

UNIVERSITÉ DE NANTES
FACULTÉ DE MÉDECINE

ÉCOLE DOCTORALE • CHIMIE BIOLOGIE

N° attribué par la bibliothèque

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Année 2003

Étude de la variabilité et de la taille de l'effet
des antidépresseurs sur des modèles
comportementaux et neurobiologiques

THÈSE DE DOCTORAT

Discipline : Médecine

Spécialité : Neuropsychopharmacologie

*Présentée
et soutenue publiquement par*

Denis DAVID

Le 30 juin 2003, devant le jury ci-dessous

Président : M. Michel BOURIN, Professeur de Pharmacologie, Université de Nantes

Rapporteurs : M. Francesc ARTIGAS, Docteur es Sciences, CSIC, Barcelone, Espagne

Mme Marie-Hélène THIEBOT, Directeur de Recherche, Unité INSERM U288, Paris

Examineur : M. Jean Marie VAUGEOIS, Maître de Conférences des Universités avec HDR, Université de Rouen

Directeurs de thèse : Mme Pascale JOLLIET, Professeur de Pharmacologie, Université de Nantes

M. Alain GARDIER, Professeur de Pharmacologie, Université Paris-Sud

Je dédie cette thèse à mes parents et à Sylvain, mon frère

qui tout au long de ces années d'études m'ont soutenu et encouragé.

Qu'ils sachent combien je les aime.

A Monsieur le Professeur BOURIN

qui me fait l'honneur de présider ce jury de thèse, accordant ainsi à mon travail la caution de sa haute autorité.

Son accueil chaleureux au sein de l'équipe, sa culture scientifique et son enthousiasme pour la Recherche ont confirmé ma vocation pour la Neuropsychopharmacologie. Ses grandes qualités professionnelles et humaines nous ont permis des discussions méthodologiques toujours fructueuses et bénéfiques à l'achèvement de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de mon attachement et de ma très profonde reconnaissance pour ses conseils avisés et son soutien constant, précieux dans les moments difficiles, mais aussi pour la grande confiance qu'il n'a cessé de prodiguer.

A Madame le Professeur Pascale JOLLIET

qui me fait l'honneur de siéger à ce jury de thèse, accordant ainsi à mon travail la caution de sa haute autorité.

Sa bienveillante attention, son soutien constant dans les moments difficiles m'ont permis depuis le DEA de progresser tout au long de ces trois années de thèse et ont permis l'achèvement de ce manuscrit.

Qu'elle veuille bien trouver ici le témoignage de mon attachement et de ma très profonde reconnaissance pour ses précieux conseils et le soutien constant qu'elle a manifesté lors de la direction de cette thèse.

A Monsieur le Professeur Alain GARDIER

qui m'a permis, lors de mon arrivée dans le laboratoire de travailler dans une ambiance enthousiaste et formatrice.

Son dynamisme, son efficace exigence, son expérience et sa grande compétence dans le domaine de la microdialyse intracérébrale chez la Souris ont permis de compléter ma formation scientifique.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de mon attachement et de ma très profonde reconnaissance pour ses précieux conseils et le soutien constant qu'il a manifesté lors de la direction et de la rédaction de cette thèse.

A Monsieur le Docteur Francesc ARTIGAS

Pour le très grand honneur qu'il m'a fait en jugeant mon travail, en lui accordant ainsi la caution de sa haute autorité dans le domaine de la Neuropsychopharmacologie.

Qu'il accepte le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mes remerciements les plus respectueux.

A Madame le Docteur Marie-Hélène THIÉBOT

Pour le très grand honneur qu'elle m'a fait en jugeant mon travail, en lui accordant ainsi la caution de sa haute autorité dans le domaine de la Neuropsychopharmacologie.

Qu'elle accepte le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mes remerciements les plus respectueux.

A Monsieur le Docteur Jean-Marie VAUGEOIS

Pour le très grand honneur qu'il m'a fait en jugeant mon travail, en lui accordant ainsi la caution de sa haute autorité dans le domaine de la Neuropsychopharmacologie.

Qu'il accepte le témoignage de ma sincère reconnaissance et de mes remerciements les plus respectueux.

*A Martine HASCOËT-LE CLEACH,
Marie-Claude COLOMBEL,
Odile HUBERT,*

*qui un jour de juillet 1998 m'ont accueilli et initié à la
Psychopharmacologie.*

*Qu'elles acceptent le témoignage de ma profonde reconnaissance pour
m'avoir aidé et conseillé tout au long de ces années.*

A Josette PHILIPPOT et Marie-Noëlle HERVÉ

pour leur aide au quotidien.

Qu'elles trouvent ici mes plus chaleureux remerciements.

A Bríd ÁINE NIC DHONNCHADHA

avec qui j'ai partagé pendant toutes ces années le bureau.

*Pour nos inoubliables discussions avant tout scientifiques, but also
sportives, toujours passées dans la bonne humeur.*

*Pour nos joies après l'acceptation d'un article ou après les victoires
irlandaises ou françaises en football.*

A toute l'équipe des « thésards » nantais, Caroline, Florence, Nadège et Franck

pour l'aide et l'amitié qu'ils m'ont témoignées tout au long de cette thèse.

Qu'ils acceptent le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A toutes les équipes du service de Pharmacologie et Toxicologie et du Centre Régional de Pharmacovigilance

pour l'aide et l'amitié qu'elles m'ont témoignées tout au long de cette thèse.

Qu'elles acceptent le témoignage de ma profonde reconnaissance.

A Madame le Docteur Isabelle SEIF

A Madame Michèle MICHEAU

pour leurs précieux conseils et nos grandes discussions.

Qu'elles trouvent ici mes plus chaleureux remerciements.

A Gaëlle JEGO et à Cédric PRZYBYLSKI

qui ont bien voulu m'aider dans la réalisation des protocoles de microdialyse intracérébrale avec courage et méticulosité.

Qu'ils soient sincèrement remerciés de la gentillesse et de la constante bonne humeur dont ils ont fait preuve, même dans les moments difficiles.

A Bruno GUIARD et Jean-Philippe GUILLOUX

pour l'aide et l'amitié qu'ils m'ont accordées tout au long de ces années.

Pour nos mémorables discussions footballistiques, avec comme point d'orgue le désormais célèbre « On refait le match ! »

Qu'ils acceptent le témoignage de ma profonde reconnaissance.

SOMMAIRE

<u>INDEX DES FIGURES</u>	14
<u>INDEX DES TABLEAUX</u>	17
<u>ABRÉVIATIONS</u>	19
<u>INTRODUCTION</u>	21
<u>1. Administration unique d'antidépresseurs sérotoninergiques</u>	22
<u>2. Administration chronique d'antidépresseurs sérotoninergiques</u>	22
<u>SYNTHÈSE DE LA LITTÉRATURE</u>	25
<u>1. La dépression</u>	25
<u>1.1. Sémiologie</u>	25
<u>1.2. Évaluation des maladies dépressives</u>	26
<u>1.3. Effets des traitements antidépresseurs sur les troubles de l'humeur</u>	30
<u>2. Étiologie de la dépression</u>	32
<u>2.1. Hypothèses monoaminergiques</u>	32
<u>2.2. Principales autres hypothèses</u>	33
<u>2.2.1. Théories moléculaire et cellulaire de la dépression</u>	33
<u>2.2.2. Théorie endocrinienne de la dépression</u>	33
<u>2.2.3. Hypothèse neurokininergique du dysfonctionnement émotionnel</u>	34
<u>3. Les systèmes monoaminergiques</u>	36
<u>3.1. Rappel de quelques éléments concernant le système sérotoninergique central</u>	36
<u>3.1.1. Synthèse, libération, inactivation, localisation et rôle physiologique de la sérotonine</u>	36
<u>3.1.2. Classification et rôles des récepteurs sérotoninergiques</u>	41
<u>3.1.2.1. Classification des récepteurs 5-HT</u>	41
<u>3.1.2.2. Le récepteur 5-HT_{1A}</u>	44
<u>3.1.2.3. Le récepteur 5-HT_{1B}</u>	49
<u>3.1.3. Le transporteur de la sérotonine</u>	58
<u>3.1.3.1. Distribution dans le système nerveux central</u>	59
<u>3.1.3.2. Structure et fonctionnement du transporteur de la sérotonine</u>	62
<u>3.1.3.3. Régulation du transporteur</u>	64
<u>3.1.3.4. Transporteur sérotoninergique et polymorphisme génétique</u>	65
<u>3.1.3.5. Apport des études utilisant des souris mutées privées de transporteur de la sérotonine dans la compréhension des effets des antidépresseurs</u>	66
<u>3.2. Rappel de quelques éléments concernant le système noradrénergique central</u>	70
<u>3.2.1. Synthèse, libération, inactivation, localisation et rôle physiologique de la noradrénaline</u>	70
<u>3.2.2. Classification et rôles des récepteurs noradrénergiques</u>	75
<u>3.2.2.1. Classification des récepteurs NA</u>	75
<u>3.2.2.2. Les sous-types de récepteurs alpha₂ adrénergiques</u>	75

3.2.3.	<u>Le transporteur noradrénergique</u>	81
3.2.3.1.	<u>Distribution dans le système nerveux central</u>	81
3.2.3.2.	<u>Structure et fonctionnement du transporteur de la noradrénaline</u>	82
3.2.3.3.	<u>Régulation du transporteur</u>	83
3.2.3.4.	<u>Transporteur noradrénergique et polymorphisme génétique</u>	84
3.2.3.5.	<u>Apport des études utilisant des souris mutées privées de transporteur de la noradrénaline dans la compréhension des effets des antidépresseurs</u>	85
3.3.	<u>Les interactions fonctionnelles entre les systèmes sérotoninergique et noradrénergique</u>	86
4.	<u>Les thérapeutiques médicamenteuses de la dépression</u>	91
4.1.	<u>Classification des antidépresseurs</u>	91
4.2.	<u>Mécanismes d'action</u>	92
4.3.	<u>Caractéristiques de la réponse aux antidépresseurs</u>	95
4.3.1.	<u>Caractéristiques de la réponses aux antidépresseurs : faits cliniques</u>	95
4.3.2.	<u>Rôle des récepteurs 5-HT_{1A} sur l'activité des antidépresseurs</u>	96
4.3.3.	<u>Rôle des récepteurs 5-HT_{1B} sur l'activité des antidépresseurs</u>	98
4.3.4.	<u>Rôle des autres sous-types de récepteurs sérotoninergiques sur l'activité des antidépresseurs</u>	98
4.4.	<u>Action des antidépresseurs sur les seconds messagers et sur les gènes</u>	99
5.	<u>Les modèles comportementaux animaux de la dépression</u>	101
5.1.	<u>Modèles de comportements induits</u>	101
5.2.	<u>Modèle animal fondé sur un déficit neuronal</u>	102
5.3.	<u>Modèles animaux fondés sur le stress</u>	105
5.3.1.	<u>Le test de la nage forcée</u>	105
5.3.2.	<u>Le test de suspension caudale</u>	116
5.3.3.	<u>Le stress modéré chronique</u>	116
5.3.4.	<u>Le test de résignation acquise</u>	122
	<u>TRAVAIL EXPERIMENTAL</u>	126
1.	<u>Choix des modèles comportementaux</u>	126
2.	<u>Approche neurobiologique : microdialyse intracérébrale <i>in vivo</i> chez la souris éveillée libre de ses mouvements</u>	129
2.1.	<u>Chirurgie</u>	129
2.2.	<u>Dialyse</u>	132
2.3.	<u>Dosage de la 5-HT et de la NA par CLHP-ED</u>	133
2.4.	<u>Analyse des résultats</u>	134
	<u>TRAVAUX EXPÉRIMENTAUX DE PSYCHOPHARMACOLOGIE COMPORTEMENTALE</u>	136
Étude 1 :	<u>variabilité en fonction de l'âge</u>	137
	<u>Comparaison de l'activité des antidépresseurs chez des souris âgées de 4 et 40 semaines dans le test de la nage forcée</u>	137
	<i>Psychopharmacology, 2001, 152, 443-449</i>	137
	<u>Objectif de l'étude 1</u>	138
	<u>Synthèse des résultats de l'étude 1</u>	138

Étude 2 : variabilité en fonction du genre	140
<u>Existe-t-il une différence de température entre les souris mâles et femelles après une administration unique d'antidépresseur dans deux modèles animaux de dépression ?</u>	140
<i>Behavioural Brain Research, 2001, 119, 203-211</i>	140
<u>Objectif de l'étude 2</u>	141
<u>Synthèse des résultats de l'étude 2</u>	141
Étude 3 : variabilité en fonction de la souche	143
<u>Effets des antidépresseurs chez différentes souches de souris dans le test de la nage forcée</u>	143
<i>Psychopharmacology, 2003, 166, 373-382</i>	143
<u>Objectif de l'étude 3</u>	144
<u>Synthèse des résultats de l'étude 3</u>	144
Étude 4 : variabilité en fonction de la souche	146
<u>Effets des antidépresseurs chez différentes souches de souris dans le test de suspension caudale</u>	146
<i>Behavioural Brain Research, 2003, (sous presse)</i>	146
<u>Objectif de l'étude 4</u>	Erreur! Signet non défini.
<u>Synthèse des résultats de l'étude 4</u>	147
 TRAVAUX EXPÉRIMENTAUX DE MICRODIALYSE INTRACÉRÉBRALE <i>IN VIVO</i> CHEZ LA SOURIS ÉVEILLÉE LIBRE DE SES MOUVEMENTS	
	148
Étude 5 : traitement chronique	149
<u>Effet de l'administration chronique de paroxétine sur les concentrations extracellulaires de sérotonine dans l'hippocampe ventral chez les souris knock-out 5-HT_{1B}</u>	149
<i>Journal of Neurochemistry, 2003, (sous presse)</i>	149
<u>Objectif de l'étude 5</u>	150
<u>Synthèse des résultats de l'étude 5</u>	150
Étude 6 : administration aiguë	153
<u>Effets de l'administration d'une dose unique de paroxétine, de citalopram ou de venlafaxine sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline dans le cortex médian préfrontal : étude de microdialyse chez la souris éveillée</u>	153
<i>British Journal of Pharmacology (soumis)</i>	153
<u>Objectif de l'étude 6</u>	154
<u>Synthèse des résultats l'étude 6</u>	185
Étude 7 : corrélation entre le modèle comportemental et l'approche neurobiologique	186
<u>Comparaison des effets de l'administration chronique de paroxétine et de citalopram par une double approche <i>in vivo</i> : microdialyse intracérébrale et étude comportementale chez la souris Swiss éveillée</u>	186
<i>7^{ème} Congrès annuel de la Société Française de Pharmacologie, résumé publié dans Fundamental & Clinical Pharmacology, 2003, O92, 17, 242</i>	186
<u>Objectif de l'étude 7</u>	187
<u>Résultats de l'étude 7</u>	189
<u>Synthèse des résultats de l'étude 7</u>	197

<u>DISCUSSION GÉNÉRALE</u>	198
<u>CONCLUSION</u>	213
<u>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</u>	216

INDEX DES FIGURES

<u>Figure 1 – Les phases du traitement de la dépression</u>	31
<u>Figure 2 – Voies de biosynthèse et d'inactivation de la sérotonine</u>	38
<u>Figure 3 – Représentation schématique de l'innervation sérotoninergique du Système Nerveux Central du Rat</u>	39
<u>Figure 4 – Structures cérébrales impliquées dans les effets de la sérotonine</u>	40
<u>Figure 5 - Topographie générale du transporteur monoaminergique</u>	61
<u>Figure 6 – Structure du gène du transporteur humain et de ses régions de contrôles transcriptionnelles</u>	68
<u>Figure 7 – Voies de biosynthèse et d'inactivation de la noradrénaline</u>	72
<u>Figure 8 – Représentation schématique des différentes voies noradrénergiques du cerveau de Rat</u>	73
<u>Figure 9 – Structures cérébrales impliquées dans les effets de la noradrénaline</u>	74
<u>Figure 10 – Schéma des différentes projections noradrénergiques et sérotoninergiques dans le système nerveux central</u>	89
<u>Figure 11 - Interactions mutuelles entre un neurone sérotoninergique, noradrénergique et un neurone postsynaptique.</u>	90
<u>Figure 12 – Puissance d'inhibition du transporteur de la 5-HT (A) ou de la NA (B) par les antidépresseurs utilisés au cours des différents travaux expérimentaux</u>	93
<u>Figure 13 - Les deux phases d'un traitement par un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine</u>	97
<u>Figure 14 – Photos de test de la nage forcée chez la Souris</u>	108
<u>Figure 15 – Schémas du test de la nage forcée chez le Rat</u>	108
<u>Figure 16 – Photo du test de suspension caudale chez la Souris</u>	117
<u>Figure 17 - Schéma d'une sonde de microdialyse avec sa membrane</u>	131
<u>Figure 18– Schéma représentant une expérience de microdialyse intracérébrale <i>in vivo</i> chez la souris éveillée libre de ses mouvements.</u>	135
<u>Figure 19 – Vérification du bon emplacement d'un sonde de microdialyse placée dans le cortex frontal</u>	135

<u>Figure 20 – Schéma du protocole expérimental permettant de comparer les effets de l’administration chronique de paroxétine ou de citalopram sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline (microdialyse intracérébrale) ou sur la baisse du temps d’immobilité (test de la nage forcée).....</u>	<u>188</u>
<u>Figure 21 – Effets d’une dose test de paroxétine (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de sérotonine chez des souris ayant reçu de la paroxétine (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours) .</u>	<u>191</u>
<u>Figure 22 – Effets d’une dose test de citalopram (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de sérotonine chez des souris ayant reçu du citalopram (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours).....</u>	<u>192</u>
<u>Figure 23 – Effets d’une dose test de paroxétine (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de noradrénaline chez des souris ayant reçu de la paroxétine (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours).....</u>	<u>193</u>
<u>Figure 24 – Effets d’une dose test du citalopram (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de noradrénaline chez des souris ayant reçu du citalopram (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours).....</u>	<u>194</u>
<u>Figure 25 – Effets d’une dose test de paroxétine ou de citalopram (8 mg/kg) sur le temps d’immobilité mesuré dans le test de la nage forcée chez des souris traitées de façon chronique pendant 14 jours soit avec leur antidépresseur respectif [paroxétine (1 mg/kg/jour) ou citalopram (1 mg/kg/jour)] soit avec le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v).</u>	<u>195</u>
<u>Figure 26 - Relation dose-réponse de l’administration d’une dose unique de paroxétine (A), de citalopram (B) et de venlafaxine (C) sur les concentrations extracellulaires sérotoninergiques et noradrénergiques corticales chez la souris Swiss</u>	<u>206</u>
<u>Figure 27 - Relation dose-réponse de l’administration d’une dose « challenge » de paroxétine ou de citalopram après 14 jours de traitement chronique avec de la paroxétine (A) ou du citalopram (B) sur les concentrations extracellulaires sérotoninergiques et noradrénergiques corticales chez la souris Swiss</u>	<u>211</u>

