



**HAL**  
open science

# Effacité de la stimulation électro-convulsive en cure de consolidation dans un modèle animal de dépression, la souris MAP6-KO : le rôle essentiel de la survie neuronale

Albane Pelluet

## ► To cite this version:

Albane Pelluet. Effacité de la stimulation électro-convulsive en cure de consolidation dans un modèle animal de dépression, la souris MAP6-KO : le rôle essentiel de la survie neuronale. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02303206

**HAL Id: dumas-02303206**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02303206>**

Submitted on 3 Oct 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.



## 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](mailto: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>

Année : 2019

EFFICACITE DE LA STIMULATION ELECTRO-CONVULSIVE EN CURE DE CONSOLIDATION  
DANS UN MODELE ANIMAL DE DEPRESSION, LA SOURIS MAP6-KO : LE RÔLE ESSENTIEL DE  
LA SURVIE NEURONALE

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

Albane PELLUET

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Le : 10/09/2019

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

M. le Professeur Thierry BOUGEROL

Membres :

M. le Professeur Mircea POLOSAN

M. le Professeur Olivier DETANTE

M. le Docteur Jérôme HOLTZMANN (Directeur de thèse)

Mme le Docteur Annie ANDRIEUX

Mme le Docteur Sylvie GORY-FAURE

*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.*



Cette thèse a fait l'objet d'une publication dans la revue *Brain Stimulation* en Août 2018 (cf Annexe).

**INSERM U836**  
**Grenoble Institut des Neurosciences**  
Bâtiment Edmond J. Safra  
BP 170  
38706 Grenoble Cedex 9

Doyen de la Faculté : Pr. Patrice MORAND

Année 2018-2019

**ENSEIGNANTS DE L'UFR DE MEDECINE**

CORPS	NOM-PRENO	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	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
PU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIE TERICH 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-vénérologie
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-SIBLOT 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	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	ROMANET Jean Paul	Ophthalmologie
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



# Table des matières

<i>Remerciements</i>	8
<i>Abréviations</i>	13
<b>Introduction</b>	<b>14</b>
I. <i>Electro-convulsivo-thérapie</i>	14
A. Principes généraux	14
B. Mécanisme d'action : hypothèses actuelles	16
II. <i>Neurogénèse adulte</i>	17
III. <i>Stimulation électro-convulsive (ECS)</i>	19
IV. <i>Les souris MAP6-KO</i>	21
V. <i>Situation du sujet</i>	22
VI. <i>Hypothèses</i>	24
<b>Matériel et méthode</b>	<b>25</b>
I. <i>Protocole général</i>	25
II. <i>Souris MAP6 KO</i>	26
III. <i>Electro-convulsivo-stimulation (ECS)</i>	26
IV. <i>Test comportemental : Novelty suppressed feeding test (NFS)</i>	27
V. <i>Marquages BrdU et EdU</i>	27
VI. <i>Analyses statistiques</i>	29
<b>Résultats</b>	<b>30</b>
I. <i>Tests comportementaux</i>	30
II. <i>Etude de la survie neuronale après protocole de consolidation</i>	31
<b>Discussion</b>	<b>34</b>
<b>Bibliographie</b>	<b>42</b>

# Remerciements

A Monsieur le Professeur Thierry Bougerol, vous me faites l'honneur de présider le jury de ma thèse, je vous en remercie. Recevez ici toute ma reconnaissance et l'expression de mon profond respect. Vous m'avez accompagnée tout au long de mon cursus d'interne et m'avez orientée pour le post-internat. Je vous remercie pour votre bienveillance.

A Monsieur le Professeur Mircea Polosan, vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse. Je vous remercie pour les conseils précieux que vous avez pu me donner au cours de mon internat et pour le post-internat.

A Monsieur le Professeur Olivier Detante, vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse. Je vous remercie de l'intérêt que vous portez à mon travail. Il était important pour moi de pouvoir le présenter à un neurologue.

A Monsieur le Docteur Jérôme Holtzmann, je te remercie de m'avoir proposé ce sujet de recherche, de m'avoir encadré sur mes différents travaux universitaires, et ce malgré quelques soucis techniques (les mails...) et ma tendance à frôler avec les deadlines. J'ai beaucoup appris grâce à ta rigueur et à tes connaissances approfondies, notamment au cours des 2 semestres passés dans ton service.

A Madame le Docteur Annie Andrieux, vous me faites l'honneur de participer au jury de ma thèse et êtes en partie à l'origine de ce sujet. Recevez ici toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Sylvie Gory-Fauré, je te remercie de m'avoir permis de participer à cette étude, de m'avoir initiée aux joies de la recherche fondamentale, de m'avoir appris toutes les manipulations qui m'étaient complètement étrangères, d'avoir pris du temps pour m'expliquer des bases que je n'avais pas forcément, et pour relire mon manuscrit.

A toute l'équipe n°1 d'avoir été présente pour m'aider lors de mes journées au GIN.

A Madame le Docteur Christelle Prost-Lehmann, je te remercie du fond du cœur de m'avoir fait découvrir la pédopsychiatrie et de m'avoir transmis l'envie de poursuivre dans cette voie. Tu as été une rencontre déterminante pour les choix que j'ai fait par la suite et tu es pour moi un exemple à suivre. Je suis très heureuse de pouvoir continuer à travailler avec toi dans les années qui arrivent.

A Monsieur le Docteur Olivier Revol, je vous remercie du fond du cœur pour votre accueil à l'UERTD lors de mon stage en inter-CHU, vous m'avez tant enseigné au cours de ces 6 mois. Travailler avec vous a été une chance inouïe et j'espère que nous pourrons continuer à collaborer par la suite.

A Monsieur le Professeur Pierre Fournier, je vous remercie pour votre accueil lors de mon stage inter-CHU à l'UERTD. Vous m'avez donné de précieux conseils en cette fin d'internat et m'avez beaucoup appris, je vous en remercie.

A toute l'équipe de Winnicott, en particulier au Dr Chardronnet, qui m'ont appris à aimer la psychiatrie alors que cette spécialité m'était encore obscure et qui m'ont conforté dans mon choix.

A l'équipe de Dominique Villars, en particulier au Dr Dall'Igna qui m'a beaucoup appris dans son art de mener des entretiens et sur les ECT. Au Dr Rigon, dont la culture footballistique est devenue légendaire, mais qui m'a aussi beaucoup enseigné sur la pharmacologie et a toujours été de bon conseil. Au Dr Buis qui a (presque) réussi à me faire aimer les TCA.

A l'équipe de Belleflore, en particulier au Dr Barna, pour ces 6 mois à la clinique du Grésivaudan qui ont été riches d'apprentissage. Merci à l'équipe de l'UPA pour ces soirées au callagh et ces week-ends d'astreinte.

A l'équipe de pédopsychiatrie de liaison du CHU, à Aurélie, Maud et Stéphanie, je suis très heureuse de vous rejoindre en Novembre. Vous m'avez transmis votre passion pour la pédopsychiatrie, je vous en suis profondément reconnaissante.

A l'équipe des spécialités du CHAI, en particulier aux Dr Dransart, Pousset, Wittmann et Lorin, qui m'ont beaucoup appris sur la médecine générale.

A toute l'équipe de l'UCAP-APEX, en particulier aux Docteurs Bensaadi, Godechot, Vacher et Vidal, mon passage dans le service m'a permis d'acquérir une autonomie dans les prises en charge des patients.

A l'équipe de psychopathologie et de l'UERTD à l'HFME, avec une mention particulière pour le Dr Roche et le Dr Fournier, merci de m'avoir transmis votre passion pour les troubles des apprentissages et l'art de manier le méthyl-phénidate.

A ma mère, je ne te remercierai jamais assez pour ton soutien indéfectible, tu as toujours été présente, prête parfois à passer des journées à comprendre des cours de biochimie pour me les expliquer le soir ou à relire mon mémoire ou ma thèse à la dernière minute. Je n'en serai jamais arrivée là sans toi.

A mon père, qui m'a transmis sa passion pour la médecine depuis toute petite, merci pour ton soutien depuis toujours et en particulier en P1.

A ma sœur, bien que quelques lignes soient trop peu pour te remercier, merci pour tes conseils avisés et toujours justes, ton soutien précieux, ta présence malgré la distance, ta confiance en moi.

A mon frère, je te remercie du fond du cœur pour ton soutien, tu me pousses à aller plus loin, à affirmer mes idées, à avoir confiance et à défendre mes idéaux.

A Antoine, merci d'être chaque jour à mes côtés, malgré les moments difficiles et stressants de cette dernière année, ton soutien m'est précieux, tu rends ma vie plus belle chaque jour.

A ma famille, en particulier à mon grand-père, qui nous a quitté au début de mon internat et qui se réjouissait de me voir devenir psychiatre, tu m'as appris à aimer apprendre depuis le plus jeune âge et m'as transmis ta curiosité. A Jean-Nicolas, mon parrain, je t'admire profondément, merci de me donner un bel exemple de réussite. A Claire-Lise et Lionel, vous êtes pour moi des médecins exceptionnels et j'espère pouvoir aspirer à vous ressembler pour la suite de ma carrière. A mes oncles et tantes, Marion, Alexandre, Stephi, à mes cousins, Louise, Lucas, Maxime, Maddi, Pierre, Marie, Clara, Emma, Claire-Marie, Mathilde, Pierre-Alexis, Sixtine et Alix, j'ai une grande chance d'avoir une si belle famille.

Aux copains, Aurélie, Laure, Garance, Hugo, Laura, merci d'être toujours là après toutes ces années, j'ai beaucoup de chance de vous compter parmi mes amis.

Au GDGS, comment vous remercier d'avoir rendu mes études de médecine aussi incroyables. A Frank, depuis le lycée (le pacte). A Laurine, ma première coloc, je n'aurais pas assez de place pour décrire tout ce que l'on a partagé. A Charlie, mon coloc, merci d'avoir supporté cette phrase quotidienne « je ne peux pas, je bosse mon mémoire », merci pour ton soutien. A Mathieu, qui a supporté la même phrase ainsi que le « jus d'orange gate ». A Valou, de Paris à Luang Prabang, toujours là. A Tan, tes conseils ont toujours été justes et précieux. A Guy, pour ton humour décalé mais parfois drôle. A Thomas, le chef de meute illégitime. A Nathan, pour l'organisation des olympiades qu'on attend toujours pour 2019. A Mathilde, pour ces soirées endiablées. A Marion, pour me faire rire autant (parfois à tes dépens à une heure tardive). A LMF, pour ta chemise pélican qui marche pour tous les thèmes. A Lucas DC, monsieur 6 du un jour sur 2. A Laura, pour ses bons conseils (« Tu devrais boire un peu plus de Perrier »). A Joffrey, pour notre passion commune pour Charles Aznavour. A Isa, pour ta bonne humeur et ta motivation permanente. A Hugo, toujours là pour organiser des événements. A Geoffroy, depuis la P1 jusqu'à aujourd'hui, tes blagues sont toujours les mêmes et c'est pour ça qu'on t'aime. A Corentin, pour les poèmes récités à 3h du mat. A Clémentine, on n'a pas le

même maillot, mais on a la même passion. A Clémence, pour ces belles soirées (le divan du monde). A Bérenger, et Nicolas Tesla, merci de nous cultiver, à n'importe quelle heure du jour et de la nuit. A Adrien, coloc de Grenoble, pour les pintes de pastis que même un marseillais n'oserait pas boire.

A mes co-internes, avec qui j'ai partagé de belles années d'internat, aux villas. Mention particulière pour Vanille, Elodie, Aida, Mircea, mes plus belles rencontres, merci d'être devenus des amis si précieux. Merci à Nedjma, Camille R, Vanessa, Mathieu, Louis-Marie, Ryad, Manu, Pierre, Vincent, Lisa, Camille Q, les plus anciens qui m'ont accueillie chaleureusement. A ma promotion, Laura, Vanille, Elodie, Jérôme, Anne-Sophie, Tiphaine, Florent, Aude, Arnaud, Marie, Robin. A ceux qui sont arrivés après, en particulier Maxime, Nico, Teano, Antonin, Antoine B (mon cher externe), Vera, Julie, Marie C. A Brian, merci d'avoir partagé ce bureau pendant 6 mois et d'avoir supporté ma tendance à la logorrhée. A Camille, quelle belle rencontre, merci pour ton soutien dans cette année chargée.

A l'AFFEP, aux bureaux 2016-2017 et 2017-2018, merci pour ces moments partagés, ces réunions qu'on a parfois peiné à faire avancer, ces power point finis la veille au soir. Cette expérience à vos côtés pendant 2 ans m'a enrichie.

A l'AIPG, au bureau 2016-2017 et 2017-2018, remerciement particulier pour Maxime et ses tableaux en couleurs, sans qui notre mandat aurait été laborieux.

# Abréviations

DG : dental gyrus

ECS : Electroconvulsive stimulation

ECT : Electro-convulsivo-thérapie

LTP : Long term potentialization

MAP6 : microtubule associated protein 6

SGZ : zone sous-granulaire

# Introduction

D'après l'Institut national de prévention et d'éducation pour la santé (Beck, 2012), en France, une personne sur 5 souffrira d'un épisode dépressif caractérisé au cours de sa vie, la prévalence vie entière d'un épisode dépressif est de 20%. En 2010, l'incidence d'un épisode dépressif caractérisé était de 7,5% pour les 15-85 ans. L'organisation mondiale de la santé rapporte que 350 millions de personnes sont touchés par ce type de trouble au cours de leur vie dans le monde (OMS, 2018), ce qui correspond à la première cause d'incapacité au niveau mondial.

## I. Electro-convulsivo-thérapie

### A. Principes généraux

Différentes thérapeutiques sont utilisées pour le traitement d'un épisode dépressif caractérisé, et parmi celles-ci, l'électro-convulsivo-thérapie (ECT). Les ECT consistent en une stimulation cérébrale par le biais de la délivrance d'un courant électrique sur le scalp, après anesthésie générale du patient. Ce traitement a commencé à être utilisé dans les années 1930 dans la schizophrénie avant d'être rapidement appliqué dans les épisodes dépressifs caractérisés sévères, qui est désormais l'indication de choix de ce type de traitement (Caire, 2019). Les deux indications principales pour ce type de traitement sont les épisodes dépressifs pharmaco-résistants et les épisodes sévères avec risque vital, car les ECT ont une action plus rapide sur la symptomatologie dépressive que les traitements pharmacologiques (Geddes & et al., 2003).

