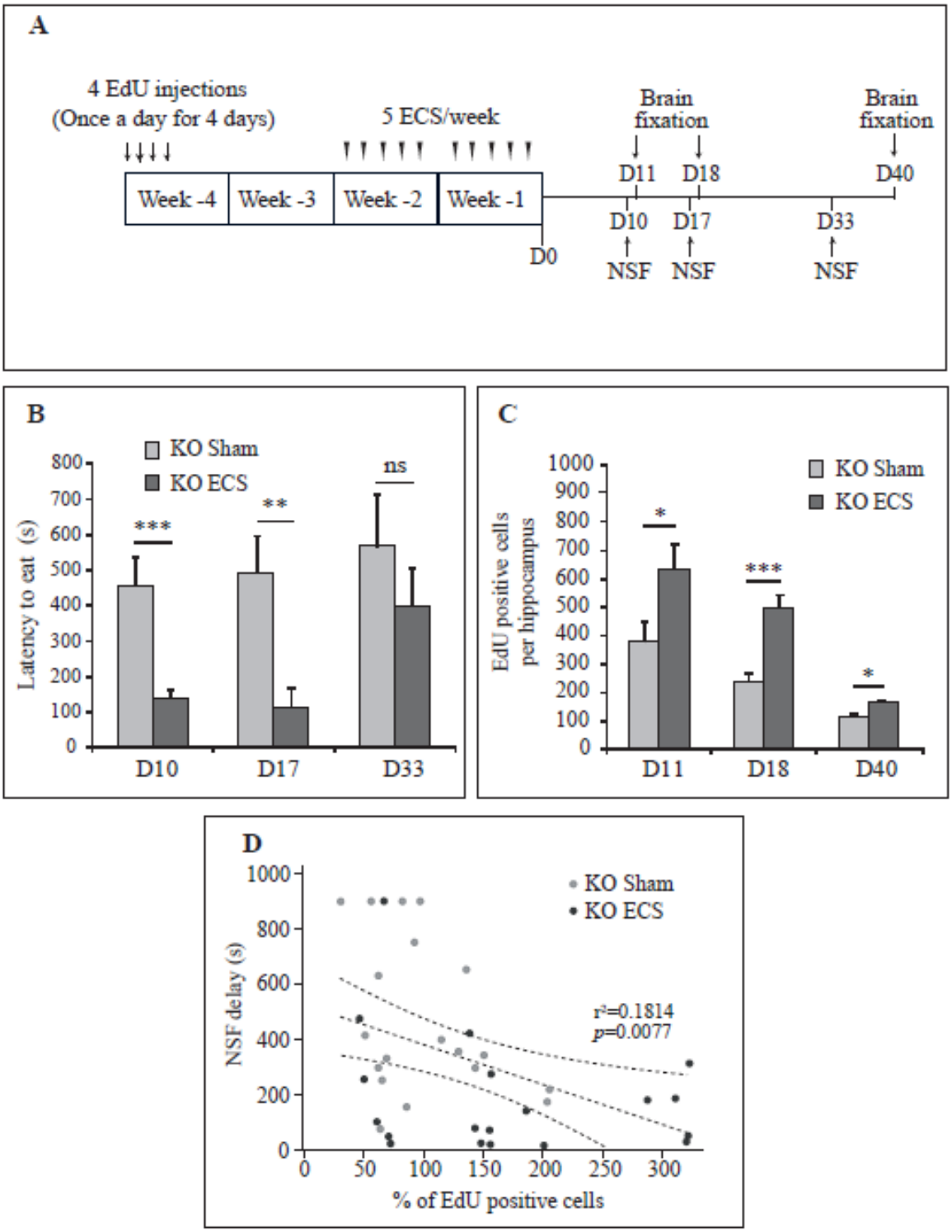
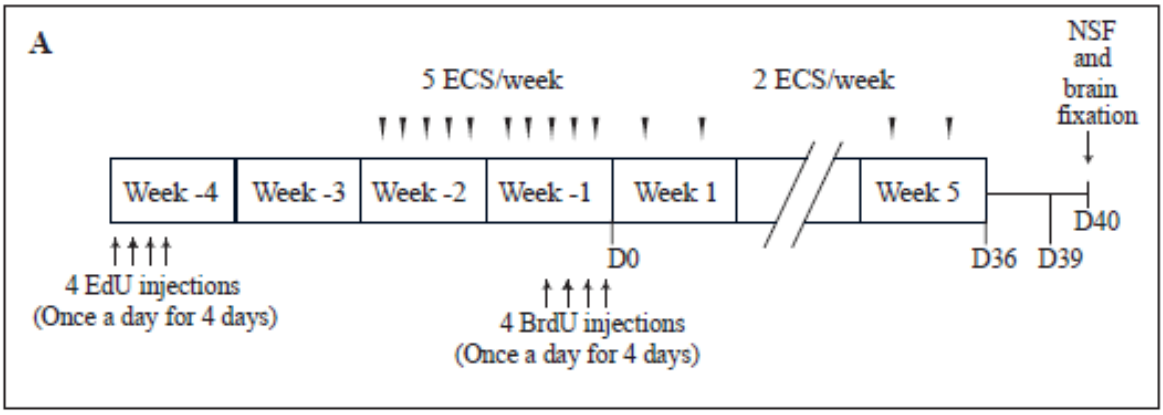
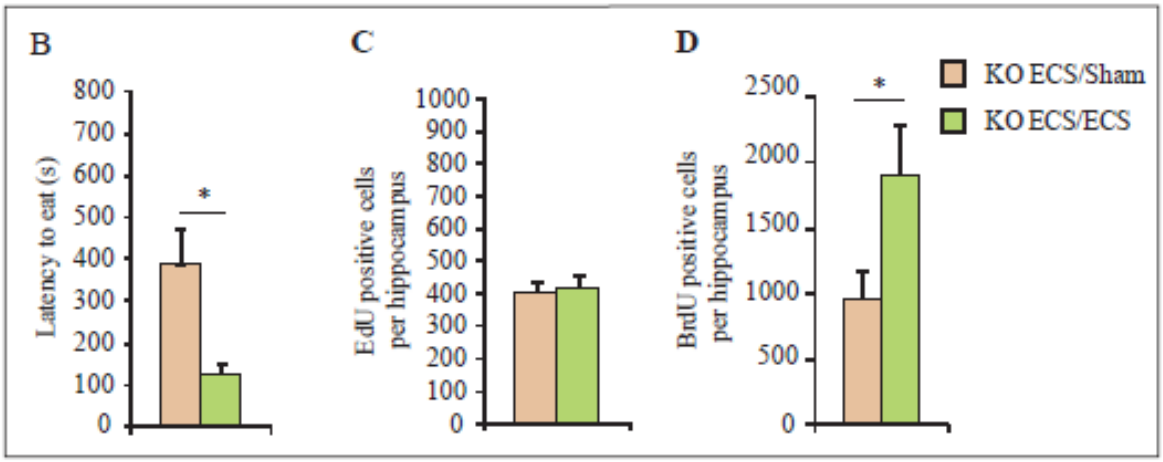