<u>Figure 28 – Relation entre la baisse du temps d’immobilité (FST) et l’effet sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline (microdialyse) mesurées dans le cortex médian préfrontal suite à l’administration d’une dose challenge de paroxétine (8 mg/kg) après 14 jours de traitement avec de la paroxétine à 1 mg/kg/j chez la souris Swiss</u>	<u>214</u>
<u>Figure 29 – Relation entre la baisse du temps d’immobilité (FST) et l’effet sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline (microdialyse) mesurées dans le cortex médian préfrontal suite à l’administration d’une dose challenge de citalopram (8 mg/kg) après 14 jours de traitement avec du citalopram à 1 mg/kg/j chez la souris Swiss.....</u>	<u>215</u>

INDEX DES TABLEAUX

<u>Tableau 1 - Diagnostic de la dépression, d'après l'ICD-10</u>	27
<u>Tableau 2 - Diagnostic de la dépression, d'après le DSM-IV</u>	28
<u>Tableau 3 - Échelles d'appréciation de la dépression</u>	29
<u>Tableau 4 – Classification des récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄</u>	42
<u>Tableau 5 – Classification des récepteurs 5-HT₅, 5-HT₆, 5-HT₇</u>	43
<u>Tableau 6 – Réponses fonctionnelles associées à l'activation des récepteurs 5-HT_{1A} centraux</u>	48
<u>Tableau 7 - Réponses fonctionnelles associées à l'activation des récepteurs 5-HT_{1B} centraux</u>	48
<u>Tableau 8 – Revue de la littérature récapitulant les principaux effets comportementaux décrits chez les souris KO 5-HT_{1B}</u>	55
<u>Tableau 9 – Revue de la littérature récapitulant les principaux effets décrits après administration d'éthanol ou de cocaïne chez les souris KO 5-HT_{1B}</u>	56
<u>Tableau 10 – Revue de la littérature récapitulant les principaux effets décrits en électrophysiologie et en neurobiochimie chez les souris KO 5-HT_{1B}</u>	57
<u>Tableau 11 – Comparaison de la réduction du transport de la sérotonine, de sa liaison au transporteur et de la quantité d'ARNm de différents génotypes du transporteur humain et murin de la sérotonine</u>	69
<u>Tableau 12 – Classification des récepteurs α_1-adrénergiques</u>	78
<u>Tableau 13 – Classification des récepteurs α_2-adrénergiques</u>	79
<u>Tableau 14 – Classification des récepteurs β-adrénergiques</u>	80
<u>Tableau 15 - Classification des antidépresseurs utilisés au cours des études comportementales et neurobiochimiques avec leur formule chimique</u>	94
<u>Tableau 16 - Effets de différents antidépresseurs dans le modèle d'ablation des bulbes olfactifs chez le Rat</u>	103
<u>Tableau 17 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le modèle d'ablation des bulbes olfactifs chez le Rat</u>	104
<u>Tableau 18 - Effets de différentes molécules dans le modèle d'ablation des bulbes olfactifs chez le Rat</u>	104
<u>Tableau 19 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de la nage forcée chez la Souris</u>	109

<u>Tableau 20 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de la nage forcée chez la Souris</u>	110
<u>Tableau 21 - Effets de différentes molécules dans le test de la nage forcée chez la Souris</u>	111
<u>Tableau 22 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de la nage forcée chez le Rat</u>	113
<u>Tableau 23 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de la nage forcée chez le Rat</u>	114
<u>Tableau 24 - Effets de différentes molécules dans le test de la nage forcée chez le Rat</u> .	115
<u>Tableau 25 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de suspension caudale chez la Souris</u>	118
<u>Tableau 26 - Effets de différentes molécules dans le test de suspension caudale chez la Souris</u>	119
<u>Tableau 27 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de suspension caudale chez la Souris</u>	120
<u>Tableau 28 - Effets de différents antidépresseurs dans le test du stress modéré chronique chez le Rat</u>	120
<u>Tableau 29 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test du stress modéré chronique chez le Rat</u>	121
<u>Tableau 30 - Effets de différentes molécules dans le test du stress modéré chronique chez le Rat</u>	121
<u>Tableau 31 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de résignation acquise chez le Rat</u>	123
<u>Tableau 32 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de résignation acquise chez le Rat</u>	124
<u>Tableau 33 - Effets de différentes molécules dans le test de résignation acquise chez le Rat</u>	125
<u>Tableau 34 - Comparaison de l'efficacité de la paroxétine et du citalopram sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline corticales chez la souris Swiss après un traitement chronique (1 mg/kg/j pendant 14 jours)</u>	196

ABRÉVIATIONS

[5-HT]ext	Concentration extracellulaire de sérotonine
[NA]ext	Concentration extracellulaire de noradrénaline
μl	Microlitre
5-HIAA	Acide 5-hydroxyindole acétique
5-HT	5-hydroxytryptamine ou sérotonine
8-OH-DPAT	8-hydroxy-2(di-n-propylamino)tétraline
AC	Adénylate cyclase
ACTH	Hormone adénocorticotrope
ADT	Antidépresseur tricyclique
AHA	Axe hypothalamo-hypophyso-adrénocorticotrope
AMPc	Adénosine 3', 5' monophosphate cyclique
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ASC	Aire sous la courbe
BDNF	Brain-derived neurotrophic facteur
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BO	Bulbectomie olfactive
CLHP-ED	Chromatographie liquide haute performance couplée à une détection électrochimique
CMS	Chronic mild stress, stress modéré chronique
CRF	Corticotropin-Releasing Hormone, hormone corticolibérine
DA	Dopamine
ED ₅₀	Dose efficace 50
FST	Forced swimming test, test de la nage forcée
GR 127,935	N-[4-méthoxy-3-(4-méthyl-1-pipérazinyl)-2'-méthyl-4'-(5-méthyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl) [1,1biphényl]-4carboxamide oxalate)
GTP	Guanosine triphosphate
GTPγS	Guanosine triphosphateγS
IC ₅₀	Concentration inhibitrice 50
IMAO	Inhibiteur de la monoamine oxydase
IRD	Inhibiteur de la recapture de la dopamine
IRSN	Inhibiteur de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline

IRSS	Inhibiteur de la recapture sélectif de la sérotonine
kg	Kilogramme
KO	Knock-out
LC	Locus coeruleus
LCR	Liquide céphalo-rachidien
LH	Learned helplessness, test de résignation acquise
MAO	Monoamine oxydase
mg	Milligramme
min	Minute
mol	Mole
mPFCx	Cortex médian préfrontal
NA	Noradrénaline
NET	Transporteur de la noradrénaline
NK-1	Récepteur aux neurokinines de type I
NO	azote
NRD	Noyau du raphé dorsal
PKA	Protéine kinase A
PKC	Protéine kinase C
PKG	Protéine kinase G
RMN	Résonnance magnétique nucléaire
s	Seconde
SERT	Transporteur de la sérotonine
SNC	Système nerveux central
TST	Tail suspension test, Test de suspension caudale,
VHPC	Hippocampe ventral
WAY 100635	N-[2-4(2-méthoxy-phényl)-1-pipérazinényl]éthyl]-N-(2-pyridinyl)cyclohexane carboxamide

INTRODUCTION

Quand j'ai débuté ce travail (1999) dans le laboratoire de Pharmacologie de Nantes (Faculté de Médecine) et dans celui de Châtenay-Malabry (Faculté de Pharmacie), une étude comportementale, réalisée à Nantes et une étude neurobiochimique, réalisée à Châtenay-Malabry (Malagié et al., 2001), avaient toutes deux montré, grâce à un modèle original, la souris « knock-out » privée de récepteur 5-HT_{1B} (KO 5-HT_{1B} issue de la souche 129/Sv et fabriquée par recombinaison homologue par le Pr René Hen, Columbia University, NY, USA) que l'activation indirecte des récepteurs 5-HT_{1B} par des inhibiteurs de la recapture sélectifs de la sérotonine (IRSSs) (paroxétine et citalopram essentiellement) limite l'efficacité de ces molécules. Ces résultats n'avaient cependant pas pu être publiés à l'époque dans un seul et même article. La principale raison évoquée par les évaluateurs internationaux de ce manuscrit était que les expériences de microdialyse et celles du test de la nage forcée (FST) avaient été réalisées à des doses d'IRSSs non comparables. En effet, en microdialyse, la paroxétine est active dès la dose de 1 mg/kg chez la Souris tandis que dans le test de la nage forcée réalisé dans cette même espèce animale, on ne commence à observer une diminution du temps d'immobilité (prédictive de l'efficacité clinique de cette molécule) qu'à une dose beaucoup plus importante.

De plus, l'utilisation de la souche de souris 129/Sv dans les modèles animaux de dépression comme le test de nage forcée a montré ses limites en terme de sensibilité de réponse aux IRSSs puisqu'il a fallu jusqu'à 22 animaux par groupes pour obtenir un effet statistiquement significatif (Trillat et al., 1998). La difficulté de ces souris de la souche 129/Sv à nager est peut être due au fait qu'elles ne possèdent pas de corps calleux, empêchant ainsi toutes communications entre les deux hémisphères cérébraux (Gardier et Bourin, 2001). La souche de souris est donc l'un des facteurs de variabilité qui pourrait aussi expliquer l'absence d'identité des doses dans les deux approches.

L'objectif de ma thèse a donc été tout d'abord d'explorer les facteurs supposés de variabilité (la souche, le sexe, l'âge des souris) afin de déterminer quels paramètres modifier pour sensibiliser le FST et « idéalement » de trouver un moyen d'obtenir une réponse dans les deux tests, FST et microdialyse, dans la même gamme de doses. Ceci présenterait l'avantage de pouvoir étudier l'existence d'une éventuelle corrélation *in vivo* entre les variations des

concentrations extracellulaires cérébrales d'un neurotransmetteur et l'efficacité comportementale antidépressive-like des IRSSs.

1. Administration unique d'antidépresseurs sérotoninergiques

J'ai tout d'abord travaillé sur les effets de l'âge sur la réponse des souris dans le FST (4 semaines et 40 semaines) (**article 1**). Ensuite, j'ai comparé chez des souris mâles et femelles (dans le FST et le test de suspension caudale, TST), les effets d'une administration unique d'antidépresseur sur la baisse du temps d'immobilité (**article 2**). Puis j'ai étudié l'incidence du fond génétique des souris sur leur réponse dans le FST (Swiss, NMRI, DBA/2, C57BL/6 Rj) (**article 3**). Je me suis alors intéressé, en utilisant les mêmes gammes de doses d'antidépresseurs que celles de la précédente étude, aux réponses de ces quatre souches de souris dans le TST (**article 4**).

Au cours de ces différents travaux de recherche, utilisant l'administration d'une dose unique d'antidépresseur, nous avons mis en évidence l'existence de facteurs de variabilité (âge, genre, souche) entraînant des différences en terme de taille d'effets. La principale conclusion de ces quatre études comportementales est que la souris mâle Swiss âgée de 4 semaines, paraît être la mieux adaptée pour permettre la détection avec une bonne sensibilité d'une baisse du temps d'immobilité dans le FST après administration d'une dose unique d'IRSS.

A l'aide de la technique de microdialyse intracérébrale *in vivo*, je me suis alors intéressé à l'effet de l'administration d'une dose unique d'antidépresseurs IRSSs sur les concentrations extracellulaires de sérotonine chez la souris mâle Swiss âgée de 4 semaines. J'ai étudié la sélectivité d'effet de ces molécules *in vivo* en mesurant de façon concomitante chez la même souris les concentrations extracellulaires corticales de noradrénaline et de sérotonine. De façon surprenante, nous montrons que la paroxétine et le citalopram selon la dose administrée par voie systémique (1, 4 et 8 mg/kg) augmentent les concentrations corticales de 5-HT mais aussi celle de NA. Les effets noradrénergiques de ces molécules apparaissent à des doses différentes (**articles 6**).

2. Administration chronique d'antidépresseurs sérotoninergiques

Les antidépresseurs étant destinés à être administrés de façon répétée chez l'Homme en thérapeutique, nous nous sommes logiquement intéressés aux effets neurobiochimiques de

l'administration chronique d'un IRSS (paroxétine) sur les concentrations extracellulaires cérébrales de sérotonine chez la Souris. Nous avons comparé les effets d'un traitement de paroxétine (1 mg/kg/jour pendant 14 jours) chez les souris contrôles WT et les KO 5-HT_{1B} (**article 5**). Nos résultats suggèrent qu'il existe des différences régionales d'activation des autorécepteurs 5-HT_{1B} car ceux-ci exercent un rôle régulateur sur les concentrations extracellulaires de 5-HT variables selon la zone cérébrale considérée, le cortex médian préfrontal ou l'hippocampe ventral. La comparaison des résultats obtenus entre les souris contrôles et celles mutées KO 5-HT_{1B} montre que ces récepteurs, après un traitement chronique de paroxétine, ont gardé leur capacité à limiter la libération de 5-HT. Cette étude a mis l'accent sur la voie sérotoninergique raphé médian / hippocampe ventral et récepteurs 5-HT_{1B} terminaux (la voie sérotoninergique raphé dorsal / cortex frontal) étant plutôt régulée par les récepteurs 5-HT_{1A} somatodendritiques). Cette étude m'a surtout permis de sélectionner les paramètres retenus dans le protocole d'administration chronique : mini-pompe osmotique, doses d'IRSSs administrées, délai de « wash-out » (période de désimprégnation), nature et rythme d'administration d'une dose test d'IRSS.

Après avoir mis en évidence, chez la souris Swiss, un effet de la paroxétine et du citalopram sur les concentrations noradrénergiques corticales (**article 6**), j'ai voulu vérifier, en utilisant l'approche neurobiologique *in vivo*, si, après 14 jours de traitement chronique de paroxétine ou de citalopram (1 mg/kg/jour), l'administration d'une dose unique d'un de ces deux antidépresseurs, modifiait 24h après le retrait de la mini-pompe, les effets noradrénergiques observés après administration d'une dose unique d'IRSS. Après les 14 jours de traitement chronique, les effets de l'administration unique d'un IRSS sur l'augmentation des concentrations extracellulaires de NA dans le cortex frontal sont maintenues dans le cas du citalopram, mais disparaissent dans le groupe traité avec la paroxétine. En utilisant le même protocole d'administration chronique, j'ai voulu étudier, par l'approche comportementale, si l'administration d'une dose unique d'IRSS (8 mg/kg), potentialisait l'effet « antidépresseur-like » chez la souris Swiss. Dans le FST, un traitement chronique par un IRSS (paroxétine ou citalopram, 1 mg/kg pendant 14 jours) potentialise la baisse du temps d'immobilité induite par une dose test de paroxétine (8 mg/kg), mais diminue la taille de l'effet « antidépresseur-like » d'une dose test de citalopram. Il existerait donc une corrélation inverse entre la concentration extracellulaire corticale de NA et l'efficacité antidépressive (en terme de taille de l'effet des IRSSs) chez la souris : quand la première est basse, la deuxième est élevée.

Ce dernier travail présente l'intérêt de mesurer une réponse chez la souris avec une dose moyenne identique d'IRSS (8 mg/kg) dans les deux tests expérimentaux choisis, la microdialyse *in vivo* et le FST. Il permet également de mettre en évidence un facteur de variabilité non encore décrit à ce jour chez la souris, entre les deux IRSSs, paroxétine et citalopram, l'effet noradrénergique. Nos résultats suggèrent qu' *in vivo*, la noradrénaline pourrait être un paramètre limitant l'efficacité antidépresseur-like des IRSSs dans le cortex médian préfrontal, par exemple.

J'ai focalisé la synthèse de la littérature sur les systèmes sérotoninergique et noradrénergique : d'une part les rôles exercés par certains sous-types de récepteurs comme les 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} ou le récepteur alpha-2 adrénergique, d'autre part les transporteurs sérotoninergique et noradrénergique, cibles privilégiées des antidépresseurs.

SYNTHÈSE DE LA LITTÉRATURE

1. La dépression

1.1. Sémiologie

En médecine, le concept de « dépressions » modérée ou majeure concerne une maladie avec des symptômes précis, caractéristiques, associés à des troubles accessoires (Lôo et Lôo, 2001). La dépression se définit d'abord par la dégradation de l'humeur, de l'élan vital, mais aussi par des symptômes biologiques et cognitifs. Les dépressifs ont souvent des rythmes circadiens désynchronisés, des troubles du sommeil se traduisant le plus souvent par une l'insomnie et un réveil précoce, ainsi qu'un dégoût pour la nourriture, caractérisant le sentiment d'anhédonie. Divers autres troubles somatiques (palpitations, vertiges, tremblements, spasmes) sont observés dans toutes les formes de dépression et sont en fait la transposition physique du malaise psychique. Toute dépression comporte une perturbation thymique ou affective qui retentit sur l'activité intellectuelle et motrice, elle traduit alors des périodes de tristesse et d'abattement qui alternent avec les phases d'excitation et d'euphorie de la psychose maniaco-dépressive.