Les ECT présentent néanmoins certains effets indésirables. A court terme, ils sont responsables de troubles mnésiques antérogrades (difficulté à encoder de nouveaux souvenirs) qui régressent rapidement à la fin de la cure. Au cours de la séance, il peut être observé une asystolie transitoire résultant d'une stimulation vagale centrale du fait de la stimulation



électrique (Bryson, Majeske, & Meyer, 2018; Roche, Raynaud, Bompaire, Lucas, & Auxéméry, 2016). Au décours immédiat d'une séance, il est souvent retrouvé des céphalées, nausées, asthénie, myalgies (Mouaffak, 2014), notamment dus aux effets secondaires des produits d'anesthésie générale. A moyen terme, l'amnésie rétrograde (qui concerne les souvenirs antérieurs à la cure d'ECT) est l'effet le plus fréquent et le plus persistant, elle disparaît habituellement dans les mois qui suivent la cure, elle touche le plus souvent la phase pré-thérapeutique mais peut parfois atteindre des souvenirs plus anciens.

Plusieurs variables sont ajustables pour la réalisation d'une séance d'ECT, la durée, la fréquence, l'impédance, l'intensité, la largeur d'impulsion et l'ampérage du courant électrique.

Le traitement des épisodes dépressifs se déroule en plusieurs phases. La première phase a pour objectif le traitement des symptômes observés au cours de la maladie. La deuxième consiste en un maintien de la rémission clinique et la prévention des rechutes. Le protocole habituellement réalisé pour les cure d'ECT chez l'Homme est basé sur ces différentes phases de traitement et débute par une cure initiale, à raison de 2 séances par semaine jusqu'à disparition des symptômes de la lignée dépressive pendant une semaine. Il est poursuivi par une cure de consolidation, qui consiste en un espacement progressif (une séance par semaine, puis toutes les 2 semaines, les 3 semaines puis une fois par mois), avec plusieurs séances à chaque espacement et poursuite s'il n'y a pas de recrudescence des symptômes de dépression, puis arrêt si maintien de la rémission clinique (Gill & Kellner, 2019). Cette cure de consolidation permet une prophylaxie contre la rechute dépressive (Gill & Kellner, 2019).

Il existe 2 types de stimulation, celle réalisée en unilatéral droit et celle réalisée en bilatéral. La première est intéressante puisqu'elle présente des effets indésirables moindres, notamment au niveau de l'amnésie rétrograde (Harold A. Sackeim et al., 2007). Il était initialement admis que les ECT en bilatéral était plus efficaces que ceux en unilatéral (Geddes & et al., 2003), mais il a été démontré que les ECT en unilatéral à forte dose permettent de

maintenir l'efficacité clinique tout en entraînant une amnésie rétrograde moindre, même pendant la période qui suit immédiatement le traitement (Mutz et al., 2019; Harold A. Sackeim et al., 2007). La stimulation thérapeutique est réalisée à un seuil de 2 (en bilatéral) à 7 fois (en unilatéral) supérieur au seuil épiléptogène.

## **B. Mécanisme d'action : hypothèses actuelles**

Le mécanisme d'action des ECT est encore mal connu. Un grand nombre d'études, notamment chez le rongeur ou le singe (on parle alors d'ECS), ont néanmoins permis d'explorer plusieurs hypothèses.

La première monoaminergique, évoque que l'ECT agit en augmentant la transmission de la plupart des amines cérébrales et en modifiant la sensibilité de leurs récepteurs (Bajbouj et al., 2006; Heninger, Delgado, & Charney, 1996; Pflieger et al., 2003).

La seconde théorie est neuroendocrinienne et suggère que la stimulation cérébrale électrique serait à l'origine d'un relargage hypothalamo-hypophysaire de prolactine, de thyrostimuline et d'hormone adrénocorticotrope et que l'imprégnation cérébrale par ces substances serait à l'origine de l'action antidépressive (Bolwig, 2011; Kamil & Joffe, 1991; Singh & Kar, 2017).

La théorie anti-convulsivante part du principe qu'une augmentation du seuil épiléptogène par le biais de l'ECT aurait un effet antidépresseur (Bolwig, 2011; H. A. Sackeim, 1999; Singh & Kar, 2017).

Enfin, l'hypothèse d'une modulation de la plasticité cérébrale, (Bolwig, 2011; Singh & Kar, 2017) et plus particulièrement de la neurogénèse adulte, a plus récemment été avancée. Chez l'Homme, les ECT entraînent une augmentation de l'épaisseur corticale dans différentes zones cérébrales et notamment dans l'hippocampe, en particulier dans le gyrus denté de l'hippocampe (Cano et al., 2017; Lucassen, Stumpel, Wang, & Aronica, 2010; Nuninga et al., 2019; Rotheneichner et al., 2014), cela a été en particulier montré dans une étude récente

(Nuninga et al., 2019) en IRM anatomique 7 teslas (permettant une investigation précise de l'hippocampe), où cette augmentation de volume était corrélée à l'amélioration clinique.

## II. Neurogénèse adulte

Nous avons émis l'hypothèse que les ECS augmentaient la neurogénèse adulte car plusieurs études convergent en ce sens.

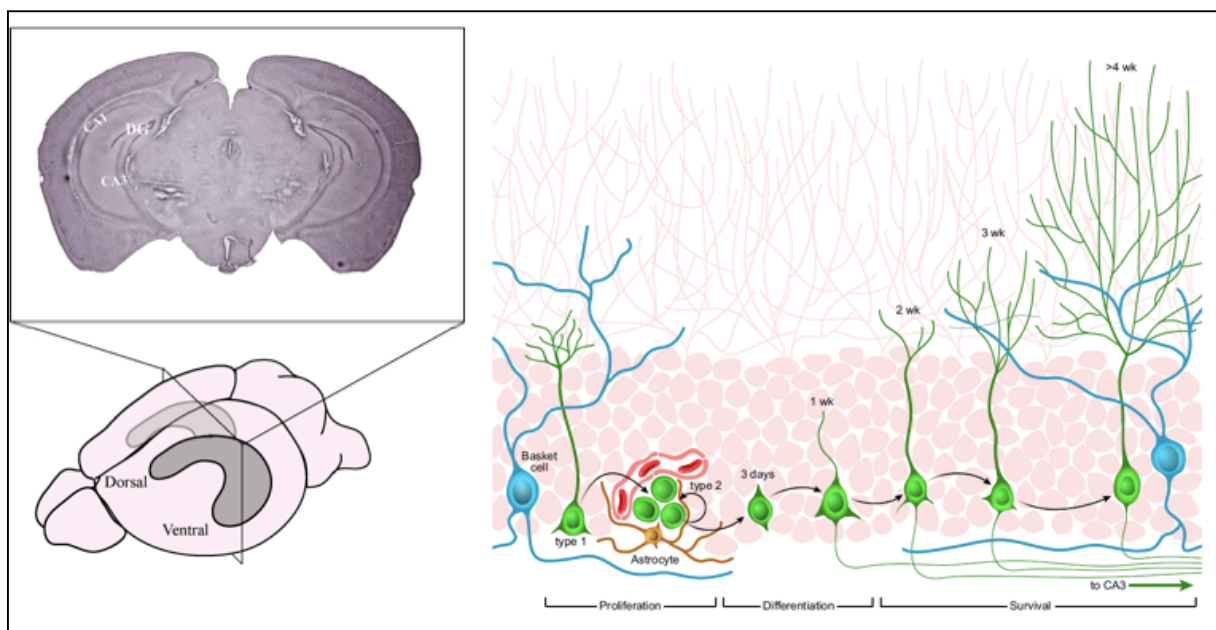
La neurogénèse adulte correspond au processus par lequel de nouveaux neurones fonctionnels sont générés à partir de progéniteurs neuronaux. Elle a lieu chez de nombreuses espèces de mammifères. La neurogénèse peut être divisée en trois phases : la prolifération, la migration et la différenciation/intégration (Abrous, Koehl, & Le Moal, 2005).

Elle se produit habituellement dans deux zones spécifiques chez l'adulte, la zone sous-granulaire (SGZ) du gyrus denté de l'hippocampe et la zone sous-ventriculaire des ventricules latéraux, et dans ces niches neurogènes, les cellules souches neurales peuvent se diviser (Rotheneichner et al., 2014). Les neuroblastes provenant de la zone sous-ventriculaire migrent sur une longue distance le long de la Rostral Migratory Stream pour arriver dans le bulbe olfactif et former des interneurones. Les neuroblastes provenant de la zone sous-granulaire de l'hippocampe migrent sur une courte distance jusque dans la partie interne de la couche granulaire du gyrus denté, pour finalement devenir des neurones granulaires (Abrous et al., 2005). Ce type de neurogénèse est celui étudié dans le cadre des études sur les ECS.

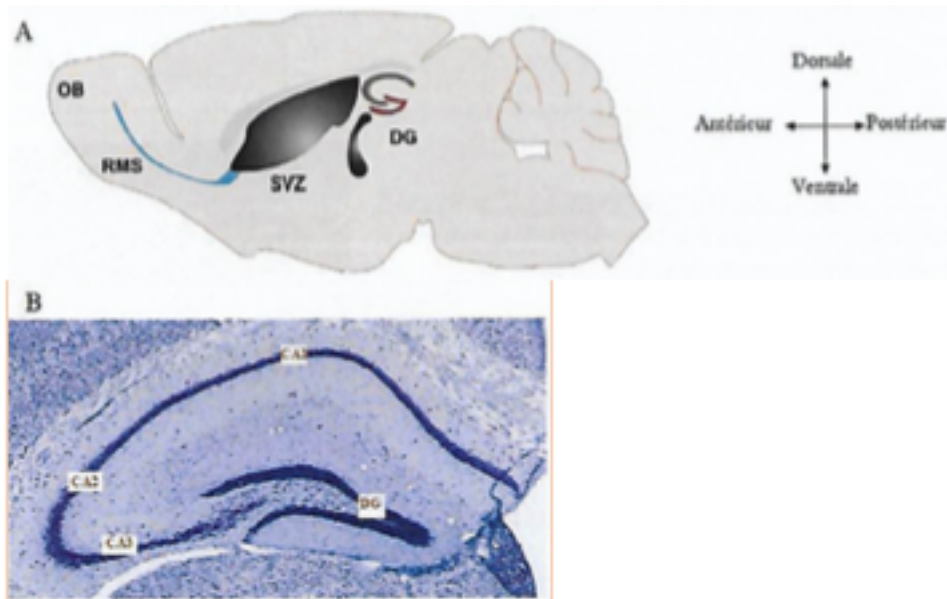
L'hippocampe est une structure temporale médiale située sous le gyrus parahippocampique. Il est divisé en plusieurs parties (*figure 2*), le gyrus denté (DG) qui correspond à l'entrée dans l'hippocampe, la corne d'Ammon (CA) divisée en 4 sous-parties, CA 1-4, et le subiculum qui est la région de sortie de l'hippocampe. L'hippocampe joue un rôle majeur dans la mémoire et l'apprentissage.

Au niveau de la zone sous-granulaire, les progéniteurs neuronaux suivent différentes étapes de développement : la prolifération, la différenciation, la survie, la migration, la maturation et l'intégration, afin de devenir des neurones fonctionnels (*figure 1*). Chez les souris, le temps depuis la prolifération jusqu'à l'intégration des neurones nouvellement créés est de 28 jours (Abrous et al., 2005).

Les épisodes dépressifs caractérisés réduisent fortement le potentiel de plasticité de l'hippocampe (Lucassen et al., 2010). D'après la littérature, la neurogénèse adulte hippocampale est réduite chez l'humain dans les épisodes dépressifs caractérisés (Apple, Fonseca, & Kokovay, 2017; David et al., 2009; Miller & Hen, 2015), et également dans la plupart des modèles animaux de dépression.



*Figure 1 : Neurogénèse adulte hippocampique*  
Tiré de Aimone et al. 2014 (Aimone et al., 2014)



*Figure 2 : Hippocampe de souris*

*(A) Schéma d'un plan sagittal d'un cerveau de souris*

*SVZ : zone sous-ventriculaire*

*DG : gyrus denté*

*(B) Photo d'une coupe coronale d'un hippocampe de souris avec une coloration de Nilss*

*CA : corne d'Ammon*

*DG : gyrus denté*

### III. Stimulation électro-convulsive (ECS)

Afin d'identifier les mécanismes responsables des effets thérapeutiques des ECT, des modèles animaux ont été développés car les effets biologiques des ECT sont difficilement étudiables chez l'Homme. Pour cette raison, il a été nécessaire de créer des modèles animaux semblables à la dépression. Chez l'animal, les ECT sont appelés stimulation électro-convulsive, soit ECS, ils sont l'équivalent animal des ECT et consistent en une stimulation électrique administrée sur le scalp après avoir anesthésié l'animal.

En 2007, une équipe américaine a étudié l'effet des ECS sur la neurogénèse chez des singes non-humains (Perera et al., 2007). Il a été retrouvé que les ECS augmentaient fortement la prolifération des cellules précurseurs dans la zone subgranulaire du gyrus denté de l'hippocampe des singes. L'augmentation de la neurogénèse a également été démontrée chez

les souris dans le modèle neuroendocrinien de dépression induit par le CORT (Schloesser et al., 2015), chez le rat sauvage dans la zone sous-granulaire du gyrus denté (Nakamura et al., 2013; Segi-Nishida, Warner-Schmidt, & Duman, 2008; Smitha, Roopa, Sagar, Kutty, & Andrade, 2014) et dans le striatum rostro-médial, qui appartient au circuit limbique frontal, donc dans une zone externe à l'hippocampe (Inta et al., 2013). Une étude sur des rats sains (Madsen et al., 2000) retrouve une majoration significative de la neurogénèse dans l'hippocampe après une séance unique d'ECS, et ces neurones ont survécu au moins 3 mois.