A
4 EdU injections
(Once a day for 4 days)
5 ECS/week
Brain fixation
Brain fixation
D11
D18
D40
Week -4
Week -3
Week -2
Week -1
D10
D17
D33
D0
NSF
NSF
NSF
B
KO Sham
KO ECS
Latency to eat (s)
***
**
ns
D10
D17
D33
C
KO Sham
KO ECS
EdU positive cells per hippocampus
*
***
*
D11
D18
D40
D
KO Sham
KO ECS
NSF delay (s)
r²=0.1814
p=0.0077
% of EdU positive cells

Figure 5


A
5 ECS/week
2 ECS/week
NSF and brain fixation
Week -4
Week -3
Week -2
Week -1
Week 1
Week 5
D40
D0
D36
D39
4 EdU injections
(Once a day for 4 days)
4 BrdU injections
(Once a day for 4 days)


B
Latency to eat (s)
800
700
600
500
400
300
200
100
0
*
C
EdU positive cells per hippocampus
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
D
BrdU positive cells per hippocampus
2500
2000
1500
1000
500
0
*
KO ECS/Sham
KO ECS/ECS

BIBLIOGRAPHIE

Abbott CC, Jones T, Lemke NT, Gallegos P, McClintock SM, Mayer AR, et al. (2014). Hippocampal structural and functional changes associated with electroconvulsive therapy response. *Transl Psychiatry*. 4:e483.