Le trouble thymique ou humeur dépressive apparaît de manière insidieuse. Le sujet est alors pris d'un vague sentiment d'ennui, de morosité ainsi que d'un sentiment d'abattement, de dévalorisation, d'autodépréciation. Le déprimé est aussi envahi d'une absence de motivations, de plaisirs, l'anhédonie, traduisant une incapacité à élaborer des projets. Henri et Pierre Lôo ont résumé de manière plus ou moins explicite les troubles qu'expriment les déprimés :

- la tristesse, le désespoir ;
- l'ennui pour toute activité, même de loisir ;
- l'absence de motivations ;
- des sentiments d'incapacité et d'autodépréciation ;
- la perte d'intérêt pour la vie qui débouche parfois sur un désir de mort, formulé ou caché ;
- l'évaluation pessimiste de l'avenir où la situation paraît inexorablement bloquée.

1.2. Évaluation des maladies dépressives

Le diagnostic est une étape importante de la prise en charge des maladies dépressives car il conditionne les choix thérapeutiques et permet de porter un pronostic sur l'évaluation de la maladie. La reconnaissance de l'épisode dépressif caractérisé nécessite d'identifier de nombreux symptômes et de préciser leur évolution. Des critères standardisés selon un consensus international sur la terminologie sont utilisés pour séparer la dépression « normale » provoquée par un trouble passager de l'humeur. Ils servent aussi à distinguer le sentiment de bien être de celui d'être mieux que bien, d'être si expansif et irritable que l'on parle de manie (Stahl, 2002). Il existe actuellement deux systèmes de classification qui utilisent des critères pour établir ce diagnostic.

La dixième édition de la Classification internationale des maladies (CIM-10) parue en 1996 sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé propose une classification officielle des dépressions (tableau 1). Cette classification, reposant sur des données cliniques, introduit la notion de gravité des épisodes de troubles de l'humeur.

Des systèmes de critères diagnostiques exclusivement descriptifs et précis ont paru plus adaptés pour désigner les types de dépression et les différencier. Les critères diagnostiques des troubles de l'humeur sont en constant remaniement, et la nosologie actuelle est fixée par la quatrième édition du Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (Diagnostic and Statistical Manual, ou DSM IV) (tableau 2). La lecture des critères diagnostiques des catégories de dépression selon le DSM IV permet de se familiariser avec ses multiples expressions formulées de manière pratique, concrète. La classification du DSM IV repose essentiellement sur la nature, l'intensité et la durée des symptômes.

Des échelles comme l'échelle de Hamilton (Hamilton, 1960) ou l'échelle de Montgomery et Asberg (Montgomery et Asberg, 1979) permettant de fixer un minimum de gravité et servant à suivre l'intensité de la symptomatologie dépressive sont couramment utilisées lors d'essai thérapeutique afin d'inclure le malade dans l'étude. Elles ne prétendent pas être un répertoire exhaustif des symptômes dépressifs. En aucun cas, ces échelles ne permettent le diagnostic de dépression, qui nécessite l'utilisation d'échelles de critères diagnostiques (tableau 3). L'échelle de dépression de Hamilton reste à ce jour l'échelle de dépression la plus utilisée dans le monde (Guelfi, 1993).

Tableau 1 - Diagnostic de la dépression, d'après l'ICD-10

D'après Loveston et Howard, 1997

Symptômes généraux de dépression

- Humeur dépressive
- Perte d'intérêt
- Perte d'énergie

Autres symptômes de dépression

- Diminution de la concentration
- Diminution de l'estime de soi
- Sentiments de culpabilité
- Pessimisme à propos de l'avenir
- Automutilation ou idées suicidaires
- Troubles du sommeil
- Diminution de l'appétit

Dépression légère

- Au moins deux symptômes généraux et deux autres symptômes
- Il peut y avoir détresse mais le fonctionnement reste adéquat

Dépression modérée

- Au moins deux symptômes généraux et trois ou quatre autres symptômes
- La durée est d'au moins deux semaines et le fonctionnement est perturbé

Dépression sévère

- Les trois symptômes généraux et au moins quatre autres symptômes
 - Les symptômes sont intenses et le fonctionnement est profondément affecté
-
-

Tableau 2 - Diagnostic de la dépression, d'après le DSM-IV

D'après Loveston et Howard, 1997

Au moins cinq des symptômes suivants doivent avoir été présents pratiquement quotidiennement pendant une même période de deux semaines. Au moins un des symptômes est soit (1) une humeur dépressive ou (2) une perte d'intérêt ou de plaisir.

- Humeur dépressive pendant la majeure partie de la journée
- Diminution très nette de l'intérêt ou du plaisir lors des activités normales (anhédonie)
- Perte ou gain de poids significatif
- Insomnie ou hypersomnie
- Agitation ou ralentissement psychomoteur
- Fatigue ou perte d'énergie
- Sentiments de dévalorisation ou culpabilité excessive
- Diminution de la capacité de concentration
- Pensées récurrentes de mort, pensées suicidaires, tentatives de suicide

Il doit y avoir une détresse clinique significative ou une limitation du fonctionnement. Les symptômes ne peuvent pas être dus à une affection médicale générale ou induits par une substance (toxicomanie ou médicament).

Tableau 3 - Échelles d'appréciation de la dépression

D'après Léo et Léo, 2001

L'échelle de Hamilton : 25 items cotés de 1 à 3 ou de 1 à 5 , explicités par une phrase ou quelques mots.

Humeur dépressive, sentiments de culpabilité, suicide, insomnie du début de la nuit, insomnie du milieu de la nuit, insomnie du matin, travail et activités, ralentissement, agitation, anxiété psychique, anxiété somatique, symptômes somatiques généraux, symptômes génitaux, hypochondrie, perte de poids selon les dires du malade, perte de poids appréciée par pesée, prise de conscience, variations de la symptomatologie dans la journée, dépersonnalisation et déréalisation, symptômes délirant (persécutifs), symptômes obsessionnels et compulsifs, sentiment d'impuissance, sentiment d'être sans espoir, sentiment de dévalorisation.

L'échelle de Montgomery et Asberg (MADRS) : 10 items et 6 degrés d'intensité croissante avec des points définis (0, 2, 4, 6) et des points intermédiaires sans définition.

1. Tristesse apparente, 2. Tristesse exprimée, 3. Tension intérieure, 4. Réduction de sommeil, 5. Réduction de l'appétit, 6. Difficultés de concentration, 7. Lassitude, 8. Incapacité à ressentir, 9. Pensées pessimistes, 10. Idées de suicide
-

1.3. Effets des traitements antidépresseurs sur les troubles de l'humeur

La plupart des épisodes dépressifs non traités durent entre 6 et 24 mois et cette maladie comporte des épisodes récurrents. Le traitement de la dépression peut être divisé en plusieurs périodes (figure 1). La première est la phase aiguë au cours de laquelle on observe la réponse au traitement antidépresseur. La seconde, où l'amélioration de l'humeur du patient persiste, est la phase de consolidation. Enfin, la troisième phase est celle de la maintenance où le traitement empêche la rechute de l'épisode dépressif. L'amélioration d'un patient par un traitement par antidépresseur est décrite par 3 mots : réponse, rémission, rétablissement (Stahl, 2002). Le terme « réponse au traitement » indique qu'il y a une réduction du score initial d'au moins 50% sur l'échelle de Hamilton (Gumnick et al., 2000). Si cet état dure de 6 à 12 mois, on ne parle plus de rémission mais de guérison. L'aggravation d'une dépression est décrite par les mots « rechute » et « récurrence ». Si l'état du patient s'aggrave pendant la période de rémission, on parle de rechute. Si un patient s'aggrave quelques mois après la guérison, on parle de récurrence.

La moitié à deux tiers des patients répondent à n'importe quel antidépresseur et la moitié des répondeurs bénéficie d'une rémission complète de leurs symptômes dépressifs au cours des six premiers mois de traitement. De plus, si le thérapeute essaie successivement plusieurs antidépresseurs différents ou une combinaison d'antidépresseurs, 90% des patients, voire davantage, répondent. Enfin, les antidépresseurs diminuent le risque de rechute. Ces différentes constatations ont permis de conclure que le traitement doit être maintenu au-delà de la réponse afin de prévenir la rechute. Les études de suivi de patients déprimés traités pendant 1 an montrent qu'environ 40% d'entre eux le sont encore au bout de cette période (Stahl, 2002). Mais certains malades n'accéderont jamais à la rémission (Gumnick et al., 2000). Ces malades, dits répondeurs apathiques (anhédonie, absence de motivation) ou répondeurs anxieux (anxiété généralisée, insomnie), répondent partiellement au traitement et se sentent mieux, sans retrouver pour autant leur état psychique initial. Le fait de ne pas parvenir pour autant à la rémission signifie que la probabilité de rechute est élevée. Enfin, les études démontrent qu'environ 30% des patients traités par les antidépresseurs sont des non-répondeurs, résistants à tout traitement.

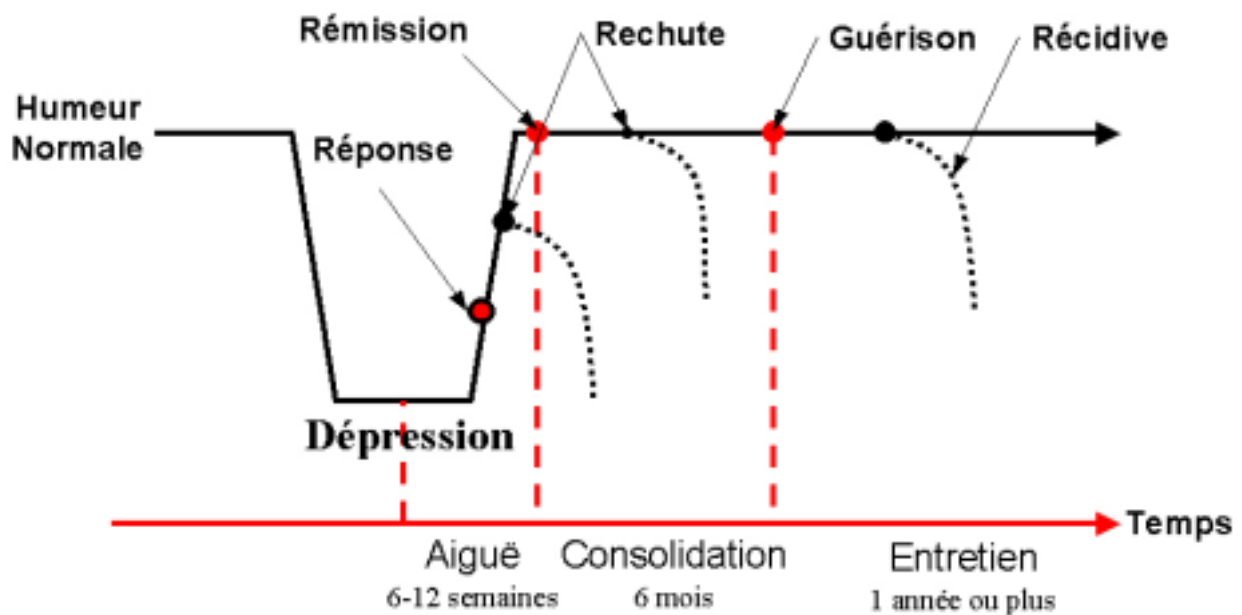


Figure 1 – Les phases du traitement de la dépression

Lorsque le traitement de la dépression apporte au moins 50% d'amélioration, on parle de réponse. Lorsque le traitement de la dépression supprime tous les symptômes, on parle de rémission pendant les premiers mois, puis de guérison si ce phénomène dure plus de 6 mois. *D'après Stahl, 2002*

2. Étiologie de la dépression

2.1. Hypothèses monoaminergiques

La dépression est une pathologie hétérogène résultant d'un dysfonctionnement de certains neurotransmetteurs ou de leur métabolisme (Duman et al., 1997). Bien que plusieurs hypothèses aient été émises, l'étiologie de la dépression est encore mal définie.

La théorie majeure de la dépression, i.e., la théorie monoaminergique, propose que cette maladie soit due en particulier à une déficience en 5-hydroxytryptamine, sérotonine (5-HT) ou en noradrénaline (NA) au niveau du cerveau (Schildkraut et al., 1965 ; Coppen, 1967 ; Bunney, 1965). De faibles concentrations en noradrénaline, sérotonine et son métabolite majeur, le 5-HIAA, ont été retrouvées dans le liquide céphalo-rachidien de patients déprimés suicidés (Bourne et al., 1968 ; Beskow et al., 1976). Des molécules supprimant les stocks vésiculaires de monoamines dans les terminaisons neuronales peuvent induire un état dépressif. L'utilisation de la reserpine dans le traitement de l'hypertension artérielle a montré que cette molécule favorisait l'apparition d'un état dépressif (Lemieux et al., 1956). De même, chez un groupe de patients déprimés récemment guéris, mais encore sous traitement par un antidépresseur (désipramine, imipramine, fluvoxamine), l'ingestion pendant 24 heures d'une alimentation en faible teneur de tryptophane (160 mg/jour), l'acide aminé précurseur de la 5-HT, a produit une immédiate, mais réversible rechute des symptômes dépressifs chez 67% des patients (Delgado et al., 1990). Les changements comportementaux observés chez ces patients semblent être associés à une diminution de la disponibilité en 5-HT. De plus des observations cliniques ont montré que les premiers antidépresseurs, comme les IMAOs en inhibant la monoamine oxydase (MAO) ou les tricycliques (ADT) en bloquant la recapture de la 5-HT et de la NA, amélioreraient les troubles de l'humeur dépressive. Il fut alors logiquement évoqué que les antidépresseurs étaient efficaces en réparant une insuffisance de neurotransmission.

Enfin, la déplétion en neurotransmetteurs monoaminergiques provoquerait un fonctionnement anormal des récepteurs des monoamines, se traduisant par une hypersensibilisation des récepteurs postsynaptiques. Des études postmortem réalisées chez des patients déprimés ont mis en évidence une augmentation de la densité des récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques et 5-HT₂ (Arora et Meltzer, 1989 ; Yates et al., 1990). Cependant d'autres études tendent à infirmer cette hypothèse, tout au moins pour le récepteur 5-HT₂ (Cheetham et al., 1988 ; Meyer et al., 1999).

2.2. Principales autres hypothèses

2.2.1. Théories moléculaire et cellulaire de la dépression

De récentes études ont permis de caractériser des actions du stress et des traitements par antidépresseurs au delà du neurotransmetteur-récepteur (Duman et al., 1997). Une hypothèse neurodégénérative de la physiopathologie de la dépression a été suggérée avec comme acteur principal un facteur neurotrophique, le “ brain-derived neurotrophic facteur ” (BDNF) (Duman et al., 1997 ; Duman, 2001) chargé d’augmenter la survie et la croissance des neurones hippocampiques (Sklair-Tavron et Nestler, 1995). Il a aussi été démontré qu’un stress chronique (stress d’immobilisation, intrusion d’un congénère) pouvait provoquer aussi bien une réduction de la neurogénèse cellulaire hippocampique (Gould et al., 1998 ; Smith et al., 1995) qu’une diminution des projections dendritiques, une mort neuronale (Magarinos et al., 1996) et une diminution des facteurs neurotrophiques, comme le BDNF, dans l’hippocampe et le cortex frontal (McEwen, 1999). Par ailleurs, un traitement chronique par électroconvulsivothérapie ou un traitement chronique par antidépresseurs (désipramine, imipramine, fluoxétine, sertraline), ont tous deux démontré qu’ils augmentaient les concentrations de BDNF et de l’ARNm codant pour son récepteur, le TrkB, dans l’hippocampe (Nibuya et al., 1995 ; Nibuya et al., 1996). Dans un modèle animal de dépression, le test de résignation acquise chez le Rat, il a récemment été montré qu’un traitement chronique par les antidépresseurs ou par la sismothérapie empêchait la diminution de l’expression du BDNF induite par le stress (Vollmayr et al., 2001). Il semblerait que l’expression du BDNF et de son récepteur TrkB soit positivement régulée par la voie de transduction dépendant de l’AMPc et par l’expression du “ cAMP response element binding protein ” (CREB). En effet, d’une part, l’administration d’ARNm antisens de CREB diminue les concentrations basales de BDNF dans l’hippocampe (Duman et al., 1994), d’autre part, l’activation de la voie de couplage dépendant de l’AMPc dans des cultures cellulaires d’astrocytes augmente l’expression du BDNF et de TrkB (Conadorelli et al., 1994).

2.2.2. Théorie endocrinienne de la dépression

Une relation entre les maladies endocriniennes et la dépression a été notée il y a quelques années et de nombreuses données indiquent un mauvais rétrocontrôle négatif du

système endocrinien dans la dépression. Les perturbations du système hormonal dans la dépression sont associées notamment à une hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophyso-adrénocorticotrope (HHA) reliant l'hypothalamus, l'hypophyse et les glandes corticosurrénales (Vétulani et Nalepa, 2000 ; Ansseau, 1997). Alors que la production de cortisol est stimulée par l'hormone adénocorticotrope (ACTH), elle-même stimulée par deux neurohormones, la vasopressine et la corticolibérine (CRF : Corticotropin-Releasing Factor), inversement, la production de cortisol freine par rétrocontrôle la production de CRF et d'ACTH. Dans la dépression, il existe une production accrue de cortisol incapable de freiner en retour la production de CRF et d'ACTH (Nemeroff, 1998 ; Sheline, 2000). Certaines études montrent dans le LCR de patients déprimés, des concentrations élevées en CRF (Banki et al., 1987 ; Nemeroff et al., 1994). En clinique, le test de freination à la dexaméthasone objective l'hypersécrétion de cortisol. Lors de ce test chez le sujet sain, l'administration de 1 mg de dexaméthasone, cortisone synthétique, freine le CRF, donc la sécrétion d'ACTH et diminue la production de cortisol. Chez presque la moitié des déprimés, l'administration de dexaméthasone n'entraîne pas de chute de la concentration du cortisol plasmatique, indiquant un dysfonctionnement du système endocrinien. Quelques compagnies pharmaceutiques développent actuellement des antagonistes des récepteurs au CRF en tant qu'antidépresseur ou anxiolytique. La majorité des molécules en développement sont des antagonistes CRF₁ (Nemeroff, 1998). Lors d'une étude clinique réalisée chez 20 patients atteints d'épisode majeur dépressif, le R121919, un des antagonistes des récepteurs CRF₁ a amélioré l'humeur des malades (Zobel et al., 2000).