Un certain nombre de modifications sont aussi retrouvées après un traitement par ECS. Sur le plan morphologique, des études sur l'arbre dendritique ont été réalisées et retrouvent des modifications. Cet arbre est plus complexe après une cure d'ECS (Yanpallewar, Barrick, Palko, Fulgenzi, & Tessarollo, 2012) avec notamment une augmentation de la maturation synaptique et de la densité des épines (Chen, Madsen, Wegener, & Nyengaard, 2009; Zhao, Warner-Schmidt, Duman, & Gage, 2012).

Sur le plan moléculaire, des variations de la neurotransmission glutamatergique et GABA-ergique sont notées après les ECS chez des rats sains (Rowley, Marsden, & Martin, 1997). Il y a initialement une augmentation transitoire du GABA et du glutamate puis une diminution du taux de ces 2 neurotransmetteurs. Par la suite, le taux de glutamate est augmenté par rapport à son niveau de base tandis que la diminution du taux de GABA était prolongée.

Dans une étude menée sur le rat, où seule la cure initiale a été étudiée (Nakamura et al., 2013), il est noté une mort cellulaire neuronale de la moitié des neurones générés, antérieurement à 14 jours. Cela amène donc à se questionner sur le mécanisme d'action des ECS puisque l'effet bénéfique sur la majoration de la neurogénèse ne perdure pas dans le temps après une cure initiale seule.

Par ailleurs, la plupart de ces études ont été menées sur des animaux sauvages, ne présentant donc pas de symptomatologie psychiatrique, pour lesquels l'effet biologique induit

par les ECS pourrait ne pas être similaire chez un animal malade. Notre étude a été réalisée sur un modèle animal de symptomatologie psychiatrique, la souris MAP6-KO.

## **IV. Les souris MAP6-KO**

Le modèle de souris MAP6-KO fournit un modèle animal de troubles psychiatriques : ce sont des souris qui ont été invalidées pour la protéine MAP6 (microtubule associated protein 6). Dans le système nerveux central, cette protéine associée aux microtubules est exprimée à des niveaux élevés et est cruciale pour le développement des capacités cognitives. Les protéines MAP6 (Microtubules Associated Protein 6), également nommées STOP (Stable Tubule Only Polypeptide), sont codées à partir d'un gène unique à partir duquel plusieurs isoformes sont obtenus par un épissage alternatif (Bosc, Andrieux, & Job, 2003). Les microtubules jouent un rôle dans la division cellulaire, la morphogénèse, le maintien de l'architecture cellulaire et le transport vésiculaire. Les microtubules sont des structures avec une importante plasticité qui est régulée par des protéines associées, les Microtubules Associated Protein.

Chez les souris MAP6-KO, des modifications de l'architecture cérébrale ont été observées avec notamment une altération de certains tracts neuronaux, l'altération du volume de structures corticales et sous-corticales (Deloulme et al., 2015). Sur le plan comportemental, ces animaux présentent de façon constitutive certains aspects d'un épisode dépressif caractérisés tels que le retrait social et une majoration de l'agressivité (Andrieux et al., 2002; Bégou et al., 2008; Volle et al., 2013), de l'anhédonie (chez l'humain, cela correspond à un déficit de la capacité à ressentir du plaisir, caractérisée chez la souris par la diminution de la consommation de fluide et nourriture agréables) (Fournet, Lavilléon, et al., 2012) et un syndrome amotivationnel (Fournet et al., 2010; Fournet, Lavilléon, et al., 2012; Fournet, Schweitzer, et al., 2012). Elles présentent également une altération des capacités cognitives (altération des performances d'apprentissage, défaut de mémoire de travail spatiale, de la mémoire à court et

long terme et de la mémoire sociale) (Bégou et al., 2008). L'anxiété est également nettement majorée chez les souris MAP6-KO. Ces défauts comportementaux sont associés à des différences sur le plan biologique, cela inclut une diminution de la neurogénèse (Fournet et al., 2010), un défaut de plasticité synaptique dans l'hippocampe (Andrieux et al., 2002; Delotterie et al., 2009) et une altération des systèmes de neurotransmission (Andrieux et al., 2002; Brenner, Sonnewald, Schweitzer, Andrieux, & Nehlig, 2007; Brun et al., 2005; Fournet et al., 2010). Elles présentent des améliorations après l'administration d'antidépresseurs et d'antipsychotiques (Fournet et al., 2010).

Au total, toutes les caractéristiques comportementales, biologiques et de réponse aux traitements montrent que les souris MAP6-KO sont un modèle pertinent pour l'étude des troubles psychiatriques.

## **V. Situation du sujet**

Des études antérieures ont été menées par l'équipe du Dr Andrieux de l'institut des neurosciences de Grenoble sur le modèle de souris MAP6-KO en cure initiale (Jonckheere et al., 2018). Sur le plan comportemental, il était retrouvé que le traitement en cure initiale permettait d'améliorer significativement les symptômes de la lignée dépressive et anxieuse en post-ECS immédiat.

Il a également été observé que le traitement par ECS n'altérait pas le profil protéomique. Aucune différence significative n'a été retrouvée après le traitement par ECS hormis des modifications mineures de niveau d'expression de certaines protéines. Ces résultats ont donc orienté la suite de la recherche sur les effets neurogéniques des ECS.

La prolifération des progéniteurs chez les souris MAP6-KO après traitement ECS versus Sham (équivalent à un groupe contrôle, ayant exactement le même protocole mais sans administration de stimulation électrique) a été étudiée et retrouve que les ECS augmentent la



prolifération des progéniteurs de l'hippocampe et déclenchent leur différenciation pour former des neuroblastes (neurones immatures). Il a également été retrouvé que les ECS améliorent l'expression du facteur trophique BDNF, facteur de croissance supportant la neurogénèse de l'hippocampe.

La prolifération de progéniteurs neuronaux induite par le traitement par ECS ne peut pas expliquer l'amélioration rapide du comportement observée à partir de J1 après traitement, car chez les souris, il faudrait 4 semaines pour que les progéniteurs se différencient avant de contribuer activement aux fonctions neuronales. L'étude des ECS en cure initiale a montré une amélioration importante de la survie et de l'intégration des neurones en prolifération spontanée dans l'hippocampe avant la cure chez les souris MAP6-KO.

Il a également été retrouvé que le traitement par ECS stimule l'arborisation dendritique et la densité des épines dendritiques matures, améliorant la connectivité des neurones déjà présents avant le traitement par ECS.

L'étude comportementale après traitement par ECS a noté une atténuation de la symptomatologie anxieuse et dépressive des souris MAP6 KO pendant au moins 17 jours après le traitement, mais cet effet s'est estompé par la suite. Parallèlement, la survie neuronale a été étudiée et il a été retrouvé qu'une mort neuronale importante intervenait entre J11 et J40, de façon concomitante à la rechute comportementale. La relation entre la capacité comportementale et les taux de survie des neurones a ensuite été analysée. Il a été constaté que l'amélioration comportementale était en corrélation significative avec la survie des neurones nouvellement créés, cela suggère qu'il y aurait un lien possible entre les effets comportementaux et neurobiologiques de l'ECS.

## **VI. Hypothèses**

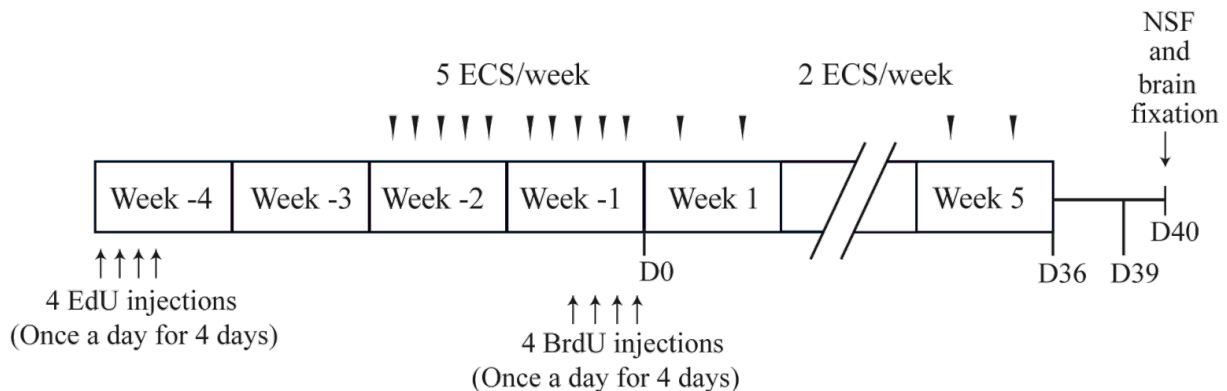
Aucune étude, dans la littérature internationale, ne traite de la neurogénèse adulte et de la survie neuronale dans le cadre de la cure de consolidation des ECS. Nous avons donc voulu nous intéresser à cela, car chez l'Homme, cela est recommandé afin de prévenir une rechute précoce de l'épisode dépressif caractérisé (Gill & Kellner, 2019).

Notre hypothèse était que la cure de consolidation pourrait améliorer la survie neuronale après la neurogénèse induite par les ECS en cure initiale, et pourrait également entraîner une amélioration comportementale.

# Matériel et méthode

## I. Protocole général

Un protocole de cure initiale et cure de consolidation a été réalisé sur des souris MAP6 KO.



*Figure 3 : Protocole d'ECS réalisé avec cure de consolidation*

Une injection d'EdU a été réalisée 4 jours d'affilée à D-28, D-27, D-26 et D-25 afin de marquer les neurones correspondant à la neurogénèse de base, non induite par l'électroconvulsivo-stimulation (ECS). Deux semaines après la première injection d'EdU, la cure initiale a été débutée à raison d'une séance par jour le matin chaque jour de la semaine pour l'ensemble des souris, soit 10 séances au total en 2 semaines. Lors des 3 derniers jours de cure initiale, chaque souris a reçu une injection de BrdU par jour afin de pouvoir différencier la neurogénèse de base, marquée par EdU, et celle induite par les ECS en cure de consolidation. La cure de consolidation a été réalisée pendant 5 semaines à raison de 2 séances par semaine. Ce protocole est expérimental et a été adapté à partir de nos connaissances sur les humains de la cure de consolidation et sur les souris de la cure initiale. Un groupe de souris nommé ECS a reçu chaque stimulation de la cure de consolidation, un autre groupe nommé Sham a bénéficié du même protocole mais sans stimulation électrique durant la cure de consolidation. A l'issue

de la cure de consolidation, les tests comportementaux ont été réalisés puis les souris ont été euthanasiées pour pouvoir procéder à la quantification des cellules marquées BrdU et Edu

## **II. Souris MAP6 KO**

Les souris homozygotes MAP6 KO ont été obtenues en croisant des souris mâles ou femelles hétérozygotes MAP6 sous fond 129SvPas avec des souris mâles ou femelles hétérozygotes MAP6 sous fond C57BL6 (Deloulme et al., 2015).. Les expériences que nous avons menées ont fait l'objet d'une autorisation de projet accepté par le comité local d'éthique animal et validé par le ministère de la recherche (numéro d'agrément APAFIS 8303-2016060110523424) en accord avec la directive européenne (directive 2010/63/EU). Toutes les précautions ont été prises pour minimiser le stress et le nombre d'animaux utilisés pour chaque expérience.

## **III. Electro-convulsivo-stimulation (ECS)**

Le traitement par ECS initial consistait en 10 séances d'ECS dispensées à l'aide d'un générateur Ugo Basile (modèle 57800) sur une période de 12 jours (J1-5 et J8-12). Les souris ont été anesthésiées à l'aide d'isoflurane avant l'administration d'ECS par des électrodes à clips auriculaires bilatéraux. Cela permet d'administrer un courant électrique selon les paramètres pré-définis. Cela induit chez la souris une crise tonico-clonique qui nous permet de visualiser la durée de la crise.

Des expériences de titration du seuil épiléptogène ont été effectuées avec des souris MAP6 KO pour déterminer le seuil de crises (crises de plus de 10 secondes). L'énergie de stimulation a ensuite été doublée, comme chez l'Homme, afin d'obtenir une stimulation thérapeutique, avec

les paramètres suivants : fréquence 120Hz, largeur d'impulsion 0.5ms, durée totale de stimulation 2s, courant 20mA. Le protocole de consolidation consistait en 10 sessions d'ECS sur une période de 5 semaines (2 séances d'ECS / semaine) après le traitement initial par ECS. Les animaux contrôles (sham) ont été traités de la même manière, mais aucune stimulation électrique n'a été délivrée.

## **IV. Test comportemental : Novelty suppressed feeding test (NFS)**

LE NSF est un test d'anxiété couramment utilisé pour estimer l'efficacité d'anti-dépresseurs chez la souris. Il est basé sur un conflit entre la motivation à aller manger et la peur d'entrer dans une zone anxieuse. (David et al., 2009; Santarelli et al., 2003). Les animaux sont privés de nourriture dans leur cage de résidence pendant 20h avant d'effectuer le test. Durant le test, une croquette de nourriture est placée sur une plateforme en papier blanc (8cm X 8 cm) fortement éclairée (zone très anxieuse pour la souris), située au centre d'une cage en plastique (largeur 37cm, longueur 57cm, hauteur 20cm) où le sol est recouvert d'environ 2cm de litière. L'animal est placé dans un coin de cette cage en début d'expérimentation, puis la latence à manger est mesurée. Le test est effectué pendant un temps maximum de 15 minutes.

## **V. Marquages BrdU et EdU**

L'EdU (5-ethynyl-2'-desoxyuridine) et le BrdU (5-bromo-2'-desoxyuridine) sont des intercalants de l'ADN qui se fixent sur l'ADN au cours de la prolifération et qui permettent donc la révélation des cellules en prolifération (Nowakowski, Lewin, & Miller, 1989). (Jonckheere et al., 2018). EdU est un dérivé de BrdU, seul un groupement a été modifié sur EdU pour permettre sa détection mais l'anticorps anti-BrdU reconnaît l'EdU.