American Psychiatric Association, COMMITTEE ON ELECTROCONVULSIVE THERAPY. (2001). *The Practice of Electroconvulsive Therapy: Recommendations for Treatment, Training, and Privileging* 2nd ed. Washington, DC : American Psychiatric Association.

American Psychiatric Association. (2013). *Diagnostic and statistical manual of mental disorders DSM-5* (5e éd.). Arlington, VA : American Psychiatric Publishing.

ANAES, (1998). Indications et modalités de l'électroconvulsivothérapie. Repéré à http://sfar.org/wp-content/uploads/2015/10/2_FFP_Indications-et-modalites-delelectroconvulsivotherapie.pdf.

Andrieux A, Salin PA, Vernet M, Kujala P, Baratier J, Gory-Faure S et al. (2002) The suppression of brain cold-stable microtubules in mice induces synaptic defects associated with neuroleptic-sensitive behavioral disorders. *Genes Dev*; 16, 2350-2364.

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

Beall EB, Malone DA, Dale RM, Muzina DJ, Koenig KA, Bhattacharrya PK, et al. (2012). Effects of electroconvulsive therapy on brain functional activation and connectivity in depression. *J ECT*. 28, 234-241.

Boldrini M, Santiago AN, Hen R, Dwork AJ, Rosoklija GB, Tamir H, Arango V, John Mann J. (2013). Hippocampal granule neuron number and dentate gyrus volume in antidepressanttreated and untreated major depression. Off. Publ. Am. Coll. *Neuropsychopharmacol*.; 38, 1068–1077.

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

Cameron HA, Gould E. (1994). Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience;* 61, 203–209.

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

Cano M, Cardoner N, Urretavizcaya M, Martínez-Zalacaín I, Goldberg X, Via E, et al. (2016). Modulation of limbic and prefrontal connectivity by electroconvulsive therapy in treatment-resistant depression: a preliminary study. *Brain Stimul.* 9, 65-71.

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

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

Centre d'Analyse Stratégique. La santé mentale l'affaire de tous. Rapport du groupe de travail présidé par Viviane Kovess-Masféty (2010). *CAS*, (24).

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

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

David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang J-W, Marsteller D, Mendez I, Drew M, Craig DA, Guiard BP, Guilloux J-P, et al. (2009). Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron,* 62, 479–493.

Delotterie D, Ruiz G, Brocard J, Schweitzer A, Roucard C, Roche Y et al. (2010). Chronic administration of atypical antipsychotics improves behavioral and synaptic defects of STOP null mice. *Psychopharmacology (Berl*), 208, 131-141.

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

Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry*, 54(7), 597-606.

Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, et al. (2003). Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry*, 60(8): 804-815

Dwork AJ, Christensen JR, Larsen KB, Scalia J, Underwood MD, Arango V, Pakkenberg B, Lisanby SH. (2009) Unaltered neuronal and glial counts in animal models of magnetic seizure therapy and electroconvulsive therapy.Neuroscience. Dec 29; 164(4):1557-64.

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

Esel E, Kose K, Hacimusalar Y, Ozsoy S, Kula M, Candan Z, Turan T. (2008). The effects of electroconvulsive therapy on GABAergic function in major depressive patients. *J ECT*; 24, 224–228

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

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

Fava M, Kendler KS (2000). Major depressive disorder. *Neuron*, 28(2): 335-341.

Fournet V, de Lavilleon G, Schweitzer A, Giros B, Andrieux A, Martres MP. (2012). 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*; 123, 982-996.