2.2.3. Hypothèse neurokininergique du dysfonctionnement émotionnel

Il existe une autre hypothèse physiopathologique de la dépression selon laquelle entre en jeu une classe de peptides neurotransmetteurs, les neurokinines, appelées aussi tachykinines comprenant la substance P, la neurokinine A, la neurokinine B avec les récepteurs NK1, NK2 et NK3 pour récepteurs respectifs. Les neurokinines sont présentes dans différentes aires cérébrales riches en monoamines, suggérant un rôle de régulation potentiel de ces neuropéptides sur les neurotransmissions monoaminergiques. Le rôle de la substance P comme agent dépressogène a été suggéré par le fait que l'administration chronique d'un antidépresseur réduit les concentrations de substance P dans le striatum, la substance noire et l'amygdale (Shirayama et al., 1996). Il semblerait d'ailleurs que la cible thérapeutique

potentielle des antagonistes des récepteurs NK₁ se situerait dans l'amygdale, siège important de la régulation de l'humeur (Boyce et al., 2001). De plus, il a récemment été démontré chez des souris n'exprimant pas de manière constitutive le récepteur NK₁ (souris KO NK₁^{-/-}), que le récepteur 5-HT_{1A} était désensibilisé, comme après un traitement chronique par IRSS (Froger et al., 2001 ; Santarelli et al., 2001). Bien que l'évaluation de l'efficacité de certains antagonistes NK₁ soit restée pendant très longtemps difficile chez les rongeurs du fait de la faible affinité du récepteur pour ce ligand, quelques nouveaux composés très prometteurs semblent confirmer l'efficacité de ces molécules dans la dépression. Le L-733060, un antagoniste du récepteur NK-1, entraînerait une action antidépressive chez des personnes atteintes d'épisode dépressif majeur (Kramer et al., 1998). Cette activité antidépressive du L-733060 a été retrouvée lors d'une étude préclinique utilisant un modèle animal prédictif de l'efficacité clinique d'un antidépresseur, TST chez la gerbille (Varty et al., 2003). D'ailleurs lors de la même étude, d'autres antagonistes NK1, (L-742,94, CP-99,994, CP-122,721 ou MK-869) présentent une « activité antidépressive-like » très prometteuse. Ce dernier composé, le MK-809, qui au départ avait été évalué chez l'Homme dans l'anxiété, semble avoir des propriétés cliniques antidépressives (Baby et al., 1999).

3. Les systèmes monoaminergiques

3.1. Rappel de quelques éléments concernant le système sérotoninergique central

3.1.1. Synthèse, libération, inactivation, localisation et rôle physiologique de la sérotonine

La 5-HT est une indolamine qui est retrouvée aussi bien au niveau périphérique que central où elle représente environ 2% de la 5-HT corporelle (Cooper et al., 1991). La 5-HT périphérique est synthétisée par les cellules entérochromaffines de l'intestin tandis la 5-HT retrouvée au niveau du système nerveux central, est synthétisée *in situ* car elle ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique (BHE). La biosynthèse de la 5-HT s'effectue par des enzymes à partir d'un acide aminé précurseur, le L-tryptophane, présent dans l'alimentation et véhiculé du sang vers le SNC par un transporteur commun à d'autres acides aminés neutres à longue chaîne (Fernström et Wurtman, 1972 ; Young et Sourkes, 1977 ; Kühn et al., 1986) (figure 2). Une fois entré dans le neurone, le L-tryptophane est transformé en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par la tryptophane hydroxylase, enzyme dont on vient d'identifier une deuxième isoforme, la Tph2 (Walther et al., 2003). Cette étude a conclu que l'isoforme Tph1 est retrouvée à la périphérie (duodénum) tandis que l'isoforme Tph2 est exprimée dans le SNC. Cette réaction d'hydroxylation constitue l'étape limitante de la synthèse de 5-HT. Le 5-HTP formé est ensuite décarboxylé par une enzyme pour donner la 5-HT sous sa forme finale. La sérotonine est ensuite stockée dans les vésicules synaptiques où elle demeurera jusqu'à sa libération. Celle-ci fait intervenir deux modes physiologiques opposés, l'un calcium (Ca^{2+})-dépendant (exocytose) et l'autre Ca^{2+} -indépendant. Le premier des modes cités entraîne une libération « quantique » de 5-HT selon un processus d'exocytose et tétródotoxine (TTX) sensible (Sharp et al., 1990). Le second mode de libération, Ca^{2+} -indépendant et TTX insensible (Rudnick et Wall, 1992a, 1992b), mobilise le transporteur selon un mode « inverse », du milieu intraneuronal vers le milieu extraneuronal. La quantité disponible de 5-HT endogène peut être modulée de différentes manières : un transporteur membranaire sélectif de la 5-HT est capable de recapter 80% du neurotransmetteur libéré, la 5-HT est catabolisée par voie enzymatique en 5-HIAA et excrétée dans l'urine. La 5-HT est

alors dégradée par la MAO intraneuronale intramitochondriale, principalement de forme B chez le Rat, pour les neurones sérotoninergiques (Saura et al., 1992).

La première cartographie des voies sérotoninergiques a été réalisée par histochimie de fluorescence (Dahlström et Fuxe, 1964) puis la technique d'immunohistochimie a permis d'affiner les connaissances sur la localisation précise des neurones sérotoninergiques et de leurs projections (Steinbush, 1981 ; Steinbush et Niewenhuys, 1983). Les neurones sérotoninergiques sont restreints à des groupes de cellules autour de la ligne du pont et du cerveau moyen supérieur, numérotés de B1 à B9 correspondant aux noyaux du raphé (Dahlström et Fuxe, 1964) (figure 3). Les groupes de cellules les plus caudales dans le raphé projettent majoritairement dans la moelle épinière par des voies descendantes. Les cellules les plus rostrales du raphé dorsal (B7) (NRD) et médian (B8) projettent dans les structures limbiques comme l'hippocampe et le cortex par des voies ascendantes.

Il faut noter que la sérotonine est l'un des principaux neurotransmetteurs impliqués dans des effets physiologiques aussi diversifiés que la régulation des comportements alimentaires, la thermorégulation, le comportement sexuel, l'anxiété, la dépression, la motilité intestinale et plus généralement les muscles lisses (bronches, utérus) et enfin dans la régulation de l'activité nerveuse sympathique et parasympathique des vaisseaux du cœur (figure 4). Ceci peut être relié à la grande diversité de types et de sous-types de récepteurs (16 identifiés à ce jour).

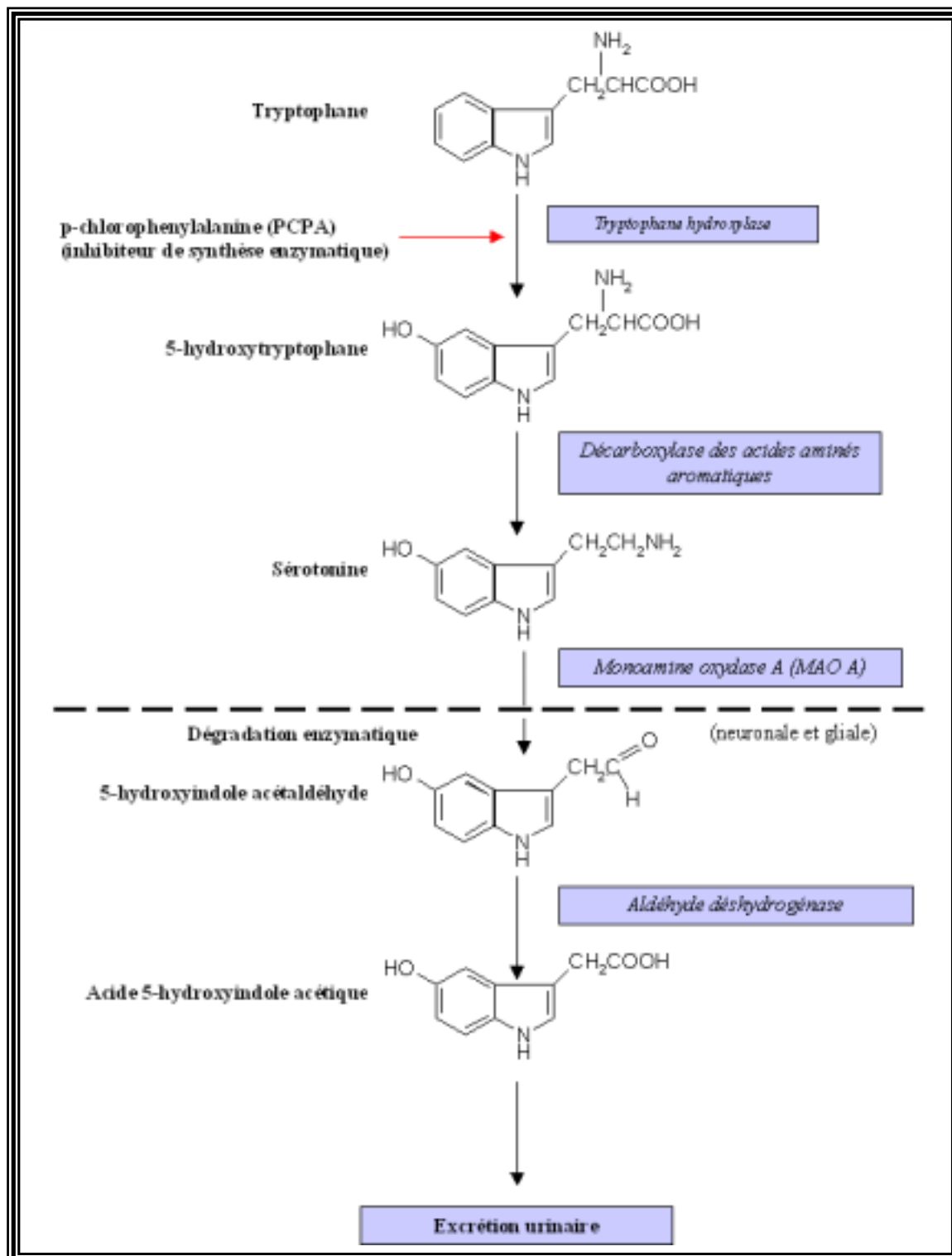


Figure 2 – Voies de biosynthèse et d'inactivation de la sérotonine

L'étape limitante dans la voie de biosynthèse de la sérotonine est catalysée par une enzyme, la tryptophane hydroxylase. Dans le système nerveux, cette enzyme est exclusivement localisée dans les neurones sérotoninergiques.

D'après Hamon, 1995

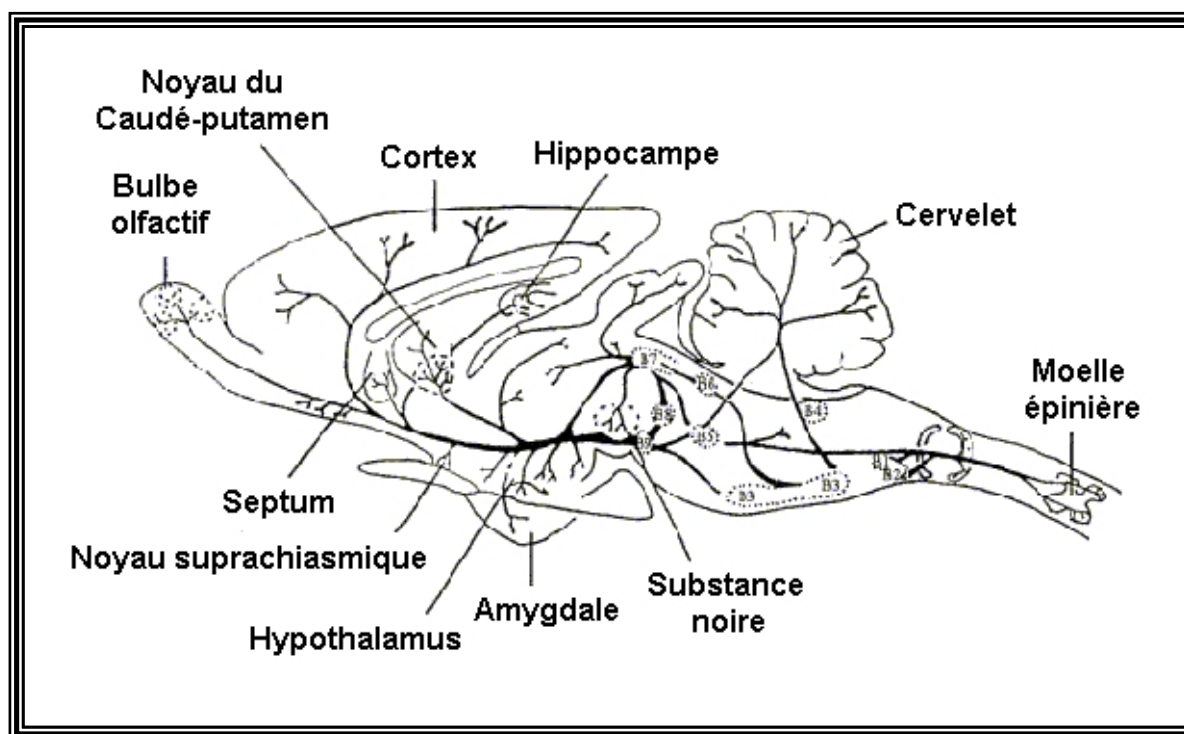
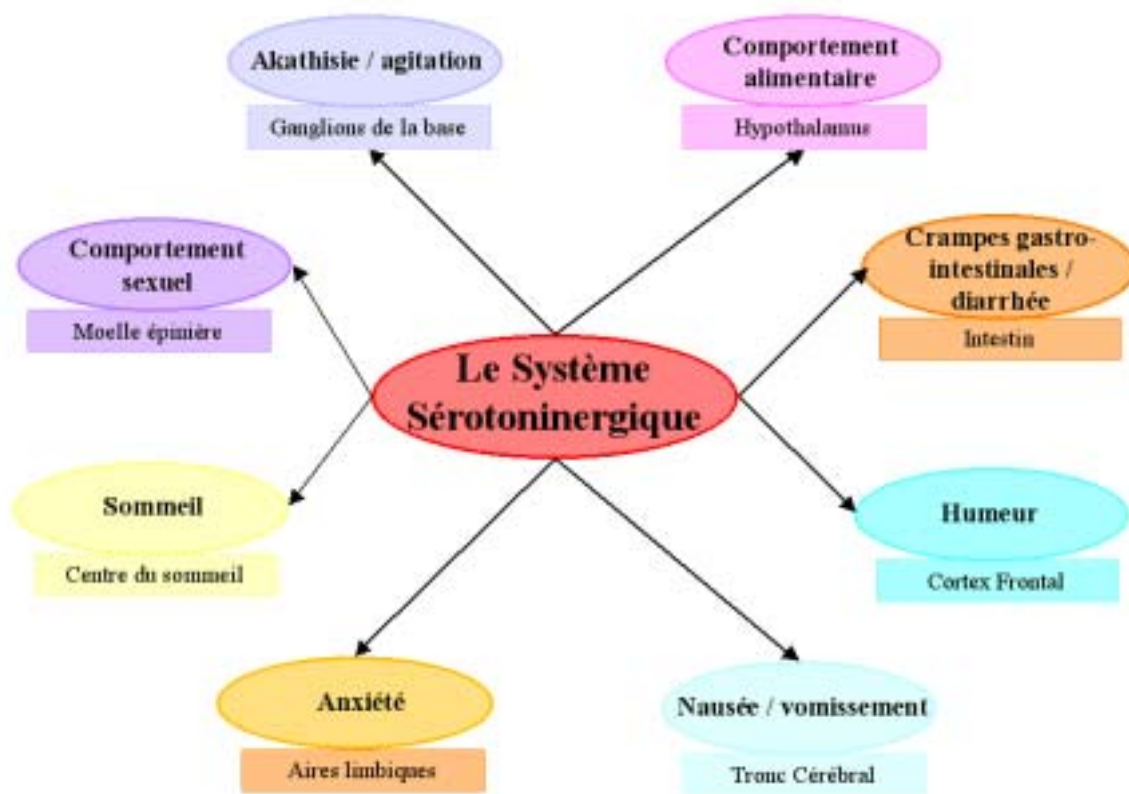


Figure 3 – Représentation schématique de l'innervation sérotoninergique du Système Nerveux Central du Rat

Les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques sont regroupés essentiellement en noyaux localisés dans la région sagittale du tronc cérébral numérotés de B1 à B9. Les fibres qui en partent se projettent dans l'ensemble de l'encéphale et de la moelle épinière.

Nomenclature des noyaux du raphé

	Groupe	Structure anatomique
Noyaux caudaux	B1	Raphé pallidus
	B2	Raphé obscurus
	B3	Raphé magnus
	B4	Substance grise périventriculaire, Area postrema
Noyaux rostraux	B5	Raphé medianis caudal Raphé pontis
	B6	Raphé dorsalis caudal
	B7	Raphé dorsalis rostral
	B8	Raphé medianis rostral
		Noyau caudalis linearis
	B9	Raphé pontis oralis Région supraleemiscale



D'après Stahl, 2002

Figure 4 – Structures cérébrales impliquées dans les effets de la sérotonine
La sérotonine exerce des effets variés tant au niveau du système périphérique que central.