Afin d'étudier la survie neuronale après la cure de consolidation, chaque souris a reçu une injection d'EdU à la dose de 50 mg/kg deux semaines avant le début du traitement en cure initiale par ECS une fois par jour pendant 4 jours, afin de marquer les cellules en prolifération avant la cure initiale d'ECS. Elles ont ensuite reçu une injection de BrdU à la dose de 100 mg/kg une fois par jour pendant les 4 derniers jours de cure initiale afin de marquer les cellules en prolifération après la cure initiale.

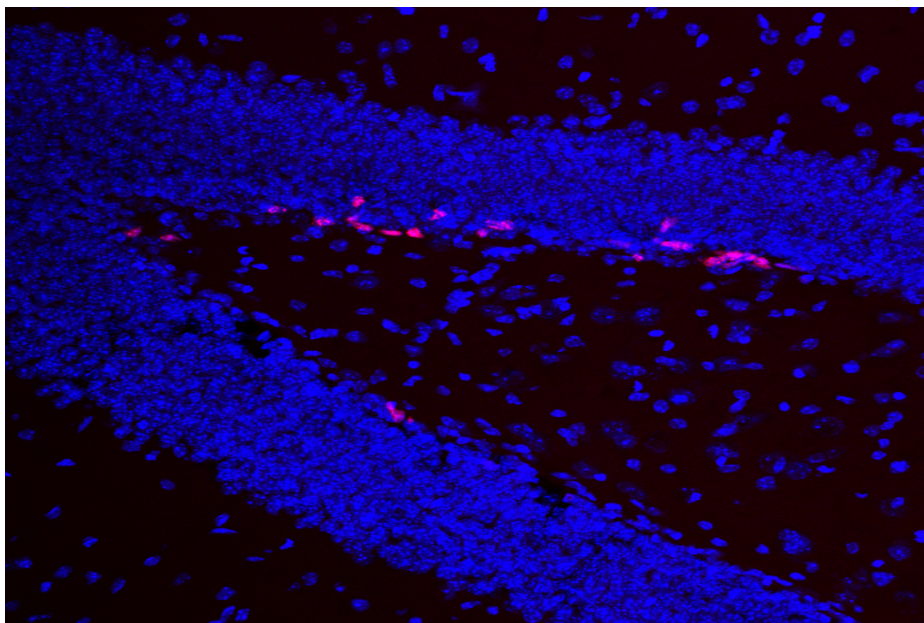
A la fin du traitement (cure initiale + consolidation) les souris ont été anesthésiées puis euthanasiées par perfusion transcardiaque de paraformaldehyde 4% (PFA 4%). Les cerveaux ont ensuite été prélevés et post fixés pendant 15h en PFA 4% puis cryoprotégés dans du sucrose et enfin congelés dans de l'isopentane à -80°C. Chaque cerveau a par la suite été découpé en coupes flottantes coronales de 40 mm.

Pour la révélation EdU, les coupes ont été perméabilisées pendant 2 heures dans un tampon gélatine (PBS, 0,2% de gélatine, 0,5% de Triton X100, 0,1% de saponine). Elles ont ensuite été rincées dans du PBS. Les cellules marquées par l'EdU ont été visualisées après une réaction chimique de 30 minutes dans l'obscurité (tampon Tris 2 M à 5% pH 7, 80,9% H<sub>2</sub>O, 4% CuSO<sub>4</sub> 100mM, 0,1% Cyanine 3 Azide 1mM, 10% acide ascorbique 1M) qui permet d'accrocher un fluorochrome (la Cyanine 3) sur l'EdU. Un nouveau lavage par tampon gélatine a été réalisé puis un lavage PBS avant de monter les lames avec du Dako.

Pour la révélation de la BrdU, les coupes ont subi un démasquage dans de l'HCl 2N à 37°C pendant 1 heure. Elles ont ensuite été rincées dans un tampon Borate afin de neutraliser l'acide chlorhydrique. Un rinçage a ensuite été effectué dans du PBS, suivit d'une étape de perméabilisation dans un tampon gélatine pendant 2h avant d'incuber avec l'anticorps primaire pendant une nuit (dilution 1/500 rat AbC 117-7513) dans le tampon gélatine. Les coupes ont ensuite été lavées dans le tampon gélatine puis incubées avec l'anticorps secondaire anti-rat Cy3 au 1/500<sup>ème</sup> dans le tampon gélatine pendant 1h sous agitation dans l'obscurité. Elles ont ensuite été lavées dans du tampon gélatine puis dans du PBS avant d'être montées sur des lames.

Les marquages EdU et BrdU ont été observé au microscope (Zeiss axioskop). Les noyaux marqués par BrdU ou EdU ont été comptés dans le gyrus denté toutes les 4 sections sur toute l'étendue rostro-caudale de l'hippocampe. Comme les anticorps anti-BrdU

reconnaissaient également les cellules EdU positives, le nombre de cellules EdU a été soustrait du nombre de cellules BrdU afin de déterminer le nombre réel de cellules BrdU marquées.



*Photo 1 : Marquage EdU au niveau de l'hippocampe*

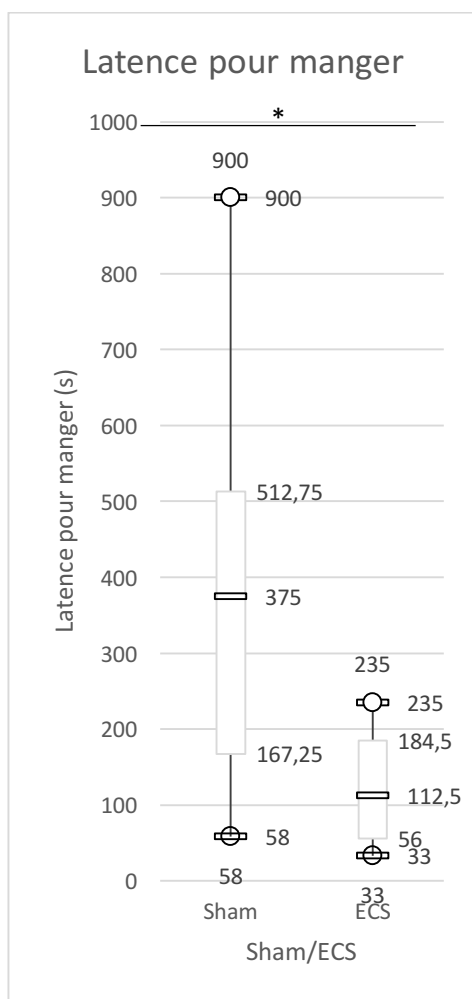
## **VI. Analyses statistiques**

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R. Des tests non paramétriques unilatéraux de Mann-Whitney ont été réalisés car seule l'amélioration était recherchée. Les figures ont été réalisées à l'aide de Microsoft Excel Software 2015. Le choix de ce type de test a été fait sur la base des résultats antérieurs obtenus avec les souris MAP6 KO par rapport aux souris sauvages (Brocard et al., 2017; Volle et al., 2013).

# Résultats

## I. Tests comportementaux

Pour les tests comportementaux, 20 souris ont été incluses, 10 dans le groupe Sham et 10 dans le groupe ECS. Une souris a été exclue du groupe ECS car elle était blessée et passait beaucoup de temps à lécher sa blessure ce qui pouvait modifier son comportement. Ce test a été réalisé 4 jours après la fin du protocole.



*Figure 3 : Test comportemental Novelty Suppressed feeding*

*Comparaison du temps de latence avant d'aller chercher la nourriture des souris MAP6-KO entre Sham et traitées par ECS*

*ECS : n=10*

*Sham : n=10*

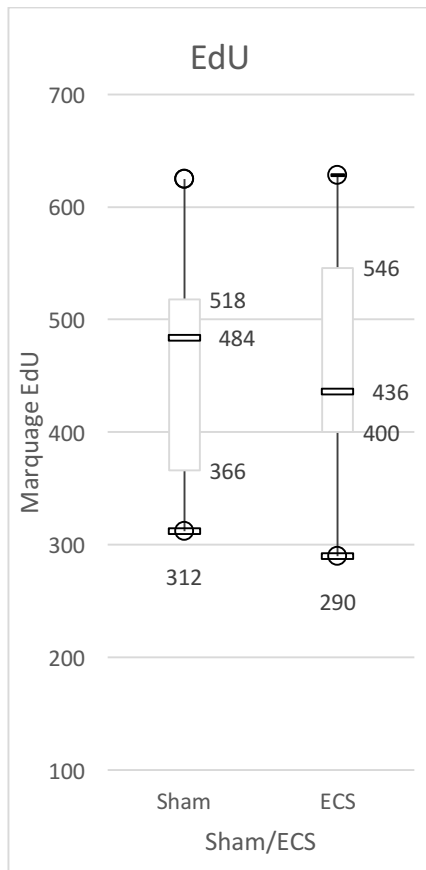
*\* :  $p < 0,05$ , test de Mann-Whitney unilatéral*



Les souris Sham, qui ont reçu une cure initiale d'ECS mais pas de cure de consolidation, 5 semaines après la fin de la cure initiale, présentent une latence plus importante dans ce test que les souris ECS (médiane 375, n=10 versus 112,5, n=10 pour les souris ECS, \*p=0,01 avec test de Mann-Whitney, moyenne  $\pm$  Standard Erreur Moyenne  $387,6 \pm 83,7$  versus  $122,6 \pm 21,9$  pour les souris ECS, Fig 3). Le protocole ECS en cure de consolidation a permis de maintenir l'amélioration comportementale.

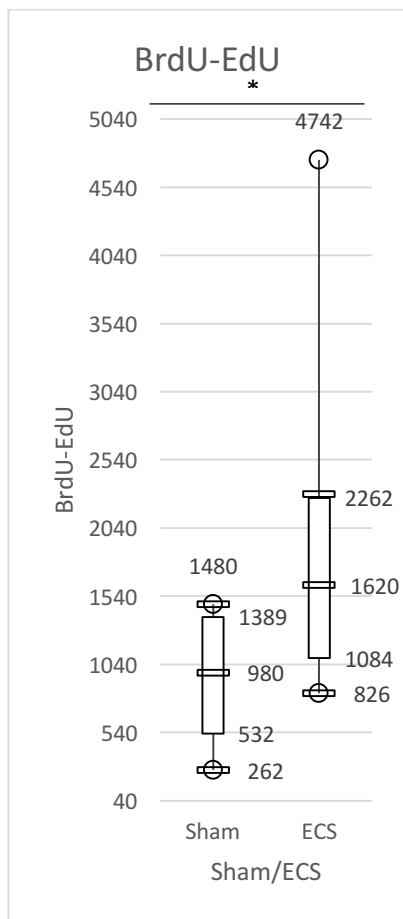
## **II. Etude de la survie neuronale après protocole de consolidation**

Pour déterminer l'effet du protocole de consolidation sur la survie des neurones créés par les ECS en cure initiale, deux groupes de neurones ont été marqués, avec d'abord, les neurones en prolifération spontanée, 4 semaines avant la fin du traitement initial par ECS (marquage EdU), et ensuite, les neurones en prolifération à la fin du traitement initial (marquage BrdU) (Fig. 1). Cela nous a permis de mesurer la survie des neurones nouvellement créés après la cure initiale grâce à la cure de consolidation. A J40 après la fin du traitement initial par ECS, le nombre de cellules EdU et BrdU chez les souris traitées avec ECS et Sham a été déterminé pour l'hippocampe entier. Le nombre de cellules positives pour EdU (neurones nés spontanément 9 semaines avant le comptage) n'était pas significativement différent entre les souris traitées par ECS et par Sham (Fig. 4).



*Figure 4 : Nombre de cellules positives pour EdU dans l'hippocampe à J4 après le traitement de consolidation (n=9 pour les souris ECS-Sham et les souris ECS-ECS)*

L'analyse du nombre de neurones marqués en BrdU moins ceux marqués en EdU retrouve une différence significative avec des neurones plus nombreux chez les souris ECS (Médiane 1620, Moyenne  $\pm$  S.E.M.  $1944,4 \pm 396,2$ , n=9) que chez les souris Sham (Médiane 980, moyenne  $\pm$  S.E.M.  $944,3 \pm 152,1$ , n=9) (test de Mann-Whitney unilatéral \*p=0,02) (Fig. 5).



*Figure 5 : Différence entre le nombre de neurones marqués BrdU moins ceux marqués EdU, soit la différence entre le nombre de neurones créés spontanément avant la cure initiale et la survie 5 semaines après la cure initiale des neurones nouvellement créés*  
 Test de Mann-Whitney unilatéral, \* $p=0,02$   
 $n=9$  dans chaque groupe

# Discussion

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'effet d'une cure de consolidation d'ECS sur le comportement et sur la neurogénèse adulte hippocampale sur des souris MAP6-KO. Cette étude est une première mondiale car la cure de consolidation n'a jamais été étudiée antérieurement chez l'animal.

Les résultats de notre étude montrent qu'une cure de consolidation permet une amélioration de la survie des neurones produits au cours de la cure initiale d'ECS ainsi qu'une amélioration sur le plan comportemental. En effet, en réalisant deux stimulations par semaine pendant 5 semaines après le traitement initial par ECS, nous avons réussi à prévenir une rechute comportementale et nous avons pu observer une survie prolongée des neurones créés durant la cure initiale. Nos données sont compatibles avec l'hypothèse selon laquelle le traitement initial par ECS favoriserait la prolifération des progéniteurs et la survie des neurones nés avant le traitement par ECS, tandis que le protocole de consolidation permettrait la survie des neurones nés pendant le traitement initial par ECS.

L'application de ces résultats à l'Homme est entravée par plusieurs limitations. La méthode par laquelle les ECS sont administrés aux souris peut produire des effets biologiques et comportementaux bien distincts de ceux induits par l'ECT, la distribution du courant pouvant être différente en raison de l'emplacement des électrodes ainsi que de la durée et l'intensité de la stimulation. En outre, contrairement aux études sur l'Homme, nous n'avons pas pris en compte le seuil de crise pour chaque animal afin d'adapter l'intensité de la stimulation en conséquence. Chez l'Homme, dans la plupart des centres de référence réalisant des ECT, une titration est réalisée afin de trouver les variables adaptées à chaque patient, puis la stimulation réalisée est 7 fois supérieure au seuil épiléptogène lors des cures unilatérales et 2 fois supérieure

pour les cures bilatérales. Nous avons réalisé une stimulation 2 fois supérieure au seuil épileptogène moyen des souris MAP6-KO.