Fournet V, Schweitzer A, Chevarin C, Deloulme JC, Hamon M, Giros B et al. (2012). The deletion of STOP/MAP6 protein in mice triggers highly altered mood and impaired cognitive performances. *J Neurochem*; 121, 99-114.

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

Gesner R, Erika Toth, Moshe Isserles, Zangen A. (2010). Site-specific antidepressant effects of repeated suconvulsive electrical stimulation: potential role of brain-derived neurtrophic factor. *Biol Psychiatry,* 67, 125-132.

Gilbertson MW, Shenton ME, Ciszewski A, Kasai K, et al. (2002). Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma. *Nat Neurosci*, 5(11), 1242-1247.

Gourley SL, Wu FJ, Kiraly DD, Ploski JE, Kedves AT, Duman RS, and others. (2008). Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. *Biol Psychiatry,* 63(4), 353–9.

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

Holaday JW, Tortella FC, Long JB, Belenky GL, Hitzemann RJ: (1986). Endogenous opioids and their receptors: evidence for involvement in the post ictal effects of electroconvulsive shock. *Ann NY Acad Sci.,* 462, 124–139.

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

Hellsten J, Wennström M, Mohapel P, Ekdahl CT, Bengzon J, Tingström A. (2002). Electroconvulsive seizures increase hippocampal neurogenesis after chronic corticosterone treatment. *Eur J Neurosci*., 16(2), 283-90.

Heninger GR, Delgado PL, Charney DS. (1996). The revised monoamine theory of depression: a modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry*, 29, 2–11.

Hirschfeld RM. (2000).History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. *J Clin Psychiatry*, 61(Suppl 6), 4-6.

Holtzmann, 2012. Imagerie médicale dans la compréhension des mécanismes d'action de l'ECT. Dans Szekely et Poulet *L'électroconvulsivothérapie, de l'histoire à la pratique clinique* (p 149-159). Marseille : Solal Editeur.

Jacobsen JP, Mork A (2006). Chronic corticosterone decreases brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA and protein in the hippocampus, but not in the frontal cortex, of the rat. *Brain Res,* 1110(1), 221-225.

Jonckheere Ruiz de Larrinaga, Julie. Bases moléculaires et cellulaires des effets antidépresseurs de l'électro-convulsivothérapie (ECT). (Français. Thèse de Doctorat Sciences agricoles. Université Grenoble Alpes, 2017.) Récupéré des archives en lignes, Archives ouvertes ⟨NNT : 2017GREAV023⟩. ⟨tel-01685524⟩.

Jonckheere J, Deloulme JC, Dall'Igna G, Chauliac N, Pelluet A, Nguon A, Lentini C, Brocard J, Denarier E, Brugière S, Couté Y, Heinrich C, Porcher C, Holtzmann J, Andrieux A, Suaud-Chagny MF, Gory-Fauré S. (2018). Short and longt-term efficacy of electroconvulsive stimulation in animal models of depression : the essential role of neuronal survival. *Brain Stimulation,* 11, 1336-1347.

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

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

Kasahara T,Kubota M, Miyauchi T, Ishiwata M, Kato T. (2008). A marked effect of electroconvulsive stimulation on behavioral aberration of mice with neuron-specific mitochondrial DNA defects. *PLoS One*, 26,(3):e1877.

Kellner CH, Fink PG, Knapp R, et al. (2005). Relief of expressed suicidal intent by ECT : a consortium for research in ECT study. *Am J Psychiatry*, 162, 977-982.

Kendler, K. S Sullivan, P. F.; Neale, M. C.; (2000). Genetic Epidemiology of Major Depression: Review and Meta-Analysis. *Am. J. Psychiatry*, 157 (10), 1552–1562.

Konarski, J. Z.; McIntyre, R. S.; Kennedy, S. H.; Rafi-Tari, S.; Soczynska, J. K.; Ketter, T. A. (2008). Volumetric Neuroimaging Investigations in Mood Disorders: Bipolar Disorder versus Major Depressive Disorder. *Bipolar Disord.* 10(1), 1–37.

Krishnan V, Han MH, Graham DL, Berton O, et al. (2007). Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*, 131(2), 391-404.