3.1.2. Classification et rôles des récepteurs sérotoninergiques

3.1.2.1. Classification des récepteurs 5-HT

La classification actuelle des récepteurs sérotoninergiques s'avère être très hétérogène (Barnes et Sharp, 1999 ; Hoyer et al., 2002). Hormis le récepteur 5-HT₃ qui appartient à la super-famille des récepteurs ionotropiques, tous les autres font majoritairement partie de la super-famille des récepteurs métabotropiques formés de 7 domaines transmembranaires et couplés aux protéines G. Cette nomenclature classe les seize sous-types de récepteurs sérotoninergiques en sept familles : 5-HT₁ (1A, 1B/1D, 1E, 1F) ; 5-HT₂ (2A, 2B, 2C) ; 5-HT₃ (3A, 3B, 3C), 5-HT₄, 5-HT₅ (5A, 5B), 5-HT₆ et 5-HT₇ (tableaux 4, 5). Pour certains d'entre eux, comme les récepteurs 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{5B}, leur rôle physiologique reste à définir, aussi la nomenclature internationale nomme ces récepteurs sous forme minuscule « 5-ht ». Concernant le gène codant pour le récepteur 5-HT_{1B}, un préfixe « r » pour rat et « h » pour humain est accolé à 5-HT_{1B} pour tenir compte des différences de profil pharmacologique que ce récepteur présente entre les différentes espèces mammaliennes considérées (Barnes et Sharp, 1999)

Je limiterai le développement bibliographique aux récepteurs de la 5-HT dont j'ai plus particulièrement étudié le rôle lors des études comportementales ou de microdialyse intracérébrale chez la souris. Des techniques *in vitro* permettent de localiser le récepteur [immunohistochimie, autoradiographie sur coupes, hybridation *in situ*, RTP-PCR (Reversed transcriptase polymerase chain reaction)], de mesurer l'activation des protéines G [³⁵S]GTPγS] ou à partir d'études *in vivo* permettent de caractériser l'activité fonctionnelle du récepteur (électrophysiologie sur coupe de cerveau ou chez l'animal anesthésié, microdialyse cérébrale *in vivo*, études comportementales) ; je limiterai donc les données bibliographiques aux deux sous-types de récepteurs 5-HT₁, les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B}.

Tableau 4 – Classification des récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄*D'après Hoyer et al., 2002***Récepteurs 5-HT₁**

	5-HT _{1A}	5-HT _{1B}	5-HT _{1D}	5-HT _{1E}	5-HT _{1F}
Ancien nom	-	5-HT _{1DB}	5-HT _{1DB}	-	5-HT _{1EB} , 5-HT ₆
Agonistes sélectifs	8-OH-DPAT	sumatriptan (rat) L694247	sumatriptan (rat) PNU 109291	-	LY 334370
Antagonistes sélectifs (pK _B)	(±) WAY 100635 (8,7)	GR 55562 (7,4) SB224289 (8,5) SB 236057 (8,9)	BRL 15572 (7,9)		
Marqueurs radioactifs	[³ H]WAY 100635 [³ H]-8-OH-DPAT	[¹²⁵ I]GTI [¹²⁵ I]CYP (rat) [³ H]-sumatriptan [³ H]-GR 125743	[¹²⁵ I]GTI [³ H]-sumatriptan [³ H]-GR 125743	[³ H]5-HT	[¹²⁵ I]LSD [³ H]LY 334370
Couplage	G _{i/o} - ↓ AMPc Canal K ⁺	G _{i/o} - ↓ AMPc	G _{i/o} - ↓ AMPc	G _{i/o} - ↓ AMPc	G _{i/o} - ↓ AMPc
Gène	5q11.2 – q13	6q13	1p34.3 – 36.3	6q14 – 15	3p11 – p14.1
Information structurale	7TM	7TM	7TM	7TM	7TM
Protéine (acides aminés)	<i>h</i> 421 <i>s</i> 421 <i>r</i> 422	<i>h</i> 390 <i>s</i> 386 <i>r</i> 386	<i>h</i> 377 <i>s</i> 374 <i>r</i> 374	<i>h</i> 365	<i>h</i> 366 <i>s</i> 366 <i>r</i> 366

Récepteurs 5-HT_{2,3,4}

	5-HT _{2A}	5-HT _{2B}	5-HT _{2C} ^b	5-HT _{3A}	5-HT ₄
Ancien nom	D/5-HT ₂	5-HT _{2F}	5-HT _{1C}	M	-
Agonistes sélectifs	DOI ^a	BW 723C86	Ro 600175	SR 57227 m-chlorophenyl-biguanide	BIMU 8 RS 67506 ML 10302
Antagonistes sélectifs (pK _B)	kétansérine (8,5 - 9) MDL 100907 (9,4) SR 46349B (8,8)	SB 200646 (7,5) ^c SB 204741 (7,8)	mésulergine (9,1) SB 206553 (8,4) ^c SB 242084 (9,0) RS 102221 (8,4)	[³ H]granisetron [³ H]tropisetron [³ H]GR 65630	[³ H]GR 113808 [³ H]RS57639
Marqueurs radioactifs	[³ H]DOI [³ H]kétansérine [³ H]MDL 100907	[³ H]-5-HT	[³ H] mésulergine		
Couplage	G _{q/11} – IP ₃ /DAG	G _{q/11} – IP ₃ /DAG	G _{q/11} – IP ₃ /DAG	Canal cationique ^d	G _s - ↑ AMPc
Gène	13q14 – q21	2q36.3 – q37.1	Xq24	44q23 – q23.2 multiples sous-unités ^e	5q31 - 33
Information structurale	7TM	7TM	7TM		7TM
Protéine (acides aminés)	<i>h</i> 357 <i>s</i> 357 <i>r</i> 357	<i>h</i> 481 <i>s</i> 504 <i>r</i> 479	<i>h</i> 458 <i>s</i> 459 <i>r</i> 460	5-HT _{3A} , 5-HT _{3B} , 5-HT _{3C}	<i>h</i> 387 <i>s</i> 387 <i>r</i> 387

Notons l'absence d'agoniste ou d'antagoniste sélectifs des récepteurs 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}. A l'heure actuelle les isoformes issues de l'épissage ne pouvant être discriminées pharmacologiquement, elles ne sont pas représentées. *h* : humain ; *s* : souris ; *r* : rat. **a.** Active également les récepteurs 5-HT_{2C}, **b.** De multiples isoformes du récepteur 5-HT_{2C} sont produites par le mécanisme d'édition post-transcriptionnelle. **c.** Blocage non sélectif, **d.** Le récepteur 5-HT₃ est un récepteur canal cationique qui existe sous la forme d'un pentamère dont chacune des sous-unités présente 4 séquences protéiques transmembranaires (ou TM), **e.** Un gène codant pour une seconde sous-unité du récepteur 5-HT₃ (baptisée 5-HT_{3B}) vient récemment d'être cloné (Davies et al., 1999). L'existence d'une troisième sous-unité (5-HT_{3C}) reste encore incertaine (Dubin et al., 2001).

Tableau 5 – Classification des récepteurs 5-HT₅, 5-HT₆, 5-HT₇

D'après Hoyer et al., 2002

Récepteurs 5-HT_{5,6,7}

	5-HT _{5A}	5-HT _{5b}	5-HT ₆	5-HT ₇
Ancien nom	5-HT _{5α}	5-HT _{5β}	-	5-HT _x 5-HT ₁ -like
Agonistes sélectifs	-	-	-	SB 258719 (7,9)
Antagonistes sélectifs (pK _B)	-	-	Ro 630563 SB 271046 (7,8) SB 357134 (8,5)	SB 269970 (9,0)
Marqueurs radioactifs	[¹²⁵ I]LSD [³ H]5-CT	[¹²⁵ I]LSD [³ H]5-CT	[¹²⁵ I]SB 258585 [¹²⁵ I]LSD [³ H]5-HT	[¹²⁵ I]LSD [³ H]SB 269970 [³ H]5-CT [³ H]5-HT
Couplage	G _{i/o} - ↓ AMPc	non identifié	G _s - ↑ AMPc	G _s
Gène	<i>HTR5A</i> /7q36.1	<i>htr5b</i> /2q11 – q13	<i>HTR6</i> /1p35-36	<i>HTR7</i> /10q23.3 – 24.3
Information structurale	7 TM	7TM	7TM	7TM
Protéine (acides aminés)	<i>h357</i> <i>s357</i> <i>r357</i>	<i>h370</i> <i>s370</i>	<i>h440</i> <i>s440</i> <i>r438</i>	<i>h445</i> <i>s448</i> <i>r448</i>

Notons l'absence d'agonistes ou d'antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT₆ et 5-HT₇.

3.1.2.2. Le récepteur 5-HT_{1A}

Le récepteur 5-HT_{1A} est le premier récepteur sérotoninergique entièrement séquencé. Le récepteur 5-HT_{1A} humain et celui de Rat, ont été identifiés par le screening de bibliothèques génomiques de séquences homologues des β_2 -adrénorécepteurs (Fargin et al., 1988 ; Albert et al., 1990). Le récepteur 5-HT_{1A} humain conserve 89% d'homologie avec celui du Rat. La distribution du récepteur 5-HT_{1A} dans le cerveau de Rat a été étudiée par autoradiographie en utilisant des ligands marqués comme la [³H]-5-HT, [³H]-8-OHDPAT, [³H]-ipsapirone et plus récemment avec le [³H]-WAY100635 (Pazos et Palacios, 1985 ; Hoyer et al., 1986 ; Khawaja, 1995). Ce dernier ligand a aussi été utilisé pour la localisation *in vivo* chez la souris des récepteurs 5-HT_{1A} centraux (Laporte et al., 1994). Récemment, les études d'imagerie cérébrale (tomographie à émission de positrons) utilisant du [¹¹C]-WAY100635 ont permis de localiser le récepteur 5-HT_{1A} dans le cerveau de l'Homme vivant (Pike et al., 1995). Les études de liaison utilisant des ligands marqués montrent que le récepteur 5-HT_{1A} est largement distribué dans le SNC. Il est présent sous forme d'autorécepteur somatodendritique, régulant négativement l'activité neuronale sérotoninergique en inhibant l'activité électrique puis la synthèse et la libération de la 5-HT (Sprouse et Aghajanian, 1987 ; Hjorth et Sharp, 1991) dans les noyaux du raphé du mésencéphale (noyaux du raphé B8 médian et du raphé B7 dorsal). Le récepteur 5-HT_{1A} est aussi présent en tant que récepteur postsynaptique dans les structures limbiques et notamment l'hippocampe, le septum latéral, les aires corticales (pour revues Barnes et Sharp, 1999 ; Hoyer, 2002), tandis qu'on le retrouve en faible densité dans les ganglions de la base et le cervelet. La distribution des ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1A} selon la technique d'hybridation *in situ*, est en tous points superposable à celle obtenue par des techniques de liaison d'un ligand radioactif sur un récepteur (Chalmers et Watson, 1991 ; Miquel et al., 1991 ; Pompeiano et al., 1992 ; Burnet et al., 1995). La distribution du récepteur 5-HT_{1A} est en règle générale similaire selon les espèces même si des différences d'organisation laminaire entre les rongeurs et l'Homme peuvent dans les différentes couches corticales et de l'hippocampe. Enfin, l'utilisation d'anticorps dirigés contre la troisième boucle intracellulaire du récepteur 5-HT_{1A} de Rat confirme la localisation du récepteur 5-HT_{1A} obtenue par les deux autres techniques (Miquel et al., 1991).

Les récepteurs 5-HT_{1A} sont couplés à différents systèmes effecteurs (inhibition) : un effecteur enzymatique produisant une inhibition de l'adénylate cyclase (AC) et deux effecteurs ioniques, l'un activateur d'un canal potassique et l'autre inhibiteur d'un canal

calcique (Chen et Penington, 1996 ; Oleskevich, 1995 ; Haj-Dahmane et al., 1991). Dans l'hippocampe de Rat, mais non dans le raphé, il a été montré qu'un agoniste des récepteurs 5-HT_{1A}, le 8-OHDPAT, inhibait l'activation de l'adénylate cyclase induite par la forskoline, suggérant que l'effecteur enzymatique soit présent uniquement au niveau hippocampique (Johnson et al., 1997). Concernant les effecteurs ioniques, le couplage du récepteur à une protéine G_i/G_o activant un canal potassique a été mis en évidence dans l'hippocampe et le raphé de Rat (Oleskevich, 1995 ; Katayama et al., 1997) tandis que l'inhibition du canal calcique a uniquement été mise en évidence dans le raphé (Chen et Penington, 1997). Les deux types d'effecteurs sont couplés au récepteur via une protéine G_i/G_o puisque l'activation du récepteur est bloquée par la toxine pertussique. De nombreuses études utilisant divers systèmes d'expression (*Escherichia Coli*, cellules de mammifères) montrent que lorsque le récepteur 5-HT_{1A} est stimulé par la 5-HT ou le 8-OH-DPAT, il fixe les protéines G_i dans l'ordre suivant G_{iα3}>G_{iα2}≥G_{iα1}≥G_{oα}>G_{zα} (Raymond et al., 1993 ; Raymond et al., 2001). De manière intéressante, le récepteur 5-HT_{1A} présynaptique présente des caractéristiques de couplage et de réponse fonctionnelle différentes de celles de son homologue postsynaptique (Clarke et al., 1996) bien qu'un seul gène codant pour ce récepteur ait été identifié à ce jour. Il faut noter que la pharmacologie du récepteur 5-HT_{1A} et celle du récepteur 5-HT₇ ont des similarités. Le 8-OH-DPAT, connu tout d'abord comme ligand sélectif de référence du récepteur 5-HT_{1A} (Hjorth et al., 1982) est aussi un agoniste du récepteur 5-HT₇ (Tsou et al., 1994). Il est donc possible que les effets imputés au récepteur 5-HT_{1A} soient attribuables à un autre sous-type de récepteur de la 5-HT localisé dans des régions particulières du cerveau ou qu'ils soient le résultat d'une combinaison d'effets due à la mobilisation de plusieurs types de récepteurs de la sérotonine.

La densité des récepteurs 5-HT_{1A}, obtenue par autoradiographie, étant plus faible dans le raphé médian que dans le raphé dorsal (Pazos et Palacios, 1985), l'administration d'un agoniste de ces récepteurs entraînerait des effets région-dépendants selon la région cérébrale recevant les fibres sérotoninergiques issues du raphé médian ou du raphé dorsal. Des études d'électrophysiologie réalisées chez le Rat anesthésié, mettent en évidence que les neurones sérotoninergiques du noyau du raphé dorsal sont plus sensibles aux agonistes des récepteurs 5-HT_{1A} que les neurones sérotoninergiques du noyau du raphé médian (Blier et al., 1990). Il n'a pas été mis en évidence de différences régionales fonctionnelles entre les noyaux du raphé dorsal et médian suite à l'administration de 8-OHDPAT en utilisant la technique de microdialyse intracérébrale *in vivo* (Hjort et Sharp, 1991 ; Hájos et al., 1995), une étude plus récente utilisant cette même technique chez le Rat, a montré que les neurones du raphé dorsal

étaient plus sensibles à l'activation des autorécepteurs 5-HT_{1A} par un agoniste comme l'ipsapirone que les neurones du raphé médian (Casanovas et Artigas, 1996).

L'implication des récepteurs 5-HT_{1A} dans de nombreux effets physiologiques et comportementaux est bien établie. Les récepteurs 5-HT_{1A} sont impliqués dans la régulation neuroendocrinienne de l'hormone adrénocorticotrope, mais pas dans celle de la prolactine (Jorgensen et al., 2001) (tableau 6). Cependant, l'implication du récepteur 5-HT_{1A} pré- ou postsynaptique reste en suspens pour certaines réponses physiologiques (tableau 6). Il est largement admis que l'activation des récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques induit un syndrome comportemental caractérisé par une posture d'écrasement dans la cage, un mouvement de pétrissage des pattes arrières. De plus, la réponse spontanée secondaire à une stimulation thermique caudale, brève mais intense, est attribuée à l'activation du récepteur 5-HT_{1A} postsynaptique (Tricklebank, 1986 ; Lucki, 1992 ; Bervoets et al., 1993) tandis que l'activation des récepteurs 5-HT_{1A} présynaptiques provoque une hyperphagie chez le Rat (Simanskyn 1998). Selon l'espèce animale, l'hypothermie induite par les agonistes 5-HT_{1A} n'implique pas les mêmes mécanismes. Chez le Rat, ce phénomène physiologique est plutôt dû à l'activité du récepteur 5-HT_{1A} postsynaptique tandis que chez la Souris, le récepteur 5-HT_{1A} présynaptique serait impliqué (Bill et al, 1991 ; Millan et al, 1993).

Récemment, l'utilisation de souris mutées n'exprimant pas le récepteur 5-HT_{1A}, souris knock-out (KO 5-HT_{1A}) issues de trois fonds génétiques différents, le fond 129/Sv (Ramboz et al., 1998), le fond C57BL 6J (Heisler et al., 1998) et le fond Swiss Webster (Parks et al., 1998) a permis de confirmer que le récepteur 5-HT_{1A} pouvait moduler les comportements de type anxieux. Le « firing » basal des neurones sérotoninergiques du raphé mesuré chez ces souris anesthésiées n'est pas modifié (Ramboz et al., 1998). Ceci suggère que le récepteur 5-HT_{1A} n'exerce pas un contrôle tonique sur l'activité électrique basale des neurones 5-HT du raphé. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus lors de l'administration d'un antagoniste de ces récepteurs, le WAY 100635 (Forster et al., 1995). Des études de microdialyse intracérébrale *in vivo* réalisées chez les souris KO 5-HT_{1A} issues du fond 129/SV ou Swiss Webster sont venues conforter les résultats d'électrophysiologie (Knobelman et al., 2001 ; He et al., 2001). En effet, aucune différence des concentrations extracellulaires basales de 5-HT n'a été retrouvée entre les souris WT contrôles et les souris mutées dans le striatum (Knobelman et al., 2001 ; He et al., 2001) ou dans l'hippocampe (Knobelman et al., 2001). Cependant Parons et al., (2001) ont montré dans l'hippocampe et le cortex frontal chez ces souris KO 5-HT_{1A} (fond génétique C57BL/6J), une augmentation tonique des concentrations extracellulaires basales vis à vis de leurs congénères non mutées.