Bien évidemment, l'anatomie du cerveau de la souris est différente de celle de l'humain et la proportion de la taille de l'hippocampe est supérieur chez la souris par rapport à l'Homme.

L'existence d'une neurogenèse adulte est chez l'Homme actuellement sujet à controverse (Boldrini et al., 2018; Sorrells et al., 2018). Les résultats présentés ici impliqueraient une neurogenèse adulte dans l'efficacité des ECT, qui serait associée à une augmentation du volume de l'hippocampe qui est observée après un traitement par ECT chez l'être humain (Joshi et al., 2016). Par ailleurs, une étude récente en IRM anatomique 7 teslas (Nuninga et al., 2019) retrouvait une augmentation spécifique du volume du gyrus denté de l'hippocampe, ce qui soutient la théorie d'une neurogénèse, puisque les autres sous-champs de l'hippocampe qui sont concernés par l'angiogénèse et la synaptogénèse n'étaient pas modifiés. Une étude publiée en 2019 (Moreno-Jiménez et al., 2019) dans *Nature* vient également soutenir l'existence d'une neurogénèse adulte chez l'Homme, y compris chez le sujet très âgé. Cette étude, dont la méthodologie est très rigoureuse, montre que la neurogénèse adulte chez l'Homme se déroule dans le gyrus denté de l'hippocampe et suit le même processus de maturation que celui observé chez d'autres mammifères. Cette dernière étude soutient donc la présence d'une neurogénèse chez l'Homme adulte.

Dans notre modèle, comme chez l'Homme (Gill & Kellner, 2019; Jonckheere et al., 2018; Trevino, McClintock, & Husain, 2010), une rechute comportementale a été observée plusieurs semaines après la fin du traitement par ECS en cure initiale. De plus, en parallèle de cette rechute, la perte des neurones récemment intégrés est retrouvée. Il a été montré antérieurement à cette étude par l'équipe du Dr Andrieux (Jonckheere et al., 2018) que la cure initiale d'ECS permettait une diminution de la symptomatologie anxieuse et dépressive chez

les souris MAP6-KO pendant au moins 17 jours après la cure mais qu'une rechute était constatée par la suite. Un lien avec la mort neuronale a été suggéré, puisqu'il a été constaté que, si les neurones créés présentaient une meilleure survie après la cure initiale d'ECS par rapport aux souris Sham, la plupart de ces neurones mourraient entre 18 et 40 jours après la cure, soit au moment de la rechute comportementale. Il était donc intéressant d'analyser les effets de la cure de consolidation, qui permet une prévention des rechutes chez l'Homme, sur les neurones générés par la cure initiale. Le traitement par ECS en cure initiale ne semble pas augmenter la longévité des neurones nouvellement générés. La rechute comportementale se produit même si le pool de progéniteurs a été augmenté pendant le traitement par ECS, indiquant un possible échec d'intégration. Chez l'Homme, la cure de consolidation permet de maintenir la rémission et d'éviter les rechutes d'un épisode dépressif caractérisé (Gill & Kellner, 2019; Petrides, Tobias, Kellner, & Rudorfer, 2011). Le protocole de consolidation que nous avons mis au point chez la souris, n'avait jusqu'alors jamais été réalisé, et nous a permis de vérifier que l'effet bénéfique sur le plan comportemental chez l'Homme était également présent chez la souris, et d'analyser ce qu'il en était sur le plan neuronal au cours de la cure de consolidation. Lorsque ce protocole a été créé, nous ne connaissions pas les effets de la cure de consolidation sur le comportement ni sur la neurogénèse, et nous ne savions pas sur quel groupe de neurones créés cela allait agir (ceux créés avant la cure initiale ou ceux créés pendant la cure initiale). Nous avons retrouvé que la cure de consolidation permettait de maintenir l'amélioration comportementale qui disparaissait avec une cure initiale seule au delà de 17 jours.

Pour déterminer si la survie accrue des neurones de l'hippocampe pouvait être une conséquence générale du traitement par ECS et non uniquement sur le modèle de souris MAP6-KO, l'équipe du Dr Andrieux (Jonckheere et al., 2018) a analysé la survie des neurones dans la dépression induite par la cortisone chez les souris (CORT) après une cure initiale d'ECS. Les souris CORT constituent un modèle de dépression neuroendocrine connu pour répondre

positivement au traitement par ECS. Les cellules en prolifération ont été marquées 4 semaines avant la fin du traitement en cure initiale par ECS. A la fin du traitement, ces cellules marquées ont été comptées, elles correspondaient à l'ensemble des cellules nouvellement créées ayant atteint la maturité. Les ECS en cure initiale ont fortement amélioré la survie et l'intégration des neurones produits spontanément dans l'hippocampe de souris traitées par CORT, de façon similaire à ceux des souris MAP6-KO. Cela suggère que les effets induits par les ECS ne sont pas propres au modèle MAP6-KO de dépression endogène de la souris mais sont observables dans les dépressions induites également.

Dans la littérature internationale, des recherches ayant impliquées l'ablation de progéniteurs neuronaux dans des modèles animaux indiquent qu'une neurogénèse active est nécessaire à l'efficacité des ECS (David et al., 2009; Schloesser et al., 2015). La prolifération des progéniteurs neuronaux est accrue après le traitement par ECS dans plusieurs modèles animaux de dépression (Ekstrand & et al., 2008; Schloesser et al., 2015). Cela laisse entendre que si la neurogénèse adulte est inhibée, les effets bénéfiques des ECS ne sont plus retrouvés, et ce quel que soit le modèle animal de dépression (constitutionnelle ou induite).

La dépression chez l'Homme n'induit pas exclusivement des modifications hippocampales. L'implication de structures cérébrales supplémentaires, telles que l'amygdale, le cortex préfrontal, le striatum et le thalamus, a été bien documentée dans des études révélant des anomalies structurelles et des déséquilibres des neurotransmetteurs (Ernst et al., 2014; Inta et al., 2013). L'ECT est susceptible d'agir sur de nombreuses structures cérébrales, et pas uniquement sur l'hippocampe, en stimulant éventuellement leur plasticité neuronale. Cela ouvre donc de nouvelles pistes de recherche pour la compréhension du mécanisme d'action des ECS.

Ces nouvelles données nous permettent de proposer un calendrier pour l'action des ECS. L'effet bénéfique observé immédiatement après le traitement par ECS pourrait être principalement dû à une survie accrue et à l'intégration de neurones produits spontanément avant le traitement, associé à une augmentation rapide de la connectivité neuronale globale (Jonckheere et al., 2018). Le protocole de consolidation permet d'éliminer le risque de rechute comportementale précoce et nous faisons l'hypothèse que cela pourrait être en lien avec l'intégration continue de nouveaux neurones et à l'amélioration de la survie neuronale que nous avons observées dans notre étude. L'effet bénéfique sur le comportement pourrait être induit par l'intégration des nouveaux neurones et non par la prolifération neuronale. Par rapport aux traitements pharmacologiques, y compris les antidépresseurs et les antipsychotiques connus pour augmenter la prolifération neuronale (Encinas, Vaahtokari, & Enikolopov, 2006; Keilhoff, Grecksch, Bernstein, Roskoden, & Becker, 2010; O'Leary & Cryan, 2014; Xue et al., 2017), l'effet plus rapide des ECS pourrait donc être dû à l'intégration accrue des neurones qui serait propre l'effet des ECS. En effet, pour obtenir un effet pharmacologique, il faudrait qu'au moment de la prolifération, le pool accru de neurones néoformés soit intégré pour qu'une répercussion comportementale puisse être observée. Cependant, ce processus prend 28 jours chez la souris, ce qui pourrait expliquer l'effet comportemental retardé avec les traitements pharmacologiques. Les ECS, quant à eux, stimulent la neurogénèse, et donc la création de ce pool de neurones en 28 jours, mais agissent également sur les neurones déjà formés en cours d'intégration afin d'augmenter leur survie, ce qui permettrait d'obtenir un effet plus rapide observé sur le plan comportemental.

En condition clinique chez l'humain, les ECT sont souvent administrées aux patients parallèlement à des traitements pharmacologiques, et les protocoles de consolidation associent les ECT à une dose maximale d'antidépresseurs pour prévenir les rechutes (Ernst et al., 2014). Peu d'études randomisées décrivent, chez l'Homme, l'association d'ECT et de traitements



pharmacologiques (Kellner & al., 2016b, 2016a; McGirr et al., 2017; Prudic et al., 2013; H. A. Sackeim, 1999). Ce manque de données provient très probablement de la difficulté à recruter des cohortes de patients suffisamment importantes. Les études publiées concernent principalement la venlafaxine, le lithium ou la kétamine (Kellner & al., 2016b, 2016a; McGirr et al., 2017; Prudic et al., 2013; H. A. Sackeim, 1999). Ainsi, notre modèle de souris pourrait être un bon outil pour comparer directement la capacité de plusieurs molécules pharmacologiques à potentialiser le traitement par ECT, en particulier pendant la cure de consolidation. Les ECT constituent un traitement conséquent, nécessitant des anesthésies générales répétées, engendrant des troubles mnésiques comme effet indésirable principal invalidant. La potentialisation de leur action avec un traitement antidépresseur afin d'éviter une rechute lors de l'espacement des séances en cure de consolidation est primordiale. En effet, lorsque les patients présentent une rechute clinique au cours de la cure de consolidation, cela engendre une augmentation du nombre de séances et donc des effets indésirables sur le plan mnésique. L'utilisation d'antidépresseur en parallèle des ECT réduit les taux de rechute de moitié (Milev et al., 2016). Les stratégies de potentialisation actuellement recommandées en parallèle des ECT dans les épisodes dépressifs unipolaires chez l'Homme par le *Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT)* (Milev et al., 2016) sont d'abord d'utiliser un traitement antidépresseur jamais essayé antérieurement. Ces recommandations notent également une preuve claire de la supériorité de l'association nortriptyline et lithium ainsi que venlafaxine et lithium dans les stratégies de potentialisation des ECT. Une étude sur ce modèle animal de souris MAP6-KO d'ECS en cure de consolidation avec une potentialisation avec un traitement pharmacologique par antidépresseurs pourrait donc être hautement bénéfique afin de comprendre les mécanismes d'action en vue d'une application secondaire à l'Homme.

**THÈSE SOUTENUE PAR :** Albane PELLUET

**TITRE :**

EFFICACITE DE LA STIMULATION ELECTRO-CONVULSIVE EN CURE DE CONSOLIDATION DANS UN MODELE ANIMAL DE DEPRESSION, LA SOURIS MAP6-KO : LE RÔLE ESSENTIEL DE LA SURVIE NEURONALE

**CONCLUSION :**

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'effet d'une cure de consolidation de stimulation électro-convulsive sur la neurogénèse adulte hippocampale.

Les résultats de notre étude montrent qu'une cure de consolidation permet une amélioration de la survie des neurones produits au cours de la cure initiale d'ECS et que cela est associé à une amélioration sur le plan comportemental. En effet, en réalisant deux stimulations par semaine pendant 5 semaines après le traitement initial par ECS nous avons réussi à prévenir une rechute comportementale et nous avons pu observer une survie prolongée des neurones créés en cure initiale. Nos données sont compatibles avec l'hypothèse selon laquelle le traitement initial par ECS favorise la prolifération des progéniteurs et favorise la survie des neurones nés avant le traitement par ECS, tandis que le protocole de consolidation permet la survie des neurones créés pendant le traitement initial par ECS. Ces nouvelles données nous permettent de proposer un calendrier pour l'action des ECS.

L'effet bénéfique observé immédiatement après le traitement par ECS peut être principalement dû à une survie accrue et à l'intégration de neurones produits spontanément avant le traitement, associés à une augmentation rapide de la connectivité neuronale globale, car la neurogénèse se produit en 28 jours chez la souris. Le protocole de consolidation permet d'atténuer les défauts de comportement, probablement grâce à l'intégration continue de nouveaux neurones et à l'amélioration de la survie neuronale. Par rapport aux traitements pharmacologiques, y compris les antidépresseurs et les antipsychotiques connus pour augmenter la prolifération neuronale, l'effet plus rapide des ECS est probablement dû à l'intégration accrue des neurones, qui n'est pas déclenchée par un traitement médicamenteux.