Kupfer DJ. (1991). Long-term treatment of depression. *J Clin Psychiatry*, 52 (Suppl), 28-34.

Lee K-J, Kim S-J, Kim S-W, Choi S-H, Shin Y-C, Park S-H, Moon B-H, Cho E, Lee M-S, Choi SH, et al. (2006). Chronic mild stress decreases survival, but not proliferation, of new-born cells in adult rat hippocampus. *Exp. Mol. Med.,* 38, 44–54.

Li, B.; Suemaru, K.; Cui, R.; Araki, H. (2007) Repeated Electroconvulsive Stimuli Have LongLasting Effects on Hippocampal BDNF and Decrease Immobility Time in the Rat Forced Swim Test. *Life Sci.,* 80 (16), 1539–1543.

Loo, C. (2010). ECT in the 21st century: optimizing treatment: state of the art in the 21st century. *The Journal of ECT*, 26(3), 157. https://doi.org/10.1097/YCT.0b013e3181efa1c4.

Lucassen PJ, Meerlo P, Naylor AS, van Dam AM, Dayer AG, Fuchs E, Oomen CA, Czéh B. (2010). Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action. *Eur Neuropsychopharmacol*., 20(1), 1-17.

Madsen, T. M.; Yeh, D. D.; Valentine, G. W.; Duman, R. S. (2005). Electroconvulsive Seizure Treatment Increases Cell Proliferation in Rat Frontal Cortex. *Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.,* 30(1), 27–34.

Madsen, T. M.; Treschow, A.; Bengzon, J.; Bolwig, T. G.; Lindvall, O.; Tingström, A. (2000). Increased Neurogenesis in a Model of Electroconvulsive Therapy. *Biol. Psychiatry,* 47 (12), 1043–1049.

Maes M, Westenberg H, Vandoolaeghe E, Demedts P, et al. (1997). Effects of trazodone and fluoxetine in the treatment of major depression: therapeutic pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions through formation of meta-chlorophenylpiperazine. *J Clin Psychopharmacol,* 17(5), 358-364.

Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. (2000). Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci*., 20, 9104–9110

Mann JJ. (2003). Neurobiology of suicidal behaviour. *Nat Rev Neurosci,* 4(10), 819-828.

McKinney, W. T.; Bunney, W. E. (1969). Animal Model of Depression: I. Review of Evidence: Implications for Research. *Arch. Gen. Psychiatry*, 21 (2), 240–248.

Molendijk ML, Spinhoven P, Polak M, Bus BA, Penninx BW, Elzinga BM. (2014).Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484).*Mol Psychiatr.,* 19(7), 791-800.

Murray F, Smith DW, Hutson PH (2008). Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur J Pharmacol,* 583(1): 115-127.

Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, et al. (2002a). Neurobiology of depression. *Neuron,* 34(1), 13-25.

NICE, (2003). Guidance on the use of electroconvulsive therapy. Repéré à https://www.nice.org.uk/guidance/ta59/resources/guidance-on-the-use-ofelectroconvulsive-therapy-pdf-2294645984197.

Nobler MS , Sackeim HA , Moeller JR , Prudic J ,Petkova E ,Waternaux C. (1997). Quantifying the speed of symptomatic improvement with electroconvulsive therapy: comparison of alternative statistical methods. *Convulsive Therapy*, 13(4), 208-221.

Perera TD, Coplan JD, Lisanby SH, Lipira CM, Arif M, Carpio C, Spitzer G, Santarelli L, Scharf B, Hen R, Rosoklija G, Sackeim HA, Dwork AJ. (2007). Antidepressant-induced neurogenesis in the hippocampus of adult nonhuman primates. *J Neurosci*; 27(18), 4894-4901.

Pfleiderer B, Michael N, Erfurth A, Ohrmann P, Hohmann U, Wolgast M, Fiebich M, Arolt V, Heindel W (2003). Effective electroconvulsive therapy reverses glutamate/glutamine deficit in the left anterior cingulum of unipolar depressed patients. *Psychiatry Res*; 122, 185–192.