En pharmacologie, des agonistes comme la buspirone ou la g  pirone sont utilisés pour le traitement de l'anxiété, mais aussi des épisodes dépressifs (Tunnicliff, 1991 ; Den Boer et al., 2000 ; Gorman 2002). Le sous-type de récepteur 5-HT_{1A} serait également impliqué dans le mécanisme d'action des antidépresseurs (Zifa et Fillion, 1992). Chez la Souris, il a été démontré que dans le test de la nage forcée, l'effet antidépresseur-like des IRSSs, traduit par une baisse du temps d'immobilité, serait plutôt d   à une action des récepteurs 5-HT_{1A} présynaptiques tandis que l'effet anti-immobilité des IRN serait dû aux récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques (Redrobe et al., 1996). L'administration d'une dose unique d'agonistes des récepteurs 5-HT_{1A} comme le 8-OH-DPAT par voie intrapéritonéale, diminue le temps d'immobilité dans le FST (O'Neill et Conway, 2001).

Une étude de microdialyse *in vivo* réalisée chez le Rat a montré que le pindolol, molécule connue initialement comme antagoniste des récepteurs   ₁-  ₂ noradrénergiques, poss  derait, à faible dose, la propriété de bloquer les récepteurs 5-HT_{1A} (Gobert et Millan, 1999). Des expériences de mutagénicité ont d'ailleurs permis d'établir qu'un seul résidu asparagine (Asn 385) conférait au récepteur 5-HT_{1A} une forte affinité pour certains ligands à-adrénergiques (Guan et al., 1992). Les études réalisées en microdialyse chez le Rat montrent que la co-administration du pindolol et d'un IRSS provoque une augmentation des concentrations extracellulaires de sérotonine supérieure à celle observée lors de l'administration d'un IRSS seul dans le cortex frontal (Hjorth, 1996 ; Romero et al., 1996 ; Gobert et al., 1999 ; Dawson et Nguyen, 2000) et l'hippocampe chez le Cobaye (Cremers et al., 2001) indiquant que le pindolol potentialise les effets des IRSSs. Ces résultats précliniques expliqueraient ceux obtenus en clinique. Le pindolol, associé à un IRSS (paroxétine), augmenterait l'efficacité thérapeutique de ce dernier et diminuerait son délai d'action (Artigas et al., 1994, 1996 ; Blier & Bergeron, 1995; Perez et al., 1997; Zanardi et al., 1997; Perez et al., 1997). Cependant à l'heure actuelle, les données cliniques sont controversés (Berman et al., 1997, 1999; Tome et al., 1997 ; Rabiner et al., 2001 ; Artigas 2001) puisque certains essais n'ont pas retrouvé de baisse du délai d'action lors de l'association pindolol et paroxétine.

Tableau 6 – Réponses fonctionnelles associées à l'activation des récepteurs 5-HT_{1A} centraux

D'après Barnes et Sharp, 1999

Niveau	Réponse	Mécanisme
Cellulaire	(-) Adénylate cyclase	Postsynaptique
Électrophysiologique	Hyperpolarisation	Postsynaptique
Comportemental	Syndrome 5-HT	Postsynaptique
	Hypothermie	Pré / Postsynaptique
	Anxiolyse	Présynaptique
	(+) Comportement sexuel	Pré / Postsynaptique
Neurochimique	(-) Libération 5-HT	Présynaptique
	(+) Libération de noradrénaline	Postsynaptique
	(+) Libération d'acétylcholine	Postsynaptique
	(-) Libération de glutamate	?
Neuroendocrinien	(+) ACTH	Postsynaptique
	(+) Prolactine	Postsynaptique

Tableau 7 - Réponses fonctionnelles associées à l'activation des récepteurs 5-HT_{1B} centraux

D'après Barnes et Sharp, 1999

Niveau	Réponse	Mécanisme
Cellulaire	(-) Adénylate cyclase	Postsynaptique
Électrophysiologique	Inhibition du potentiel synaptique évoqué	Présynaptique (hétérorécepteur)
Comportementale	(+) Locomotion/rotation	Postsynaptique
	Hypophagie	Présynaptique
	Hypothermie (<i>Cochon d'Inde</i>)	?
	Secousse musculaire (<i>Cochon d'Inde</i>)	?
Neurochimique	(-) Libération de 5-HT	Présynaptique (autorécepteur)
	(-) Libération d'acétylcholine	Présynaptique (hétérorécepteur)

3.1.2.3. Le récepteur 5-HT_{1B}

L'actuelle classification des récepteurs sérotoninergiques distingue le récepteur 5-HT_{1B} de Rat du récepteur humain, anciennement 5-HT_{1Dβ}, par les préfixes « r » pour Rat et « h » pour Homme (pour revue voir Hoyer et al., 2002). Le récepteur 5-HT_{1B} humain est caractérisé par une homologie de 96% avec le récepteur 5-HT_{1B} de Rat (Jin et al., 1992). Les différences pharmacologiques entre ces deux homologues résident dans la mutation d'un seul acide aminé, l'acide aspartique (Asp¹²³) en arginine (Arg¹²³). Chez le Rat, ces récepteurs ont pu être distingués des sites 5-HT_{1D} par leur affinité élevée pour certains antagonistes des récepteurs β-adrénergiques (pindolol, cyanopindolol) ou encore pour un agoniste, le CP 93129 (Barnes et Sharp 1999).

Les études d'autoradiographie, utilisant des molécules marquées comme la [³H]-5-HT en présence de 8-OH-DPAT et du [¹²⁵I]-cyanopindolol en présence d'isoprénaline démontrent que le sous-type de récepteur sérotoninergique 5-HT_{1B} est retrouvé, chez le Rat, dans les ganglions de la base et particulièrement dans la substance noire, le globus pallidus, le pallidum ventral et les noyaux entopédonculaires (Pazos et Palacios, 1985 ; Verge et al., 1986 ; Bruinvels et al., 1993). Les études d'hybridation *in situ* ont permis de localiser l'ARNm codant pour les récepteurs 5-HT_{1B} dans le raphé médian et dorsal (Boschert et al., 1994 ; Doucet et al., 1995), ARNm qui semble largement réduit par la lésion des fibres 5-HT par de la 5,7-DHT (Doucet et al., 1995), indiquant que ces récepteurs contrôlent localement la libération de 5-HT (autorécepteurs terminaux issus des noyaux du raphé médian et du raphé dorsal) (Engel et al., 1986 ; Hen 1992 ; Pineyro et Blier, 1999). Récemment, chez l'Homme, une étude post-mortem utilisant la technique d'hybridation *in situ* a permis de retrouver de l'ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1B} dans le raphé dorsal (Bidmon et al., 2001). Certaines aires du cerveau antérieur de Rat, comme le striatum, contenant une grande quantité de sites de liaison exprime aussi l'ARNm du récepteur. Cependant, la distribution régionale du récepteur 5-HT_{1B} chez le Rat ne semble pas correspondre à celle de son ARNm. Des aires cérébrales comme la substance noire, le globus pallidus ou le noyau entopédonculaire qui présentent elles aussi une densité importante de récepteurs, ont de faibles quantités d'ARNm. Dans l'hippocampe, l'ARNm du récepteur 5-HT_{1B} est localisé dans les corps cellulaires des cellules pyramidales de la région CA1, tandis que la protéine est présente dans la zone de projection des neurones CA1 pyramidaux (Boschert et al., 1994). La même étude montre que l'ARNm est exprimé dans les cellules de Purkinje, cellules dans lesquelles aucun site de

liaison n'est retrouvé. Les données anatomiques indiquent donc que le récepteur 5-HT_{1B} est largement exprimé dans le cerveau aussi bien en tant qu'autorécepteur qu'hétérorécepteur, contrôlant ainsi la libération, chez le Rat, non seulement de la sérotonine mais aussi d'autres neurotransmetteurs comme la dopamine (Sarhan et al., 1998), le glutamate (Bobker et Williams, 1989), l'acétylcholine (Maura et Raiteri, 1986 ; Cassel et al., 1995) ou le GABA (Feuerstein et al., 1996). La présence du récepteur 5-HT_{1B} comme hétérorécepteur a été démontré par l'utilisation de neurotoxine sélective comme la 5,7 dihydroxytryptamine (5,7 DHT). Une étude d'hybridation *in situ* réalisée chez le Rat montre que la 5,7 DHT, en détruisant l'innervation sérotoninergique, affecte la quantité d'ARNm présente dans le noyau du raphé dorsal tandis que le signal d'hybridation reste inchangé au niveau postsynaptique (Neumaier et al., 1996). La même neurotoxine provoque une augmentation de la densité des récepteurs 5-HT_{1B} dans le ganglion de la base chez le Rat pour une déplétion en 5-HT d'au moins 95% (Compan et al., 1998). La cartographie des récepteurs 5-HT_{1B} par immunohistochimie a confirmé la présence du récepteur 5-HT_{1B} en tant qu'hétérorécepteur puisqu'il est retrouvé en densité très importante dans le globus pallidus et la substance noire (Langlois et al., 1995).

Les études effectuées sur des cellules transfectées, exprimant soit le récepteur 5-HT_{1B} humain soit celui de rongeur, ont permis d'établir que ce sous-type de récepteur sérotoninergique est couplé négativement à l'adénylate cyclase (Adham et al., 1992). Chez les mammifères, le récepteur 5-HT_{1B} est couplé à la protéine G_{i/o} puisque la voie de couplage est sensible à la toxine pertussienne (Hamblin et Metcalf, 1991 ; Maroteaux et al., 1992). Lorsqu'un agoniste se fixe sur le récepteur 5-HT_{1B}, ce dernier stimule les protéines G_{i/o} dans l'ordre suivant G_{iα3} > G_{iα1} ≥ G_{iα2} ≥ G_{0α} (Clawges et al., 1997).

Il existe une grande quantité de ligands ayant une affinité pour le récepteur 5-HT_{1B}, mais peu sont sélectifs de ce sous-type. (Barnes et Sharp, 1999). Le RU 25960 fut la première molécule considérée comme agoniste entier des récepteurs 5-HT_{1B}. Des molécules caractérisées par des propriétés β-adrénolytiques comme le pindolol, le cyanopindolol, le SDZ 21009, l'isamoltane ou le propranolol paraissent avoir également une affinité pour le récepteur 5-HT_{1B} et en particulier pour le *r/m*5-HT_{1B} (Boess et Martin, 1994). Ces molécules ont une affinité supérieure pour le récepteur 5-HT_{1B} à cause d'une différence au niveau du 7^{ème} segment transmembranaire (thréonine chez l'humain au lieu d'une asparagine chez le Rat en position 355) (Parker et al., 1993). Le pindolol, classé tout d'abord comme antagoniste des récepteurs β-adrénergiques, puis comme antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A} montre une

certaine affinité pour le récepteur 5-HT_{1B} et ceci aussi bien chez les rongeurs que chez l'Homme (Boess et Martin, 1994). Par exemple, le (-)-pindolol a une affinité 100 fois plus importante pour le récepteur 5-HT_{1B} de Rat ($K_i=63,1-105$ nM ; Langlois et al., 1993 ; Tsuchihashi et al., 1990) que pour le récepteur 5-HT_{1B} humain ($K_i=10000$ nM ; Gobert et Millan, 1999). Dans le FST chez la souris, il a été montré que le pindolol pouvait agir aussi sur les récepteurs 5-HT_{1B} présynaptiques (Bourin et al. 1998). Le GR 127935 fut l'un des premiers antagonistes mixtes 1B/1D permettant de discriminer les récepteurs 5-HT_{1B/1D} des autres sous types de récepteurs sérotoninergiques. Ce composé bien qu'ayant la propriété d'être un puissant antagoniste des 5-HT_{1B/1D} et de passer la barrière hémato encéphalique ne permet pas discriminer le récepteur 5-HT_{1B} du récepteur 5-HT_{1D}. Les données concernant les effets de cet antagoniste sont cependant contradictoires. Certaines études effectuées chez le Rat, montrent que le GR 127935 administré seul n'augmente pas les concentrations extracellulaires corticales de 5-HT (Hutson et al., 1995 ; Sharp et al., 1997), tandis qu'il affecte la libération de cette monoamine dans l'hypothalamus chez le Cobaye (Rollema et al., 1996). Chez la Souris, le GR 127935 potentialise l'augmentation des concentrations extracellulaires de 5-HT induite par la paroxétine ou la fluoxétine dans l'hippocampe, mais pas dans le cortex (Malagié et al., 2001 ; Malagié et al., 2002). Récemment, la mise à disposition des premiers antagonistes à haute affinité pour les récepteurs 5-HT_{1B} versus 5-HT_{1D} (SB 216641 et SB 224289) a permis une meilleure séparation des propriétés physiopharmacologiques entre ces deux récepteurs (Price et al., 1997 ; Roberts et al., 1997) car ils sont 25 fois plus sélectifs pour le récepteur 5-HT_{1B} que pour le récepteur 5-HT_{1D} (Barnes et Sharp, 1999).

L'existence d'un peptide endogène, la 5-HT-Moduline (Leu-Ser-Ala-Leu, LSAL) se liant de manière non compétitive au récepteur 5-HT_{1B} a été démontrée. Il entraînerait un changement structural du récepteur empêchant la fixation de la 5-HT (Massot et al., 1996) et jouerait un rôle dans la physiopathologie de l'anxiété ou de la dépression (Fillion, 2000). Son intérêt pharmacologique n'a cependant pas été démontré.

Les études d'électrophysiologie ont permis de conclure que le récepteur 5-HT_{1B} ne jouait aucun rôle tonique dans la régulation de la décharge neuronale de 5-HT du noyau du raphé dorsal (Sprouse et Aghajanian, 1988). L'administration d'un agoniste des récepteurs 5-HT_{1B}, le CP 94253 par voie intraveineuse chez le rat anesthésié augmente le « firing » des neurones présents dans le noyau du raphé médian, mais pas ceux présents dans le noyau du raphé dorsal. De même lorsque le CP 94253 était perfusé localement dans le noyau du raphé médian, on observait à faibles doses une diminution du « firing » et à fortes doses une

augmentation. Il a d'ailleurs été démontré au cours de la même étude, que l'administration de CP 94253, toujours par voie intraveineuse chez des Rat anesthésiés diminue les concentrations extracellulaires de 5-HT dans l'hippocampe dorsal et dans le globus pallidus alors que dans le noyau du raphé médian, ce même agoniste augmente les concentrations extracellulaires sérotoninergiques (Adell et al., 2001). Ces résultats laissent à penser qu'aussi bien la décharge neuronale, que la libération de 5-HT sont sous contrôle des récepteurs 5-HT_{1B} et ceci particulièrement dans le noyau du raphé médian. Ces résultats suggèrent aussi que des récepteurs 5-HT_{1B} présents en dehors du noyau du raphé médian contrôlent la libération de 5-HT dans cette aire cérébrale, impliquant ainsi un rétrocontrôle long (Adell et al., 2001). Enfin, une étude de microdialyse effectuée chez le Rat, a suggéré qu'une administration chronique d'antidépresseur (tricyclique ou IRSS) provoquerait une désensibilisation des autorécepteurs 5-HT_{1B} (Briley et al., 1997). Nos résultats obtenus chez la Souris ne confirment pas cette hypothèse, dans l'hippocampe des souris KO 5-HT_{1B} (Gardier et al., 2003).

Le récepteur 5-HT_{1B} est impliqué dans des effets comportementaux et physiologiques aussi variés que la modulation des concentrations de corticostérone plasmatique, de prolactine, l'hypophagie, l'hypothermie, l'érection pénienne, l'analgésie, le sommeil, l'humeur, la vigilance, l'anxiété et la dépression (Clark et Neumaier, 2001 ; pour revue Barnes et Sharp, 1999 ; Moret et Briley, 2000) (tableau 7). L'anpirtoline, agoniste de ce sous-type de récepteur 5-HT a des propriétés aussi bien analgésiques chez l'Homme (Hummel et al., 1994) ou chez la Souris (Schlicker et al., 1992 ; Swedberg, 1994) qu'antidépresseives chez les rongeurs (Schlicker et al., 1992).

Les récepteurs 5-HT_{1B} centraux exerceraient aussi un rôle sur l'activité locomotrice. Il apparaît cependant que la stimulation des récepteurs 5-HT_{1B} postsynaptiques centraux chez la Souris (O'Neill et al. 1996), mais pas chez le Rat (Kalkman, 1995) produit une hyperlocomotion. Dans le test de la nage forcée, les récepteurs 5-HT_{1B} joueraient un rôle important dans l'effet anti-immobilité des IRSSs ou de l'imipramine (Redrobe et al., 1996 ; O'Neill et Conway, 2001).

Les souris homozygotes KO 5-HT_{1B} générées à partir du fond génétique 129/Sv, ont été un formidable outil d'investigation permettant de pallier l'absence d'antagoniste spécifique du récepteur 5-HT_{1B} et de déterminer la participation de ce sous type de récepteur sérotoninergique à différents états physiopathologiques (Saudou et al., 1994) (tableaux 8, 9, 10). Le gène d'intérêt a été inactivé par recombinaison homologue par insertion d'un fragment d'ADN comportant le gène de résistance à la néomycine. Ces souris mutantes ont un

développement et une maturation normale. Cependant, puisque le gène codant pour le récepteur 5-HT_{1B} est manquant, des changements adaptatifs compensatoires ont été suggérés. Ase et al., (2001) ont montré que, chez ces souris mutées, la densité du transporteur de la sérotonine était augmentée ou diminuée selon l'aire cérébrale étudiée. Par ailleurs, il semble qu'il existe chez ces souris mutées une réduction compensatoire de la fonction des récepteurs 5-HT_{2C} (Clifton et al., 2003), mais pas de la densité des récepteurs 5-HT_{1A} (Ase et al., 2001). Pourtant une autre étude montre que, chez les souris KO 5-HT_{1B}, l'hypothermie induite par le 8-OH-DPAT est supérieure à celle mesurée chez des souris contrôles non mutées. Ces résultats suggèrent un processus adaptatif de la thermorégulation induit par une altération des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} (Gardier et al., 2001). De plus, il a récemment été démontré chez les souris mutantes, en utilisant la technique du [³⁵S]GTPγS, que l'efficacité du couplage du récepteur 5-HT_{1A} est diminuée dans l'amygdale (Ase et al., 2002).