En condition clinique chez l'humain, les ECT sont souvent administrés aux patients parallèlement à des traitements pharmacologiques, et les protocoles consolidation associent les ECT à une dose maximale d'antidépresseurs pour prévenir les rechutes. Peu d'études randomisées décrivent l'association d'ECT et de traitements pharmacologiques chez l'Homme. Ainsi, notre modèle de souris pourrait être un bon outil pour comparer directement la capacité de plusieurs molécules pharmacologiques à potentialiser le traitement par ECS, en particulier pendant la cure de consolidation et cela pourrait faire l'objet d'une étude ultérieure.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER  
Grenoble, le : 21/08/19

LE DOYEN

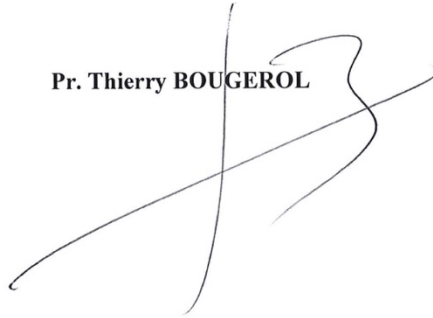
Pour le Président  
et par délégation  
—  
Le Doyen de Médecine  
Pr. Patrice MORAND

Pr. Patrice MORAND



LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Pr. Thierry BOUGEROL



# Bibliographie

- Abrous, D. N., Koehl, M., & Le Moal, M. (2005). Adult neurogenesis : From precursors to network and physiology. *Physiological Reviews*, 85(2), 523-569.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00055.2003>
- Aimone, J. B., Li, Y., Lee, S. W., Clemenson, G. D., Deng, W., & Gage, F. H. (2014). Regulation and function of adult neurogenesis : From genes to cognition. *Physiological Reviews*, 94(4), 991-1026. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2014>
- Andrieux, A., Salin, P. A., Vernet, M., Kujala, P., Baratier, J., Gory-Fauré, S., ... Job, D. (2002). The suppression of brain cold-stable microtubules in mice induces synaptic defects associated with neuroleptic-sensitive behavioral disorders. *Genes & Development*, 16(18), 2350-2364. <https://doi.org/10.1101/gad.223302>
- Apple, D. M., Fonseca, R. S., & Kokovay, E. (2017). The role of adult neurogenesis in psychiatric and cognitive disorders. *Brain Research*, 1655, 270-276.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.01.023>
- Bajbouj, M., Lang, U. E., Niehaus, L., Hellen, F. E., Heuser, I., & Neu, P. (2006). Effects of right unilateral electroconvulsive therapy on motor cortical excitability in depressive patients. *Journal of Psychiatric Research*, 40(4), 322-327.  
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2005.07.002>
- Beck, F. (2012). *Enquête INPES*. (421), 3.
- Bégou, M., Volle, J., Bertrand, J.-B., Brun, P., Job, D., Schweitzer, A., ... Suaud-Chagny, M.-F. (2008). The stop null mice model for schizophrenia displays cognitive and social deficits partly alleviated by neuroleptics. *Neuroscience*, 157(1), 29-39.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.07.080>
- Boldrini, M., Fulmore, C. A., Tartt, A. N., Simeon, L. R., Pavlova, I., Poposka, V., ... Mann, J. J. (2018). Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell*, 22(4), 589-599.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.03.015>
- Bolwig, T. G. (2011). How Does Electroconvulsive Therapy Work? Theories on its Mechanism. *The Canadian Journal of Psychiatry*, 56(1), 13-18.  
<https://doi.org/10.1177/070674371105600104>
- Bosc, C., Andrieux, A., & Job, D. (2003). STOP proteins. *Biochemistry*, 42(42), 12125-12132. <https://doi.org/10.1021/bi0352163>
- Brenner, E., Sonnewald, U., Schweitzer, A., Andrieux, A., & Nehlig, A. (2007). Hypoglutamatergic activity in the STOP knockout mouse : A potential model for chronic untreated schizophrenia. *Journal of Neuroscience Research*, 85(15), 3487-3493. <https://doi.org/10.1002/jnr.21200>
- Brocard, J., Dufour, F., Gory-Fauré, S., Arnoult, C., Bosc, C., Denarier, E., ... Andrieux, A. (2017). MAP6 interacts with Tctex1 and Cav2.2/N-type calcium channels to regulate calcium signalling in neurons. *The European Journal of Neuroscience*, 46(11), 2754-2767. <https://doi.org/10.1111/ejn.13766>
- Brun, P., Bégou, M., Andrieux, A., Mouly-Badina, L., Clerget, M., Schweitzer, A., ... Suaud-Chagny, M.-F. (2005). Dopaminergic transmission in STOP null mice. *Journal of Neurochemistry*, 94(1), 63-73. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03166.x>
- Bryson, E. O., Majeske, M. F., & Meyer, J. P. (2018). Vagally Mediated Postictal Asystole During Electroconvulsive Therapy. *The Journal of ECT*, 34(1), 3-4.  
<https://doi.org/10.1097/YCT.0000000000000472>
- Caire, M. (2019). *Soigner les fous, histoire des traitements médicaux en psychiatrie* (Nouveau

monde).

- Cano, M., Martínez-Zalacáin, I., Bernabéu-Sanz, Á., Contreras-Rodríguez, O., Hernández-Ribas, R., Via, E., ... Soriano-Mas, C. (2017). Brain volumetric and metabolic correlates of electroconvulsive therapy for treatment-resistant depression : A longitudinal neuroimaging study. *Translational Psychiatry*, 7(2), e1023. <https://doi.org/10.1038/tp.2016.267>
- 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. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 19(5), 329-338. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2008.12.007>
- David, D. J., Samuels, B. A., Rainer, Q., Wang, J.-W., Marsteller, D., Mendez, I., ... Hen, R. (2009). Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression. *Neuron*, 62(4), 479-493. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.04.017>
- Delotterie, D., Ruiz, G., Brocard, J., Schweitzer, A., Roucard, C., Roche, Y., ... Andrieux, A. (2009). Chronic administration of atypical antipsychotics improves behavioral and synaptic defects of STOP null mice. *Psychopharmacology*, 208(1), 131. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1712-3>
- Deloulme, J.-C., Gory-Fauré, S., Mauconduit, F., Chauvet, S., Jonckheere, J., Boulan, B., ... Andrieux, A. (2015). Microtubule-associated protein 6 mediates neuronal connectivity through Semaphorin 3E-dependent signalling for axonal growth |. *Nature Communications*, 6, 7246.
- Ekstrand, J., & et al. (2008). Differential inhibition of neurogenesis and angiogenesis by corticosterone in rats stimulated with electroconvulsive seizures. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(6), 1466-1472. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.05.012>
- Encinas, J. M., Vaahtokari, A., & Enikolopov, G. (2006). Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(21), 8233-8238. <https://doi.org/10.1073/pnas.0601992103>
- Ernst, A., Alkass, K., Bernard, S., Salehpour, M., Perl, S., Tisdale, J., ... Frisé, J. (2014). Neurogenesis in the Striatum of the Adult Human Brain. *Cell*, 156(5), 1072-1083. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.01.044>
- Fournet, V., Jany, M., Fabre, V., Chali, F., Orsal, D., Schweitzer, A., ... Martres, M.-P. (2010). The deletion of the microtubule-associated STOP protein affects the serotonergic mouse brain network. *Journal of Neurochemistry*, 115(6), 1579-1594. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07064.x>
- Fournet, V., Lavilléon, G. de, Schweitzer, A., Giros, B., Andrieux, A., & Martres, M.-P. (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. *Journal of Neurochemistry*, 123(6), 982-996. <https://doi.org/10.1111/jnc.12027>
- Fournet, V., Schweitzer, A., Chevarin, C., Deloulme, J.-C., Hamon, M., Giros, B., ... Martres, M.-P. (2012). The deletion of STOP/MAP6 protein in mice triggers highly altered mood and impaired cognitive performances. *Journal of Neurochemistry*, 121(1), 99-114. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07615.x>
- Geddes, J., & et al. (2003). Efficacy and safety of electroconvulsive therapy in depressive disorders : A systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 361(9360), 799-808. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12705-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12705-5)
- Gill, S. P., & Kellner, C. H. (2019). Clinical Practice Recommendations for Continuation and

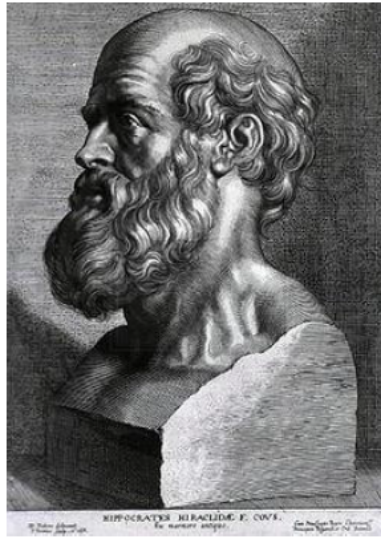
- Maintenance Electroconvulsive Therapy for Depression : Outcomes From a Review of the Evidence and a Consensus Workshop Held in Australia in May 2017. *The Journal of ECT*, 35(1), 14. <https://doi.org/10.1097/YCT.0000000000000484>
- Heninger, G. R., Delgado, P. L., & Charney, D. S. (1996). The revised monoamine theory of depression : A modulatory role for monoamines, based on new findings from monoamine depletion experiments in humans. *Pharmacopsychiatry*, 29(1), 2-11. <https://doi.org/10.1055/s-2007-979535>
- Inta, D., Lima-Ojeda, J. M., Lau, T., Tang, W., Dormann, C., Sprengel, R., ... Gass, P. (2013). Electroconvulsive Therapy Induces Neurogenesis in Frontal Rat Brain Areas. *PLOS ONE*, 8(7), e69869. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069869>
- Jonckheere, J., Deloulme, J.-C., Dall'Igna, G., Chauliac, N., Pelluet, A., Nguon, A.-S., ... Gory-Fauré, S. (2018). Short- and long-term efficacy of electroconvulsive stimulation in animal models of depression : The essential role of neuronal survival. *Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in Neuromodulation*, 11(6), 1336-1347. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.08.001>
- Joshi, S. H., Espinoza, R. T., Pirnia, T., Shi, J., Wang, Y., Ayers, B., ... Narr, K. L. (2016). Structural Plasticity of the Hippocampus and Amygdala Induced by Electroconvulsive Therapy in Major Depression. *Biological Psychiatry*, 79(4), 282-292. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.02.029>
- Kamil, R., & Joffe, R. T. (1991). Neuroendocrine testing in electroconvulsive therapy. *The Psychiatric Clinics of North America*, 14(4), 961-970.
- Keilhoff, G., Grecksch, G., Bernstein, H.-G., Roskoden, T., & Becker, A. (2010). Risperidone and haloperidol promote survival of stem cells in the rat hippocampus. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 260(2), 151-162. <https://doi.org/10.1007/s00406-009-0033-1>
- Kellner, C. H., & al. (2016a). A Novel Strategy for Continuation ECT in Geriatric Depression : Phase 2 of the PRIDE Study | *American Journal of Psychiatry*. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2016.15081101>
- Kellner, C. H., & al. (2016b). Right Unilateral Ultrabrief Pulse ECT in Geriatric Depression : Phase 1 of the PRIDE Study. *American Journal of Psychiatry*, 173(11), 1101-1109. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2016.15081101>
- Lucassen, P. J., Stumpel, M. W., Wang, Q., & Aronica, E. (2010). Decreased numbers of progenitor cells but no response to antidepressant drugs in the hippocampus of elderly depressed patients. *Neuropharmacology*, 58(6), 940-949. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.01.012>
- Madsen, T. M., Treschow, A., Bengzon, J., Bolwig, T. G., Lindvall, O., & Tingström, A. (2000). Increased neurogenesis in a model of electroconvulsive therapy. *Biological Psychiatry*, 47(12), 1043-1049. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(00\)00228-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(00)00228-6)
- McGirr, A., Berlim, M. T., Bond, D. J., Chan, P. Y., Yatham, L. N., & Lam, R. W. (2017). Adjunctive ketamine in electroconvulsive therapy : Updated systematic review and meta-analysis. *The British Journal of Psychiatry*, 210(6), 403-407. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.116.195826>
- Milev, R. V., Giacobbe, P., Kennedy, S. H., Blumberger, D. M., Daskalakis, Z. J., Downar, J., ... Ravindran, A. V. (2016). Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) 2016 Clinical Guidelines for the Management of Adults with Major Depressive Disorder. *Canadian Journal of Psychiatry. Revue Canadienne de Psychiatrie*, 61(9), 561-575. <https://doi.org/10.1177/0706743716660033>
- Miller, B. R., & Hen, R. (2015). The current state of the neurogenic theory of depression and anxiety. *Current Opinion in Neurobiology*, 30, 51-58.

- <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.08.012>
- Moreno-Jiménez, E. P., Flor-García, M., Terreros-Roncal, J., Rábano, A., Cafini, F., Pallas-Bazarra, N., ... Llorens-Martín, M. (2019). Adult hippocampal neurogenesis is abundant in neurologically healthy subjects and drops sharply in patients with Alzheimer's disease. *Nature Medicine*, 25(4), 554-560.  
<https://doi.org/10.1038/s41591-019-0375-9>
- Mouaffak, F. (2014). *Electoconvulsivothérapie et dépression*. 14.
- Mutz, J., Vipulanathan, V., Carter, B., Hurlmann, R., Fu, C. H. Y., & Young, A. H. (2019). Comparative efficacy and acceptability of non-surgical brain stimulation for the acute treatment of major depressive episodes in adults : Systematic review and network meta-analysis. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 364, 11079.  
<https://doi.org/10.1136/bmj.11079>
- Nakamura, K., Ito, M., Liu, Y., Seki, T., Suzuki, T., & Arai, H. (2013). Effects of single and repeated electroconvulsive stimulation on hippocampal cell proliferation and spontaneous behaviors in the rat. *Brain Research*, 1491, 88-97.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2012.10.052>
- Nowakowski, R. S., Lewin, S. B., & Miller, M. W. (1989). Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and the DNA-synthetic phase for an anatomically defined population. *Journal of Neurocytology*, 18(3), 311-318.
- Nuninga, J. O., Mandl, R. C. W., Boks, M. P., Bakker, S., Somers, M., Heringa, S. M., ... Sommer, I. E. C. (2019). Volume increase in the dentate gyrus after electroconvulsive therapy in depressed patients as measured with 7T. *Molecular Psychiatry*.  
<https://doi.org/10.1038/s41380-019-0392-6>
- O'Leary, O. F., & Cryan, J. F. (2014). A ventral view on antidepressant action : Roles for adult hippocampal neurogenesis along the dorsoventral axis. *Trends in Pharmacological Sciences*, 35(12), 675-687.  
<https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.09.011>
- OMS. (2018). *Journées mondiales de la santé mentale*. 1.
- Perera, T. D., Coplan, J. D., Lisanby, S. H., Lippa, C. M., Arif, M., Carpio, C., ... Dwork, A. J. (2007). Antidepressant-Induced Neurogenesis in the Hippocampus of Adult Nonhuman Primates. *Journal of Neuroscience*, 27(18), 4894-4901.  
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0237-07.2007>
- Petrides, G., Tobias, K. G., Kellner, C. H., & Rudorfer, M. V. (2011). Continuation and Maintenance Electroconvulsive Therapy for Mood Disorders : Review of the Literature. *Neuropsychobiology*, 64(3), 129-140. <https://doi.org/10.1159/000328943>
- Pfleiderer, B., Michael, N., Erfurth, A., Ohrmann, P., Hohmann, U., Wolgast, M., ... Heindel, W. (2003). Effective electroconvulsive therapy reverses glutamate/glutamine deficit in the left anterior cingulum of unipolar depressed patients. *Psychiatry Research*, 122(3), 185-192.
- Prudic, J., Haskett, R., McCall, W. V., Isenberg, K., Cooper, T., Rosenquist, P. B., ... Sackeim, H. A. (2013). Pharmacological Strategies in the Prevention of Relapse Following Electroconvulsive Therapy. *The journal of ECT*, 29(1), 3-12.  
<https://doi.org/10.1097/YCT.0b013e31826ea8c4>
- Roche, N. C., Raynaud, L., Bompain, F., Lucas, J.-J., & Auxéméry, Y. (2016). Asystolie perstimulus résultant d'une hypertonie parasympathique au cours des électroconvulsivothérapies : Cas clinique, brève revue de la littérature et discussion. *L'Encéphale*, 42(1), 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2015.06.004>
- Rotheneichner, P., Lange, S., O'Sullivan, A., Marschallinger, J., Zaubmair, P., Geretsegger,