Pham K, Nacher J, Hof PR, McEwen BS. (2003). Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci.*, 17, 879–886.

Piccinni, A.; Del Debbio, A.; Medda, P.; Bianchi, C.; Roncaglia, I.; Veltri, A.; Zanello, S.; Massimetti, E.; Origlia, N.; Domenici, L.; et al. (2009). Plasma Brain-Derived Neurotrophic Factor in Treatment-Resistant Depressed Patients Receiving Electroconvulsive Therapy. *Eur. Neuropsychopharmacol.,* 19(5), 349–355.

Reus, V. I.; Peeke, H. V.; Miner, C. (1985). Habituation and Cortisol Dysregulation in Depression. *Biol. Psychiatry*, 20 (9), 980–989.

Rush AJ, Thase ME, Dubé S. Research issues in the study of difficult-to-treat depression (2003). *Biol Psychiatry*, 53(8), 743–53.

Sackeim HA. (1999). The anticonvulsant hypothesis of the mechanisms of action of ECT: current status. *J ECT*, 15(5), 22-26.

Sackeim Harold A., Roger F. Haskett, Benoit H. Mulsant, Michael E. Thase, J. John Mann, Helen M. Pettinati, Robert M. Greenberg, Raymond R. Crowe, Thomas B. Cooper, Joan Prudic. (2001). Continuation Pharmacotherapy in the Prevention of Relapse Following Electroconvulsive TherapyA Randomized Controlled Trial. *JAMA*, 285(10), 1299-1307.

Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, et al. (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*, 301, 805–809.

Schweitzer A, Begou M, Volle J, Bertrand JB, Brun P, Job D, et al. (2008). The stop null mice model for schizophrenia displays cognitive and social deficits partly alleviated by neuroleptics. *Neuroscience*; 157(1), 29-39.

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.; (2015). Martinowich, K. Antidepressant-like Effects of Electroconvulsive Seizures Require Adult Neurogenesis in a Neuroendocrine.Model of Depression. *Brain Stimulat*. 8(5), 862-867.

Scott, B. W.; Wojtowicz, J. M.; Burnham, W. M. (2000). Neurogenesis in the Dentate Gyrus of the Rat following Electroconvulsive Shock Seizures. *Exp. Neurol,* 165 (2), 231–236.

Segi-Nishida E, Warner-Schmidt JL, Duman RS. Electroconvulsive seizure and VEGF increase the proliferation of neural stem-like cells in rat hippocampus. (2008); *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105(32), 11352-11357.

Segman RH, Shapira B, Gorfine M, Lerer B. (1995). Onset and time course of antidepressant action: psychopharmacological implications of a controlled trial of electroconvulsive therapy. *Psychopharmacology (Berl),* 119(4), 440-448.

Snyder, J. S.; Soumier, A.; Brewer, M.; Pickel, J.; Cameron, H. A. (2011). Adult Hippocampal Neurogenesis Buffers Stress Responses and Depressive *Behaviour. Nature*, 476 (7361), 458–461.

Spalding, K. L.; Bhardwaj, R. D.; Buchholz, B. A.; Druid, H.; Frisén, J. (2005).,Retrospective Birth Dating of Cells in Humans. *Cell,* 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. (2013) Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans. *Cell*, 153(6), 1219–1227.

Seri, B.; Garca-Verdugo, J. M.; McEwen, B. S.; Alvarez-Buylla, A. (2001). Astrocytes Give Rise to New Neurons in the Adult Mammalian Hippocampus. *J. Neurosci.* 21(18), 7153–7160.

Steiner, B.; Kronenberg, G.; Jessberger, S.; Brandt, M. D.; Reuter, K.; Kempermann, G. (2004).Differential Regulation of Gliogenesis in the Context of Adult Hippocampal Neurogenesis in Mice. *Glia*., 46(1), 41–52.

Stetler C, Miller GE. (2011). Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosom Med*., 73(2), 114-126.