Le rôle d'autorécepteur (inhibiteur) du type 5-HT_{1B}, a été confirmée en comparant *in vitro* (Pineyro et al., 1995) et *in vivo* (Trillat et al., 1997) les effets d'un antagoniste, le CP 93129 sur la libération de 5-HT chez des souris naïves WT et KO 5-HT_{1B} dans l'hippocampe et le cortex frontal. Une étude d'électrophysiologie montre que chez ces souris, le « firing » des neurones du raphé dorsal (Pineyro et al., 1995) et les concentrations extracellulaires de 5-HT des différentes régions riches en terminaisons neuronales sérotoninergiques sont normales, c'est-à-dire sont comparables à celles des souris non mutées (Trillat et al., 1997). Les études de microdialyse montrent, de la même manière que les études *in vitro*, que la stimulation des récepteurs 5-HT_{1B} par des agonistes comme la 5-CT, le RU 24969 ou le CP 93129, inhibe la libération de 5-HT. Par exemple, contrairement aux souris KO 5-HT_{1B}, la perfusion de deux agonistes des récepteurs 5-HT_{1B}, le CP-93,129 ou le sumatriptan dans l'hippocampe ventral ou le cortex frontal, provoque chez les souris non mutées, une diminution de la libération de 5-HT induite par infusion locale de potassium (KCl 120 mM pendant 15 min) (Trillat et al., 1997). Ces résultats suggèrent que les autorécepteurs 5-HT_{1B} inhibent la libération de 5-HT par les terminaisons sérotoninergiques. Deux autres études de microdialyse réalisées au sein de notre laboratoire ont montré que l'absence d'expression du récepteur 5-HT_{1B} chez les souris KO 5-HT_{1B}, potentialisait les effets des IRSSs (paroxétine, fluoxétine) sur les concentrations extracellulaires de 5-HT et ceci principalement dans l'hippocampe ventral (Malagié et al., 2001 ; 2002). Ces résultats obtenus dans l'hippocampe ont été retrouvés par une autre équipe en utilisant de la paroxétine administrée par voie systémique et de la fluvoxamine en perfusion locale (De Groote et al., 2002b). Cette même équipe a aussi

démontré que les autorécepteurs 5-HT_{1B} jouaient un rôle dans la libération de la 5-HT dans le cortex préfrontal (De Groote et al., 2002a).

Les études comportementales suggèrent que dans bien des cas les souris KO 5-HT_{1B} présentent un comportement opposé à celui des souris KO 5-HT_{1A}, caractérisé par une diminution de l'anxiété (Ramboz et al., 1995) dans le labyrinthe en croix surélevé et un renforcement de l'agressivité (Saudou et al. 1994). L'implication du récepteur 5-HT_{1B} dans la prise d'alcool a été étudiée chez ces souris, car on retrouve des hétérorécepteurs 5-HT_{1B} sur les terminaisons GABAergiques, ces dernières se projettent du noyau accumbens vers l'aire tegmentale ventrale, voie neuronale impliquée dans les phénomènes de récompense. Une première étude a mis en évidence d'une part une préférence marquée des souris KO 5-HT_{1B} pour la consommation d'alcool puisqu'elles boivent deux fois plus d'alcool, que les souris non mutées, d'autre part une tolérance plus lente à ce produit chez les souris sauvages (Crabbe et al., 1996). Ce résultat est controversé puisqu'une autre étude, plus récente, montre qu'il n'existe pas de différences de préférence des deux génotypes pour l'alcool (Risinger et al., 1999).

Tableau 8 – Revue de la littérature récapitulant les principaux effets comportementaux décrits chez les souris KO 5-HT_{1B}

But de l'étude	Principaux effets décrits chez les souris KO 5-HT _{1B}	Références bibliographiques
	Hyperagressivité	Saudou et al., 1994
Etude de l'activité locomotrice chez les souris mutées	Activité locomotrice semblable à celle des souris sauvages. Développement normal. Absence d'effet hyperlocomoteur du RU 24969	Ramboz et al., 1996
Effets de l'hyperthermie induite par un stress (induit par la mesure de la température rectale) sur les concentrations plasmatiques de corticostérone	Température basale plus élevée que celle des souris sauvages. Légère augmentation des concentrations plasmatiques de corticostérone	Bouwknicht et al., 2001
Comparaison des effets de l'hypothermie induite par le 8-OH-DPAT chez les souris mutées et chez les souris WT	Effet hypothermisant plus important du 8-OHDPAT chez les KO 5-HT _{1B} Possible altération de l'autorécepteur 5-HT _{1A} somatodendritique chez les souris mutées	Gardier et al., 2001
Mesure de la prise de nourriture et Etude par immunohistochimie de l'expression de c-Fos	Absence d'hypophagie induite par la dexfenfluramine ou par le RU24969. Expression de c-Fos diminuée chez les KO 5-HT _{1B}	Lucas et al., 1998
Effets des agonistes 5-HT _{2C} sur la prise de nourriture, l'activité locomotrice, c-Fos	Faible augmentation de la prise de nourriture, de l'activité locomotrice. Faible augmentation de c-Fos dans l'hypothalamus. Diminution de la densité des 5-HT _{2C}	Clifton et al., 2003
Mesure de la température et de la fréquence cardiaque après un stimulus entraînant un sursaut	Absence de modifications des deux paramètres physiologiques lors du stimulus. Augmentation de ces deux paramètres lors du transport ou de la manipulation	Bouwknicht et al., 2000
Mesure de l'hyperactivité à un nouveau stimulus	Diminution de la sensibilisation à un choc plantaire et de la réactivité après un stimulus	Dirks et al., 2001
Mesure de l'inhibition de la réactivité induite par un choc précédant un stimulus (PPI)	Absence de diminution de l'inhibition de réactivité induite par un pré-choc. Rôle des récepteurs 5-HT _{1A}	Dulawa et al., 1998
Mesure de l'inhibition de la réactivité induite par un choc précédant un stimulus (PPI)	La méthylamphétamine et le MBDB (molécules facilitant la libération de 5-HT) augmentent l'inhibition de la réactivité induite par un choc précédant un stimulus	Dulawa et al., 2000
Mesure de l'activité du sommeil	Augmentation du sommeil paradoxal pendant la journée	Boutrel et al., 1999
Mesure de l'activité cognitive et émotionnelle	Augmentation du comportement de persévérance	Malleret et al., 1999
Mesures opérationnelles des mécanismes de gestion centrale des informations	Modulation de l'habituation et de la réactivité	Dulawa et al., 1997
Effets de la lumière sur les noyaux suprachiasmatiques	Augmentation de l'activité sous lumière constante. Rôle des autorécepteurs 5-HT _{1B}	Sollars et al., 2002

Tableau 9 – Revue de la littérature récapitulant les principaux effets décrits après administration d'éthanol ou de cocaïne chez les souris KO 5-HT_{1B}

But de l'étude	Principaux effets décrits chez les souris KO 5-HT_{1B}	Références bibliographiques
Mesure de la prise d'éthanol	Préférence à la consommation d'alcool, mais tolérance plus lente. Diminution de la sensibilité à l'ataxie induite par l'alcool.	Crabbe et al., 1996
	Pas de différence entre les deux génotypes	Crabbe et al., 1999
Mesure de l'auto-administration d'éthanol par voie orale	Pas de différence d'auto-administration d'alcool entre souris mutées et non mutées	Risinger et al., 1999
Etude des effets de l'auto-administration de cocaïne par voie intraveineuse	Diminution du temps de latence. Les souris mutantes, à dose égale, répondent de la même manière que leurs congénères non mutées	Rocha et al., 1997
Test de préférence de place à la cocaïne	Absence de préférence de place	Belzung et al., 2000
Effets comportementaux de la cocaïne	Augmentation de l'activité locomotrice. Augmentation de la vulnérabilité à la cocaïne. Effet compensatoire chez les souris mutées	Castanon et al., 2000

Tableau 10 – Revue de la littérature récapitulant les principaux effets décrits en électrophysiologie et en neurobiochimie chez les souris KO 5-HT_{1B}

But de l'étude	Principaux effets décrits chez les souris KO 5-HT _{1B}	Références bibliographiques
Mesure de la libération de 5-HT induite par des stimulations électriques sur des coupes de cortex frontal, d'hippocampe, de raphé pré-incubées avec de la [³ H]5-HT	Augmentation de la libération de [³ H]5-HT sur les coupes d'hippocampe, mais pas dans le cortex. Rôle dans le rétrocontrôle négatif de la libération de 5-HT	Pineyro et al., 1995
Mesure de l'activité électrique des neurones du raphé dorsal chez la souris anesthésiée	Contrairement aux souris mutées, le CP 94253 et le RU 24969 augmentent la décharge neuronale des souris sauvages	Evrard et al., 1999
Effets de l'administration d'une dose d'IRSS dans l'hippocampe sur les concentrations extracellulaires de 5-HT	Augmentation des concentrations extracellulaires de 5-HT dans l'hippocampe, mais pas dans le cortex secondaire après l'administration d'une dose de paroxétine. Absence d'effet des IRSSs dans le FST	Trillat et al., 1998
	Augmentation des concentrations extracellulaires de 5-HT dans le cortex et l'hippocampe. Possible changement adaptatif. Effet dans l'hippocampe > effet dans le cortex	Malagié et al., 2001 (paroxétine) Malagié et al., 2002 (fluoxétine)
Effets de la perfusion d'un IRSS dans l'hippocampe sur les concentrations extracellulaires de 5-HT	Augmentation de 2 fois des concentrations extracellulaires de 5-HT. Mise en évidence d'une possible compensation chez les souris mutées	De Groote et al., 2002a
Effets de la perfusion d'un IRSS dans le cortex sur les concentrations extracellulaires de 5-HT	Augmentation des concentrations extracellulaires de 5-HT dans l'hippocampe après une perfusion de fluvoxamine. Possible changement compensatoire au niveau du transporteur de la 5-HT	De Groote et al., 2002b
Mesure des effets des agonistes des récepteurs 5-HT _{1B} sur la libération de [³ H]DA	Suppression des effets du CP93,129, du SB224289 sur la libération de [³ H]DA dans le striatum	Sarhan et al., 2000
Mesure de la densité du transporteur de la 5-HT dans le SNC par autoradiographie	Pas de modifications de la densité des récepteurs 5-HT _{1A} . Diminution de la densité du transporteur de la 5-HT. Augmentation de la densité de ce transporteur dans l'amygdale et l'hippocampe ventral	Ase et al., 2001
Caractérisation d'une possible compensation des récepteurs 5-HT _{1A}	Diminution du couplage récepteur 5HT _{1A} / protéine G dans les aires cérébrales où le 5HT _{1A} et le 5-HT _{1B} sont colocalisés	Ase et al., 2002
Effets des récepteurs 5-HT _{1B} sur la transmission thalamocorticale dans la IV couche des neurones corticaux	Pas d'effet de la 5-HT chez les mutées	Laurent et al., 2002
Mesure de l'extravasation des protéines plasmatiques de la dure mère	Pas de différence entre les deux génotypes	Yu et al., 1996

3.1.3. Le transporteur de la sérotonine

Nous allons plus largement développer ce paragraphe car cette protéine de transport est la cible de nombreux antidépresseurs. Il y a 40 ans environ, Axelrod introduisait le concept de recapture pour expliquer comment la noradrénaline retournait après libération dans les terminaisons sympathiques nerveuses (Hertting et al., 1961). Ce n'est que quelques années plus tard que des mécanismes de capture similaires, mais distincts furent démontrés pour la DA et la 5-HT dans le SNC. Ces transporteurs monoaminergiques neuronaux, appartenant à la grande famille des transporteurs sodium-dépendants, furent baptisés : DAT pour le transporteur de la DA, SERT pour le transporteur de la 5-HT et NET pour le transporteur de la NA. La capture du neurotransmetteur joue un rôle essentiel en déterminant la quantité de neurotransmetteur présent dans la fente synaptique, la magnitude et la durée de l'effet du quantum aminergique sur les récepteurs postsynaptiques (Lesch, 2001). La structure des trois transporteurs est commune et comporte douze segments transmembranaires (TM) constitués de 25 acides aminés hydrophobes chacun, une large boucle extracellulaire comprise entre les segments TM3 et TM4 avec des sites de N-glycosylation et des domaines N et C terminal plutôt long contenant des sites de phosphorylation situés tous les deux dans le milieu intracellulaire (figure 5). Les transporteurs monoaminergiques sont la cible privilégiée d'antidépresseurs (i.e., clomipramine, fluoxétine), de médicaments anorexigènes (d-fenfluramine) et de certaines drogues [cocaïne, amphétamine et dérivés comme le 3,4-méthylénédioxyméthamphétamine (NMDA, ecstasy)]. Cependant les antidépresseurs bloquent le phénomène de recapture du transporteur, mais les drogues comme l'amphétamine l'utilisent en mode inverse pour faire sortir la 5-HT de l'intérieur du neurone (terminaisons neuronales) vers la fente synaptique. Ces transporteurs seraient donc altérés dans de nombreuses maladies du SNC comme les troubles obsessionnels compulsifs, le trouble panique (Olivier et al., 2000) ou la dépression pour les transporteurs de la 5-HT et de la NA (Lesch, 2001). Le transporteur de la DA serait impliqué dans le traitement des troubles de l'attention, voire ceux de la maladie de Parkinson (Olivier et al., 2000).

3.1.3.1. Distribution dans le système nerveux central

D'une manière générale, il existe une bonne corrélation entre la distribution anatomique du transporteur obtenue par immunohistochimie et celle obtenue par un ligand radiomarqué (Torres et al., 2003). Généralement, le SERT est localisé au niveau des jonctions synaptiques, mais l'utilisation d'anticorps dirigés contre la région N-terminale du transporteur de Rat a démontré que le SERT était aussi localisé au niveau des varicosités, des corps cellulaires et des fibres axonales sérotoninergiques (Zhou et al., 1998). Une activité du transporteur sérotoninergique a aussi été décrite dans des cultures astrocytaires (Kimelberg et Katz 1985). Le SERT, bien que principalement localisé dans le SNC, est aussi présent au niveau périphérique. Il a été détecté sur la membrane des plaquettes (Talvenheimo et Rudnick, 1980), celle des cellules du tractus intestinal (Wade et al., 1996) et des glandes surrénales (Schroeter et al., 1997).

La cartographie du SERT, chez le Rat, a été réalisée par des études d'autoradiographie quantitative en utilisant de la [^3H]-paroxétine. Elles ont permis de montrer que la plus forte densité du transporteur sérotoninergique est localisée dans le noyau dorsal du raphé, les noyaux basolatéraux de l'amygdale et le cerveau médian (respectivement, 872, 632 et 506 fmol/mg de protéines par exemple selon Hrdina et al., 1990). De fortes densités de SERT (400 fmol /mg de protéines) ont été également détectées dans les noyaux du thalamus, les noyaux dorsomédians de l'hypothalamus et dans certaines régions du cerveau médian et de la substance noire réticulée. *A contrario*, de faibles densités de SERT ont été détectées dans les ganglions de la base (200-250 fmol/mg de protéine). Une étude d'hybridation *in situ* chez le Rat, utilisant un oligonucléotide synthétique radiomarqué a montré que contrairement aux noyaux raphé caudal linéaire, raphé magnus, raphé pontis, raphé pallidus et raphé obscurus, le noyau du raphé médian présente un marquage intense indiquant que le SERT est principalement localisé sur la membrane des neurones 5-HT (Fujita et al., 1993).

Les études *post-mortem* effectuées sur le cerveau humain en utilisant soit de la [^3H]paroxétine, soit du [^3H]citalopram montrent une distribution du SERT généralement similaire à celle trouvée chez le Rat (Cortés et al., 1988 ; Duncan et al., 1992), même si des différences régionales apparaissent entre les deux espèces. Par exemple, dans les noyaux arqués et ventromédians de l'hypothalamus ou les noyaux corticaux amygdaliens, la densité de SERT est beaucoup plus importante chez l'Homme que chez le Rat. Au contraire, dans les noyaux basolatéraux de l'amygdale, la quantité de SERT retrouvée est plus grande dans le

cerveau de Rat que dans celui de l'Homme (Olivier et al., 2000). L'expression de l'ARNm codant pour le SERT humain, analysée en utilisant une sonde oligonucléotidique antisense marquée, a mis en évidence de forts signaux d'hybridation dans les noyaux du raphé médian et du raphé dorsal tandis que le signal dans le noyau du raphé caudal linéaire est légèrement plus faible (Austin et al., 1994). Au cours de la même étude, aucun signal d'hybridation n'a pu être détecté dans la substance noire ou le locus coeruleus,.

Chez la Souris, la distribution du SERT dans le SNC a été étudiée en incubant des coupes de cerveau de souris avec du [125 I]RTI-55 et en utilisant la technique d'hybridation *in situ* (Bengel et al., 1997). Les auteurs ont montré que la plus grande densité d'ARNm codant pour le SERT était localisée dans le noyau du raphé médian ce qui renforce nos arguments selon lesquels la voie sérotoninergique corps cellulaires du raphé médian/terminaisons hippocampiques et récepteurs 5-HT_{1B} est bien plus intéressante dans le mécanisme d'action des IRSS chez la souris (voir discussion p 272). Les données concernant l'autoradiographie indiquent que, contrairement à la cartographie du SERT obtenue chez le Rat (Hrdina et al., 1990 ; Cortés et al., 1988), des marquages intenses ont été retrouvés en dehors des noyaux du raphé, et principalement dans la substance noire, le globus pallidus et les collicules supérieurs, indiquant une innervation sérotoninergique différente entre les deux espèces. Par une technique d'immunomarquage utilisant des anticorps dirigés contre la région C-terminale du transporteur, Qian et al., (1995) ont décrit une densité importante de SERT dans les régions recevant une innervation sérotoninergique comme le cortex frontal et les couches CA1 et CA3 de l'hippocampe. Les techniques d'hybridation *in situ* ont permis de révéler que le SERT était présent dans le SNC de la souris à un stade de développement précoce de l'embryon [(E) 11] (Hansson et al., 1999).