- C., ... Couillard-Despres, S. (2014). Hippocampal neurogenesis and antidepressive therapy : Shocking relations. *Neural Plasticity*, 2014, 723915. <https://doi.org/10.1155/2014/723915>
- Rowley, H. L., Marsden, C. A., & Martin, K. F. (1997). Generalised seizure-induced changes in rat hippocampal glutamate but not GABA release are potentiated by repeated seizures. *Neuroscience Letters*, 234(2-3), 143-146. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(97\)00700-3](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(97)00700-3)
- Sackeim, H. A. (1999). The anticonvulsant hypothesis of the mechanisms of action of ECT : Current status. *The Journal of ECT*, 15(1), 5-26.
- Sackeim, Harold A., Prudic, J., Fuller, R., Keilp, J., Lavori, P. W., & Olfson, M. (2007). The cognitive effects of electroconvulsive therapy in community settings. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 32(1), 244-254. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301180>
- Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., ... Hen, R. (2003). Requirement of Hippocampal Neurogenesis for the Behavioral Effects of Antidepressants. *Science*, 301(5634), 805-809. <https://doi.org/10.1126/science.1083328>
- Schloesser, R. J., Orvoen, S., Jimenez, D. V., Hardy, N. F., Maynard, K. R., Sukumar, M., ... Martinowich, K. (2015). Antidepressant-like Effects of Electroconvulsive Seizures Require Adult Neurogenesis in a Neuroendocrine Model of Depression. *Brain Stimulation*, 8(5), 862-867. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2015.05.011>
- Segi-Nishida, E., Warner-Schmidt, J. L., & Duman, R. S. (2008). Electroconvulsive seizure and VEGF increase the proliferation of neural stem-like cells in rat hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32), 11352-11357. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710858105>
- Singh, A., & Kar, S. K. (2017). How Electroconvulsive Therapy Works? : Understanding the Neurobiological Mechanisms. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 15(3), 210-221. <https://doi.org/10.9758/cpn.2017.15.3.210>
- Smitha, J. S. M., Roopa, R., Sagar, B. K. C., Kutty, B. M., & Andrade, C. (2014). Images in electroconvulsive therapy : ECS dose-dependently increases cell proliferation in the subgranular region of the rat hippocampus. *The Journal of ECT*, 30(3), 193-194. <https://doi.org/10.1097/YCT.0000000000000076>
- Sorrells, S. F., Paredes, M. F., Cebrian-Silla, A., Sandoval, K., Qi, D., Kelley, K. W., ... Alvarez-Buylla, A. (2018). Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults |. *Nature*, 555, 377-381.
- Trevino, K., McClintock, S. M., & Husain, M. M. (2010). A Review of Continuation Electroconvulsive Therapy : Application, Safety, and Efficacy. *The Journal of ECT*, 26(3), 186. <https://doi.org/10.1097/YCT.0b013e3181efa1b2>
- Volle, J., Brocard, J., Saoud, M., Gory-Faure, S., Brunelin, J., Andrieux, A., & Suaud-Chagny, M.-F. (2013). Reduced Expression of STOP/MAP6 in Mice Leads to Cognitive Deficits. *Schizophrenia Bulletin*, 39(5), 969-978. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs113>
- Xue, F., Chen, Y.-C., Zhou, C.-H., Wang, Y., Cai, M., Yan, W.-J., ... Peng, Z.-W. (2017). Risperidone ameliorates cognitive deficits, promotes hippocampal proliferation, and enhances Notch signaling in a murine model of schizophrenia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 163, 101-109. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.09.010>
- Yanpallewar, S. U., Barrick, C. A., Palko, M. E., Fulgenzi, G., & Tessarollo, L. (2012). Tamalin is a critical mediator of electroconvulsive shock-induced adult neuroplasticity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for*



*Neuroscience*, 32(7), 2252-2262. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5493-11.2012>  
Zhao, C., Warner-Schmidt, J., Duman, R. S., & Gage, F. H. (2012). Electroconvulsive seizure promotes spine maturation in newborn dentate granule cells in adult rat.  
*Developmental Neurobiology*, 72(6), 937-942. <https://doi.org/10.1002/dneu.20986>



## **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.*

Albane PELLUET

EFFICACITE DE LA STIMULATION ELECTRO-CONVULSIVE EN CURE DE CONSOLIDATION DANS UN MODELE ANIMAL DE DEPRESSION, LA SOURIS MAP6-KO : LE RÔLE ESSENTIEL DE LA SURVIE NEURONALE

RÉSUMÉ :

L'électro-convulsivo-thérapie (ECT) est un traitement efficace et rapide utilisé fréquemment en psychiatrie pour traiter les épisodes dépressifs caractérisés sévères ou résistants, les décompensations de troubles bipolaires ou de schizophrénie résistants. Malgré une utilisation clinique importante depuis les années 1930, les mécanismes neurobiologiques sous-tendant l'action curative restent mal compris.

L'objectif de cette étude est d'analyser l'action sur la neurogénèse adulte de la stimulation électro-convulsive (ECS), l'équivalent animal de l'ECT, dans un modèle animal de dépression. En utilisant les souris MAP6-KO, un modèle génétique qui présente de façon constitutive des caractéristiques pertinentes pour certains aspects de la dépression, nous avons analysé les conséquences comportementales et biologiques du traitement par ECS en cure de consolidation (2 stimulations par semaine pendant 5 semaines) après avoir réalisé une cure initiale (10 stimulations sur une période de 2 semaines).

Le traitement par ECS en cure de consolidation a eu un effet bénéfique sur les défauts comportementaux constitutifs. Nous avons montré que l'amélioration comportementale était associée à une forte augmentation de la survie des neurones créés au cours de la cure initiale. Ces résultats montrent donc que le mécanisme d'action des ECS en cure de consolidation est en lien avec l'amélioration de la survie neuronale.

MOTS CLÉS : neurogénèse adulte, ECS, ECT, souris MAP6-KO

FILIÈRE : Psychiatrie

*EFFICACY OF ELECTROCONVULSIVE STIMULATION IN AN ANIMAL MODEL OF DEPRESSION, THE MAP6-KO MICE: THE ESSENTIAL ROLE OF NEURONAL SURVIVAL.*

*ABSTRACT :*

*Electroconvulsive therapy (ECT) is an efficient and rapid treatment commonly used in psychiatry to treat severe or resistant depressive episodes, decompensation of bipolar disorder or resistant schizophrenia. Despite significant clinical use since the late 1930s, the neurobiological mechanisms underlying curative action remains poorly understood nowadays.*

*The aim of this study is to analyze the action on adult neurogenesis of electro-convulsive stimulation (ECS), the animal equivalent of ECT, in an animal model of depression. Using MAP6-KO mice, a genetic model that constitutively exhibits features relevant to some aspects of depression, we analyzed the behavioral and biological consequences of treatment with ECS in consolidation treatment (2 stimulations per week for 5 weeks), after an initial course of treatment (10 stimulations over a 2-week period).*

*ECS treatment in a consolidation protocol had a beneficial effect on constitutive behavioral defects. We found that behavioral improvement is associated with a strong increase in the survival of neurons created during the initial course. These results thus show that the mechanism of action of the ECS in consolidation cure is related to the improvement of the neuronal survival.*

# **Annexe**

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

<sup>1</sup> Univ. Grenoble Alpes, Inserm U1216, GIN, 38000 Grenoble, France

<sup>2</sup> Univ. Grenoble Alpes, CHU Grenoble Alpes, Service Hospitalo Universitaire de Psychiatrie, 38000 Grenoble, France

<sup>3</sup> Univ. Grenoble Alpes, CEA, Inserm U1216, BIG-GPC, 38000 Grenoble, France

<sup>4</sup> Univ. Grenoble Alpes, CEA, Inserm, BIG-BGE, 38000 Grenoble, France

<sup>5</sup> Univ. Aix-Marseille, INSERM U1249, Institut de Neurobiologie de la Méditerranée, Parc Scientifique de Luminy, 13273 Marseille, France

<sup>6</sup> INSERM, U1028; CNRS, UMR5292; Lyon Neuroscience Research Center, Psychiatric Disorders: from Resistance to Response Team, Lyon, F-69000, France

<sup>7</sup> 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- $\beta$ -cyclodextrin (Sigma Aldrich). CORT (35  $\mu$ g/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 $\pm$ 1  $^{\circ}$ 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 157 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  $\mu$ m). Immunohistochemistry 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<sub>2</sub>O, 4% CuSO<sub>4</sub> 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  $-80^{\circ}\text{C}$ .

For real-time RT-qPCR, RNA was isolated using Mini RNeasy kit (Qiagen), quantified based on absorbance at 260 nm (NanoPhotometer, IMPLEN), and 1  $\mu\text{g}$  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  $\mu\text{L}$  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 Cyclers (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<sub>max</sub> 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  $\mu\text{L}/\text{min}$ . 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 ( $189 \pm 26.8$  s for Sham- (n=10) vs.  $114 \pm 18.7$  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 ( $31 \pm 11$  s for Sham- (n=10) vs.  $77 \pm 20.3$  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 ( $235 \pm 19$  s for WT mice (n=7) vs.  $171 \pm 14.5$  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  $226 \pm 51.5$  s, whereas sham-treated MAP6 KO mice had a latency of  $413 \pm 57$  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 ( $413 \pm 57$  s) or without treatment ( $235 \pm 19$  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 ( $8514 \pm 1045$  cm for Sham- ( $n=8$ ) vs.  $7605 \pm 818$  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 ( $1267 \pm 143$  for Sham (n=4) vs.  $2150 \pm 272$  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 ( $5080 \pm 753$  for Sham (n=8) vs.  $11539 \pm 776$  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 ( $1.23 \pm 0.32$  for sham (n=7) vs.  $2.57 \pm 0.23$  for ECS-treated mice (n=7), arbitrary units, unilateral Mann-Whitney test,  $p = 0.0087$ ; Figure 2F and  $42.65 \pm 1.49$  for sham (n=12) vs.  $67.48 \pm 3.36$  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 ( $498 \pm 69$  for Sham ( $n=8$ ) vs.  $828 \pm 96$  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,  $92 \pm 0.9\%$  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 ( $293 \pm 13$  for Sham ( $n=10$ ) vs.  $661 \pm 34$  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 ( $2.58 \pm 0.12$  for Sham (n=11) vs.  $3.38 \pm 0.2$  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 ( $1.35 \pm 0.17$  for Sham (n=10) vs.  $1.66 \pm 0.09$  for ECS-treated mice (n=19) spines/ $\mu\text{m}$ , 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 ( $0.07 \pm 0.01$  for Sham (n=10) vs.  $0.17 \pm 0.01$  for ECS-treated mice (n=19) spines/ $\mu\text{m}$ ; 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 ( $1.07 \pm 0.06$  for Sham (n=17) vs.  $1.36 \pm 0.09$  for ECS-treated mice (n=26) spines/ $\mu\text{m}$ , 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,  $458 \pm 81$  s for Sham (n=13) vs.  $138 \pm 26$  s for ECS-treated mice (n=13), unilateral Mann-Whitney test,  $p= 0.0005$ ; D17,  $493 \pm 103$  s for Sham (n=7) versus  $114 \pm 55$  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,  $374 \pm 72$  for sham (n=7) vs.  $635 \pm 16$  for ECS-treated mice (n=6), unilateral Mann-Whitney test,  $p= 0.0175$ ; D18,  $239 \pm 27$  for sham (n=7) vs.  $498 \pm 45$  for ECS-treated mice (n=7), unilateral Mann-Whitney test,  $p= 0.0006$ ; D40,  $114 \pm 10$  for sham (n=5) vs.  $164 \pm 10$  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 ( $164 \pm 10$  neurons) than in the sham-treated group at D11 ( $374 \pm 72$  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  $126 \pm 25$  s,  $n=9$ ) better than the ECS/sham treatment (latency  $387 \pm 88$  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 spontaneously 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 ( $1917 \pm 393$  neurons,  $n=9$ ) than in ECS/sham-treated mice ( $983 \pm 205$  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] Licznernski 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. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 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, Vahtokari 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 Etoposin 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  $\pm$  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  $\pm$  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  $\pm$  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=400 $\mu$ m.

(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  $\pm$  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 immunohistochemistry experiments to reveal DCX-positive cells in the dentate gyrus of sham- and ECS-treated MAP6-KO mice. Scale bar=400 $\mu$ m.

(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  $\pm$  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 quantified by real-time RT-qPCR (mean  $\pm$  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  $\pm$  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  $\pm$  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  $\pm$  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  $\pm$  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  $\pm$  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  $\mu$ m.

(J) ECS treatment increases spine density in cortical neurons (mean  $\pm$  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  $\pm$  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  $\pm$  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).