Surget, A.; Tanti, A.; Leonardo, E. D.; Laugeray, A.; Rainer, Q.; Touma, C.; Palme, R.; Griebel, G.; Ibarguen-Vargas, Y.; Hen, R.; et al. (2011). Antidepressants Recruit New Neurons to Improve Stress Response Regulation. *Mol. Psychiatry,* 16(12), 1177–1188.

Szekely D. (2012). Monitoring de la cure ECT initiale : l'ECT en pratique quotidienne. Szekely et Poulet (dir.), *L'électroconvulsivothérapie, de l'histoire à la pratique clinique* (p 327-343). Marseille : Solal Editeur.

Thase ME. (2011). Treatment-resistant depression: prevalence, risk factors, and treatment strategies. *J Clin Psychiatry*, 72(5), e18.

The World Health Report (2001) Mental Health: New Understanding, New Hope Geneva: World Health Organisation and OMS Europe 2006.

Ueno M, Sugimoto M, Ohtsubo K, Sakai N, Endo A, Shikano K, Imoto Y, Segi-Nishida. The effect of electroconvulsive seizure on survival, neuronal differentiation, and expression of maturation marker in the adult mouse hippocampus. *Journal of neurochemistry*. 2019; 149; 488-498.

Van Bokhoven P, Oomen CA, Hoogendijk WJG, Smit AB, Lucassen PJ, Spijker S. (2011). Reduction in hippocampal neurogenesis after social defeat is long-lasting and responsive to late antidepressant treatment. *Eur. J. Neurosci*., 33, 1833–1840.

Van Praag, H.; Schinder, A. F.; Christie, B. R.; Toni, N.; Palmer, T. D.; Gage, F. H. (2002). Functional Neurogenesis in the Adult Hippocampus. *Nature*, 415 (6875), 1030–1034.

Vanelle, J.-M.; Sauvaget-Oiry, A.; Juan, F. (2008). Indications de L'électroconvulsivothérapie. *Presse Médicale*, 37 (5, Part 2), 889–893.

Weber T, Baier V, Lentz K, Herrmann E, Krumm B, Sartorius A, Kronenberg G, Bartsch D. (2013).Genetic fate mapping of type-1 stem cell-dependent increase in newborn hippocampal neurons after electroconvulsive seizures. *Hippocampus,* 23(12), 1321-1330.

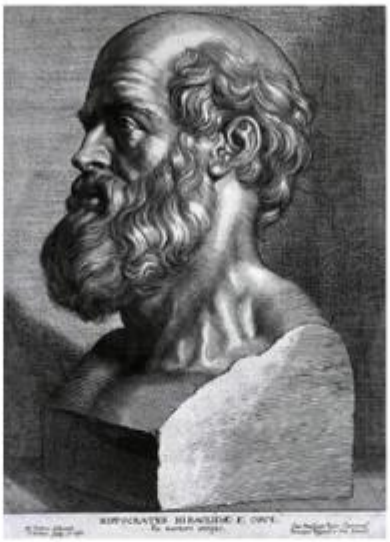
Wennström, M.; Hellsten, J.; Ekdahl, C. Tingström, A. (2003). Electroconvulsive Seizures Induce Proliferation of NG2-Expressing Glial Cells in Adult Rat Hippocampus. *Biol. Psychiatry*, 54(10), 1015–1024.

Warner-Schmidt, J. L.; Madsen, T. M.; Duman, R. S. (2008). ,Electroconvulsive Seizure Restores Neurogenesis and Hippocampus-Dependent Fear Memory after Disruption by Irradiation. *Eur. J. Neurosci*., 27 (6), 1485–1493.

Zhao, C.; Teng, E. M.; Summers, R. G.; Ming, G.; Gage, F. H. (2006). Distinct Morphological Stages of Dentate Granule Neuron Maturation in the Adult Mouse Hippocampus. *J. Neurosci*., 26 (1), 3–11.

Zhao C, Deng W, Gage FH (2008). Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell,* 132(4), 645-660.

Zhao C, Warner-Schmidt J, Duman RS, Gage FH. (2012). Electroconvulsive seizure promotes spine maturation in newborn dentate granule cells in adult rat. *Developmental neurobiology;* 72(6): 937-942.



SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.