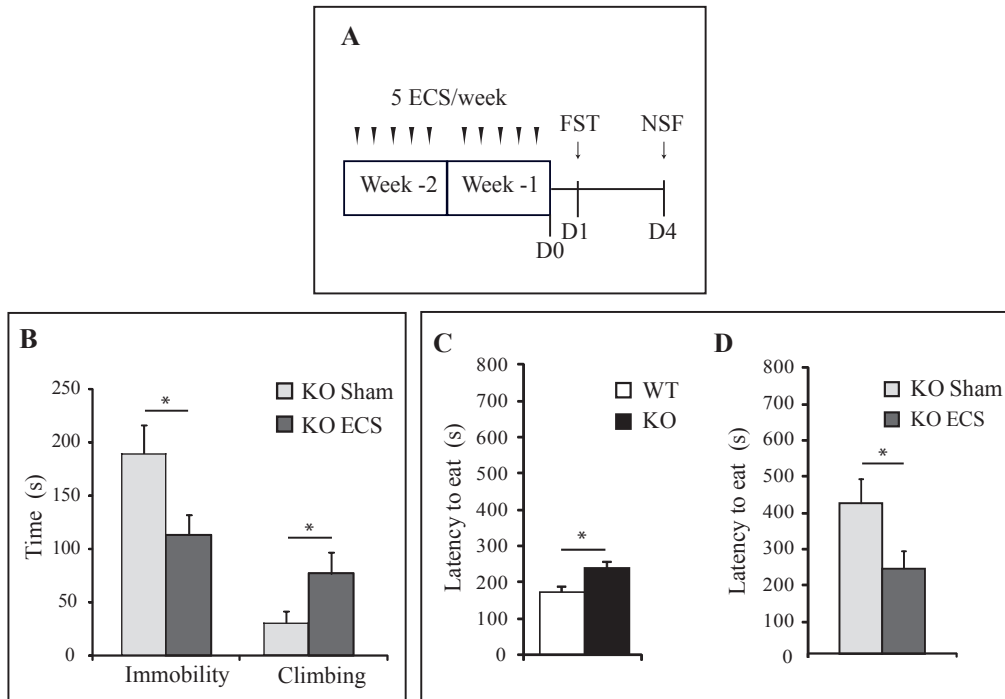
(B) ECS/ECS treatment induced sustained behavioral improvement compared to ECS/sham treatment. 5 weeks after the end of the initial ECS treatment the latency to eat in the novelty suppressed feeding test was maintained in the ECS/ECS group (mean +/- s.e.m.; n=10 and n=9 for ECS/sham- and ECS/ECS mice,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

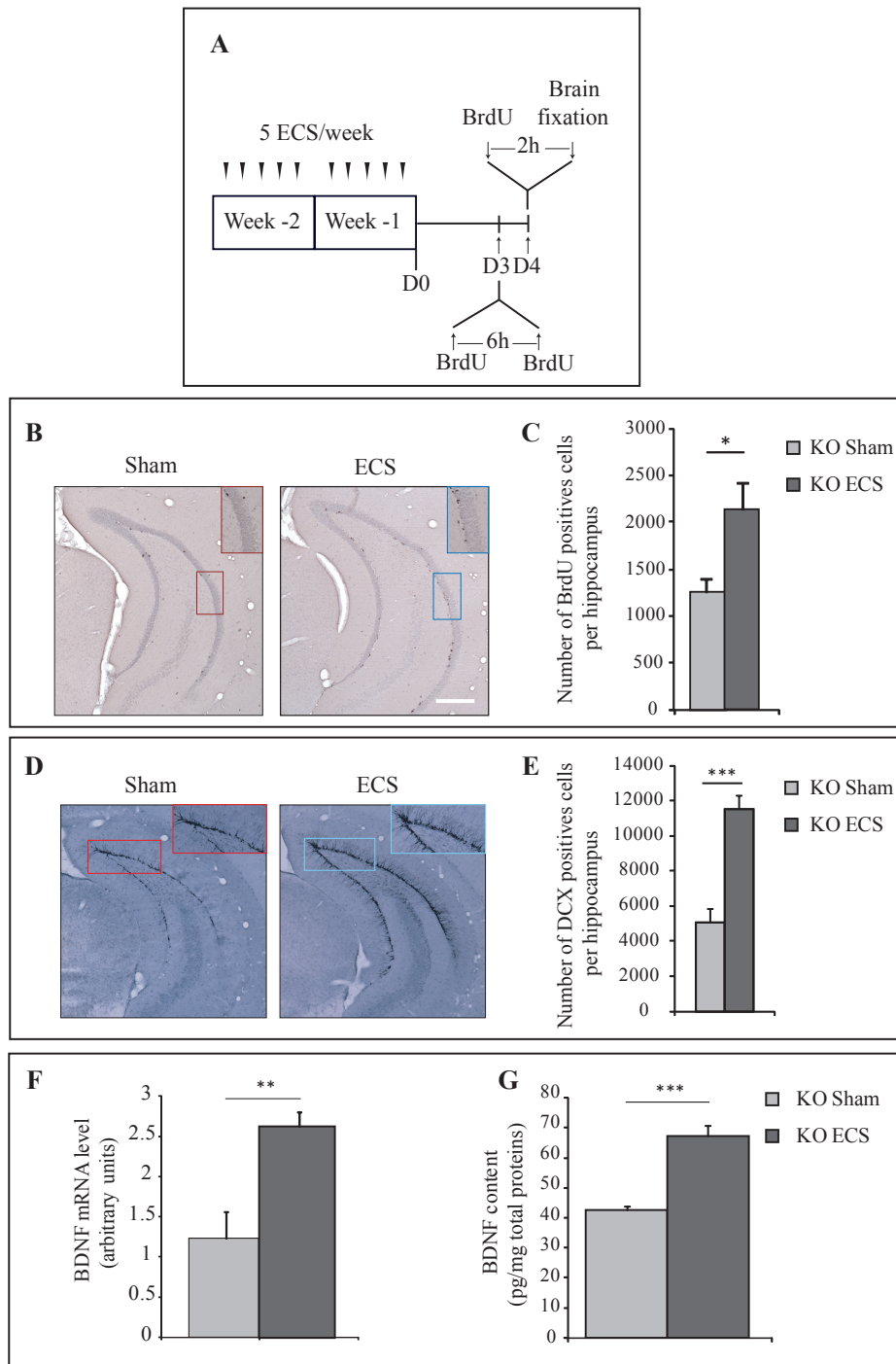
**Figure 1**  
[Click here to download Figure: Figure 1.pdf](#)

Figure 1

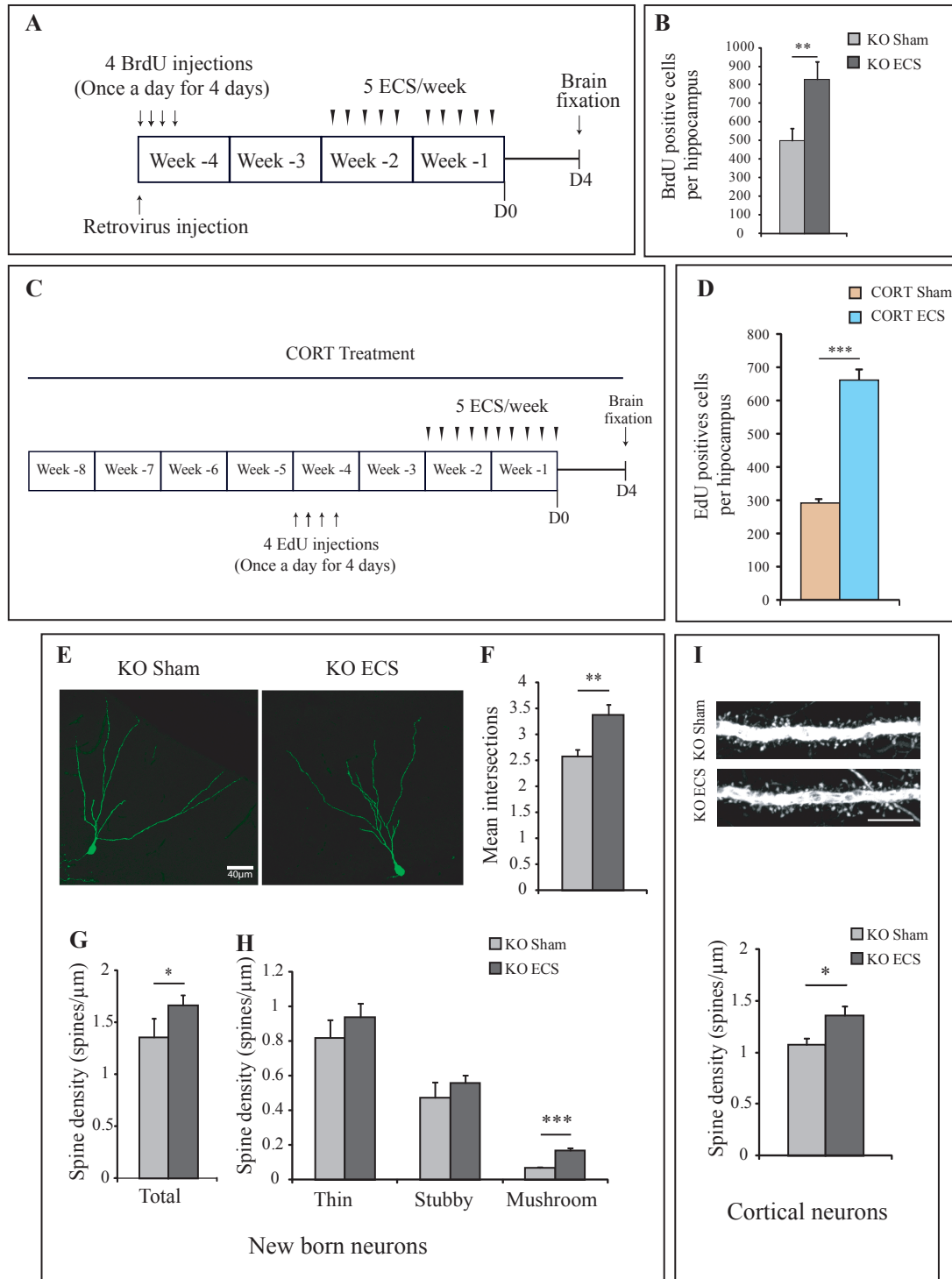


**Figure 2**  
[Click here to download Figure: Figure 2.pdf](#)

**Figure 2**



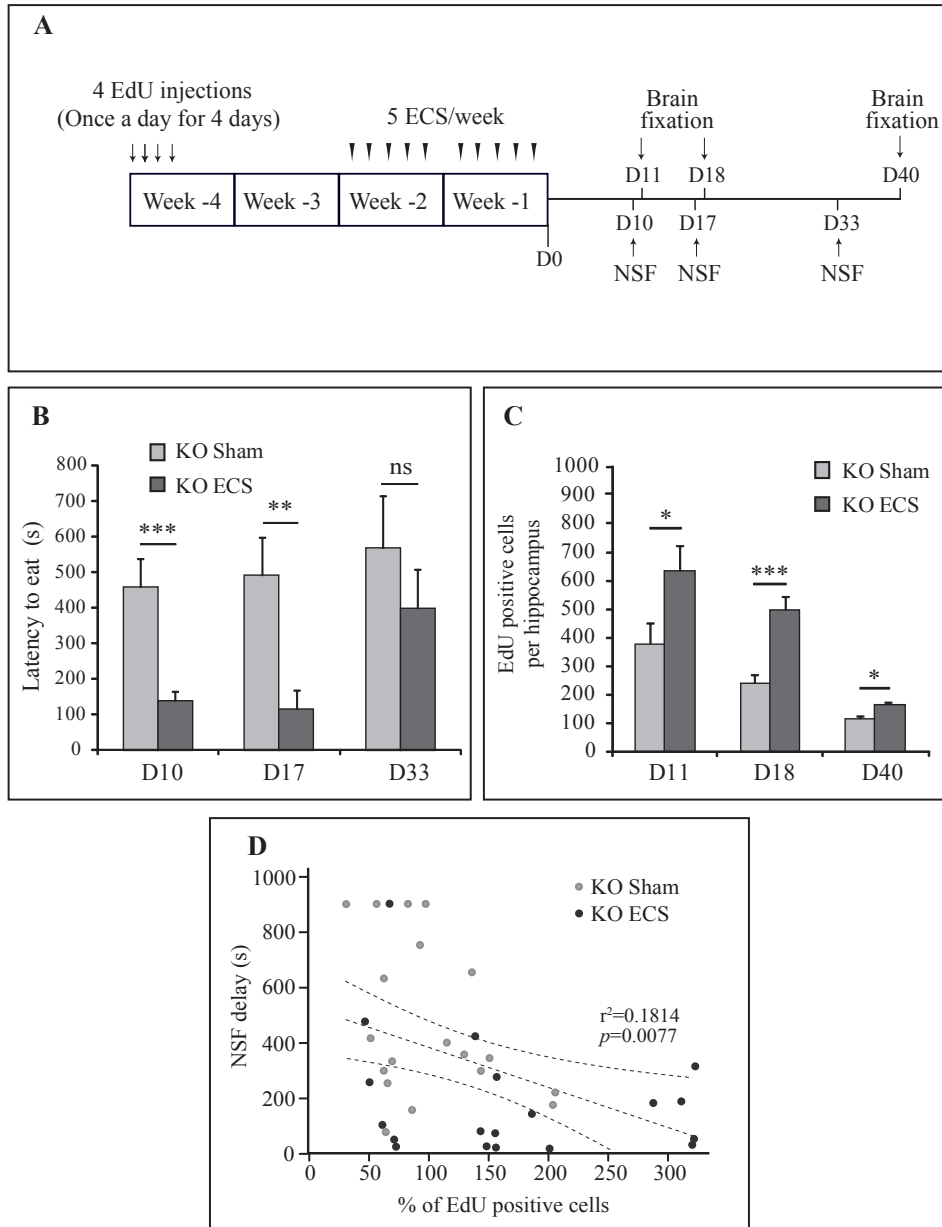
**Figure 3**  
[Click here to download Figure: Figure 3.pdf](#)  
**Figure 3**





**Figure 4**  
[Click here to download Figure: Figure 4.pdf](#)

Figure 4



**Figure 5**  
[Click here to download Figure: figure 5.pdf](#)

**Figure 5**