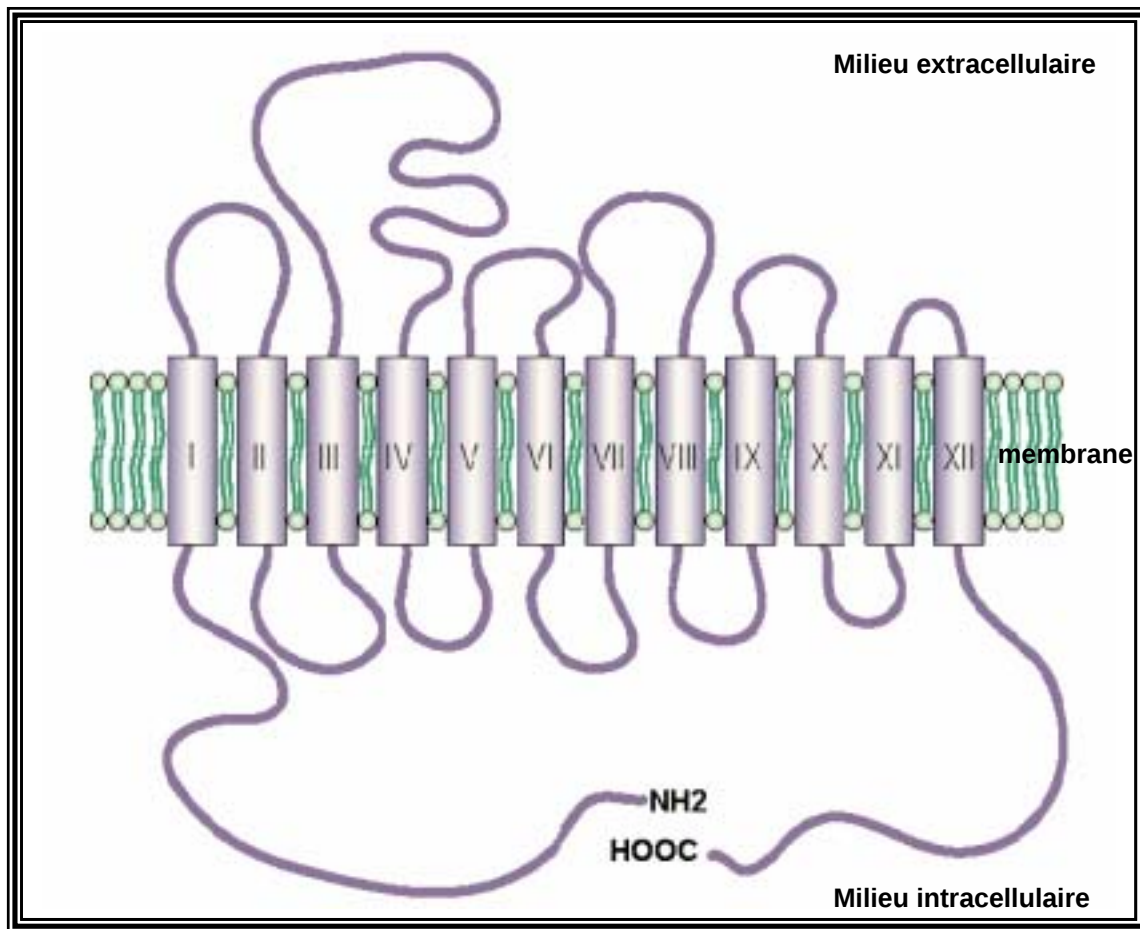


Figure 5 - Topographie générale du transporteur monoaminergique

Le transporteur monoaminergique est constitué de 12 segments transmembranaires liés par une boucle intracellulaire et extracellulaire. La topographie des transporteurs SERT et NET montre une longue boucle hydrophobe extracellulaire au niveau des segments transmembranaires 3 et 4 où se trouve le site de glycosylation.

D'après Torres et al. 2003

3.1.3.2. Structure et fonctionnement du transporteur de la sérotonine

Le SERT a d'abord été cloné *in vitro* chez le Rat puis chez l'Homme, la Souris, la Drosophile et le Cochon d'Inde. La structure moléculaire du SERT déterminée à partir de la surexpression du transporteur dans des cellules HeLa pour le Rat (Blakely et al., 1991 ; Mayser et al., 1991), COS-I pour la Souris (Chang et al., 1996) et HeLa pour l'Homme (Ramamoorthy et al., 1993 ; Lesch et al., 1993), révèle que dans ces trois cas, le transporteur a une masse moléculaire relative de 70 kD et comporte 630 acides aminés. L'homologie de séquence entre le SERT humain et celui du rat est de 92%, avec d'importantes différences dans la région N-terminale. L'homologie est de 94% entre le SERT humain et le SERT de Souris (Chang et al., 1996). Entre les deux espèces de rongeurs, l'homologie de séquence est de 97%. Les SERTs humain et murin (SLC6A4) sont codés par un seul gène localisé respectivement sur le chromosome 17q11.1-q12 et le chromosome 11. Le SERT humain est codé par un gène de 24 kb et contient 13 exons codant et deux exons non codant (exons 1A et exon 1B obtenus par épissage alternatif) situés en amont de l'exon 2 (Bradley et Blakely, 1997 ; Torres et al., 2003).

La plupart des modèles permettant de caractériser le fonctionnement du SERT, le présente avec une structure monomérique. Mais de récentes études décrivent ce transporteur monoaminergique sous forme de plusieurs unités associées (Jess et al., 1996 ; Kilic et Rudnick, 2000). En effet, l'expression hétérologue de concatémères du SERT montrent une activité de recapture aussi bien pour le dimère que pour le tétramère (Chang et al., 1998). Le SERT, constitué sans doute d'oligomères, présente 12 segments transmembranaires dont certains sont primordiaux pour la liaison des substrats exogènes ou pour son activité. L'activité du SERT dépend d'un acide aminé présent dans le premier segment transmembranaire (TM1), l'acide aspartique. Lorsque celui-ci est remplacé par de l'alanine, de la glycine ou de l'asparagine, l'activité du transporteur est abolie et son affinité pour des composés comme la cocaïne est diminuée (Barker et al., 1999). Ces résultats suggèrent que le segment TM1 soit crucial pour la reconnaissance du substrat, et ceci sans doute par une interaction entre le groupement carboxyl et la charge positive du groupement amine de la 5-HT. La construction d'un SERT chimérique, à partir du transporteur de Rat et celui de l'Homme, a permis de mettre en évidence que le segment TM1 était aussi déterminant quant à la sélectivité d'un IRSS, le citalopram, pour ce transporteur (Barker et al., 1998). Une autre construction chimérique entre le SERT humain et celui d'un papillon *Manduca sexta* a révélé

le rôle important du domaine amino terminal, incluant les segments TM1 et TM2 dans la sensibilité à la cocaïne tandis qu'une construction chimérique entre le SERT humain et bovin a permis d'identifier une Met180 (méthionine en position 180), une Tyr495 (tyrosine en position 495) et une Phe513 (phénylalanine en position 513) comme des déterminants moléculaires importants pour le blocage du transporteur par les antidépresseurs (Mortensen et al., 2001). Lorsque le deuxième segment transmembranaire du SERT est remplacé par celui du NET, une réduction très marquée de l'activité de recapture de la 5-HT est observée montrant que ce segment TM2 est impliqué dans la sélectivité directement ou indirectement et dans la translocation de son substrat (Smicun et al., 1999). L'utilisation de la substitution d'une isoleucine par une cystéine a permis de conclure que le segment TM3 du SERT était crucial pour la fixation et la translocation de substrats endogène (la 5-HT) et exogènes comme la cocaïne (Chen et al., 1997). Le segment TM12 jouerait quant à lui un rôle important dans l'affinité du SERT pour les antidépresseurs tricycliques et serait responsable de la différence de sélectivité inter-espèces pour cette classe de médicaments. En effet, un seul acide aminé du SERT humain, une phénylalanine en position (F586) serait crucial pour la haute affinité des tricycliques (Barker et Blakely, 1996). Lorsque cet acide aminé du 12^{ème} segment transmembranaire est converti par mutagenèse dirigée en une valine (V586), acide aminé qui à cette position est retrouvé chez le SERT de Rat, l'affinité pour les tricycliques augmente.

La fixation de la 5-HT par le transporteur nécessite au préalable un co-transport de sodium et de chlore pour assurer la formation d'un complexe quaternaire. Une fois ce complexe formé, un changement de conformation du transporteur permet à la 5-HT, au sodium et au chlore d'être transloqués de l'extérieur du neurone vers l'intérieur avec une stœchiométrie de 1 : 1 : 1. Les études réalisées sur des fibroblastes surexprimant le SERT murin montrent que l'ion chlore facilite la fixation de la 5-HT tandis que l'ion sodium permet la translocation de la 5-HT fixée (Chang et Lam, 1998). Le retour du transporteur à son état initial est potassium-dépendant. Après la dissociation de la 5-HT, du sodium et du chlore du transporteur, le potassium intracellulaire est transloqué de l'intérieur du neurone vers l'extérieur où il se dissocie du transporteur. Ce co-transport est un processus actif faisant intervenir une pompe Na^+/K^+ ATPase. L'inhibition de la capture de la 5-HT par un antidépresseur, est la conséquence d'une liaison compétitive de haute affinité de ce médicament avec un seul site du transporteur, empêchant la liaison de la 5-HT sur son site de reconnaissance (Olivier et al., 2000). Il a été démontré sur des fibroblastes surexprimant le SERT, que le mécanisme d'action de l'imipramine était sodium indépendant, mais non chlore dépendant (Chang et Lam, 1998).

3.1.3.3. Régulation du transporteur

Les phénomènes de phosphorylation (kinases) et de déphosphorylation (phosphatases) sont probablement des mécanismes importants de régulation de l'expression ou de l'internalisation du transporteur. Le séquençage des acides aminés formant le SERT révèle la présence de sites consensus pour la phosphorylation par des protéines kinases comme les protéines kinases AMPc-dépendantes, les protéines kinases C (PKC) et les protéines kinases Ca^{2+} /calmoduline dépendantes montrant ainsi une possible régulation post-traductionnelle (Torres et al., 2003). Ces enzymes sont fortement exprimés dans les neurones et moduleraient la plasticité neuronale (Raymond et al., 1993a). Les effets de la PKC sur l'inactivation du transporteur sont les mieux documentés. Par exemple, l'activation de la PKC dans des systèmes *in vitro* exprimant le SERT, réduit l'activité du transporteur en diminuant son expression à la surface de la cellule (Quian et al., 1997). Cependant, l'occupation du transporteur par son substrat endogène, la 5-HT ou par l'amphétamine ou simplement par la stauporine, un inhibiteur de la PKC, empêche la phosphorylation du SERT et l'inactive par internalisation, *i.e.*, le SERT disparaît de la membrane de la cellule par endocytose. Une des questions qui reste en suspens concerne la nécessité de la phosphorylation pour permettre l'internalisation du transporteur, puisque l'absence dans le SERT de site consensus de la PKC n'empêche pas son internalisation (Sakai et al., 1997). En utilisant des cellules humaines HEK-293 transfectées avec le transporteur *hSERT*, il a été démontré que des protéines kinases autres que la PKC, comme les kinases A (PKA) ou G (PKG), pouvaient phosphoryler le transporteur (Ramamoorthy et al., 1998). Le transporteur serait ainsi une phosphoprotéine dont le phénomène de phosphorylation jouerait un rôle capital dans sa régulation (Ramamoorthy et al., 1998).

L'implication et la fonction des sites de N-glycosylation du SERT ont aussi été étudiées. Des séquences consensus de N-glycosylation (Asn-X-Ser/Thr) ont été identifiés dans la grande boucle extracellulaire entre les segments TM3 et TM4. Sur des cellules d'insectes Sf9, transfectées avec le SERT, l'utilisation d'un inhibiteur de la N-glycosylation, la tunicamycine indique que la N-glycosylation semble être importante pour l'expression normale du transporteur à la surface des cellules, mais n'intervient pas dans la liaison ou la translocation du substrat (Tate et al., 1994).

Enfin d'autres processus de régulations du transporteur ont été décrits, par la protéine phosphatase 2A (PP2A) (Bauman et al., 2000), ou la protéine kinase GMPc-dépendante

(Miller et Hoffman, 1994). La PP2A interagirait avec le SERT et par une approche d'immunoprécipitation, Bauman et collaborateurs (2000) ont montré dans des broyats de tissu de cerveau médian, que la PP2A pouvait être liée au SERT. De plus, la PP2A est dynamiquement régulée par la PKC qui module l'activité du SERT. La protéine kinase-GMPc dépendante provoque une augmentation de l'activité du SERT. En effet, Miller et Hoffman, (1994) ont montré que la stimulation des récepteurs de l'adénosine A3 dans des cellules RBL2H3 de Rat par de la 5'-N-carboxamidoadénosine provoquait une augmentation de la capture de la 5-HT par le SERT. L'activation des récepteurs A3 entraînerait une élévation du calcium qui après avoir stimulé en cascade la production de monoxyde d'azote (NO) et de GMPc soluble, activerait une kinase GMPc-dépendante.

3.1.3.4. *Transporteur sérotoninergique et polymorphisme génétique*

Un polymorphisme de la région de contrôle transcriptionnel du SERT appelé 5-HTTLPR pour « 5-HTT-linked polymorphic region », a été décrit pour le gène SLC6A4 codant pour le SERT situé dans l'exon 1A du promoteur (Lesch et al., 1996). Ce polymorphisme serait associé aux troubles anxieux et à la dépression. La région concernée par le polymorphisme est une séquence répétée unique, riche en bases nucléotidiques Guanine-Cytosine, de 14 à 16 éléments, plus rarement de 18 ou 20 éléments, localisée à 1 kb en amont de la région initiatrice de transcription. Le polymorphisme consiste en 44 paires de bases insérées ou délétées impliquant 6 à 8 éléments (Heils et al., 1996). L'étude d'une population de 505 sujets américains dont 93% d'hommes, a révélé que 57% d'entre eux avaient l'allèle long (l) et 43% l'allèle court (s) (Lesch et al., 1996). Ces variants 5-HTTLPR contribuent aux différences d'expression du SERT et à sa régulation (Kim et al., 2000). Les études *in vitro* réalisées sur des lymphoblastes humains et sur des plaquettes indiquent qu'un polymorphisme fonctionnel dans la région du promoteur du gène SERT entraîne une réduction de l'expression de 25 à 50% (pour revue Murphy et al., 2001) (tableau 11). Il a aussi été démontré, lors d'études *post mortem*, que chez les sujets homozygotes pour le variant « long » du 5-HTTLPR, la quantité d'ARNm du SERT est plus importante que chez des sujets possédant un autre variant génotypique (figure 6). Le variant « court » (allèle « s ») réduirait l'activité transcriptionnelle du promoteur aboutissant à une expression faible du gène SLC6A4. Une étude utilisant l'imagerie à résonance magnétique nucléaire (RMN) montre aussi que la présence d'une ou deux copies de l'allèle « s » associée à une augmentation des comportements anxieux, se

traduit par une augmentation de l'activité neuronale dans l'amygdale (Hariri et al., 2002). Ces données ont une conséquence physiologique *in vivo* traduite par une altération de la recapture de la 5-HT (Ogilvie et al., 1996)

Un second polymorphisme du gène codant pour le SERT concernant 17 paires de bases (polymorphisme VNTR-17) et se trouvant dans l'intron 2 (système Stin2) a été identifié (Lesch et al., 1994). Ce polymorphisme est composé de deux allèles communs (STin2.10 ; Stin2.12) comprenant un nombre variable de séquences tandem répétées (entre 10 et 12) et d'un autre allèle rare composé de 9 éléments répétés (Stin2.9) (MacKenzie et Quinn, 1999). La présence de cet allèle rare du polymorphisme VNTR-17 serait corrélée à la survenue de troubles unipolaires mais pas bipolaires (Ogilvie et al., 1996). Deux études montrent que la fréquence d'apparition de ce polymorphisme est très importante dans les populations américaine, européenne et africaine (Kunugi et al., 1996 ; Gelertner et al., 1997). Les différences inter-individuelles de réponses observées chez les patients coréens déprimés traités avec un IRSS (paroxétine ou fluoxétine) indiquent que les polymorphismes VNTR-17 et 5-HTTLPR peuvent affecter la réponse au traitement antidépresseur (Kim et al., 2000). Une étude clinique récente réalisée chez des patients français atteints de troubles affectifs bipolaires d'âge différent (âge moyen de 17, 27 et 46 ans), montre que chez les patients porteurs du polymorphisme VNTR-17 (allèle Stin2.12) l'apparition de la pathologie serait retardée (Bellivier et al., 2002).

Enfin, on a récemment identifié un polymorphisme rare appelé Leu255Me, dont l'implication fonctionnelle reste à définir pour le SERT, ainsi qu'une délétion de 381 paires de bases [del(17)(q11.2)] tissu spécifique présent dans 20 à 60% de l'ADN isolé du cerveau humain (Lesch et al., 1999).

3.1.3.5. Apport des études utilisant des souris mutées privées de transporteur de la sérotonine dans la compréhension des effets des antidépresseurs

Les souris n'exprimant pas le transporteur de la 5-HT (souris KO SERT -/-) représentent un formidable outil pour étudier le rôle de ce transporteur *in vivo*. Les études neurochimiques chez ces souris KO SERT -/- montrent une multiplication par 6 des concentrations extracellulaires de 5-HT accompagnée d'une diminution de 60 à 80% des concentrations tissulaires de ce même neurotransmetteur dans le cerveau médian, le cortex frontal, l'hippocampe, et le striatum (Bengel et al., 1998). A ce jour, il n'existe pas d'étude de

microdialyse *in vivo* chez ces souris KO SERT $-/-$. Chez ces souris mutantes, l'élévation persistante de 5-HT altère la réponse des récepteurs sérotoninergiques. En effet, chez ces souris KO SERT $-/-$, tandis qu'une première étude d'électrophysiologie démontrait que les récepteurs 5-HT_{1A} pré- et postsynaptiques seraient désensibilisés (Gobbi et al., 2001), une autre étude utilisant du WAY100635 montre que seuls les récepteurs 5-HT_{1A} présynaptiques seraient désensibilisés. Li et collaborateurs (1999), en utilisant la technique d'autoradiographie avec deux marqueurs, l'un tritié ([³H]8-OH-DPAT), l'autre iodé ([¹²⁵I]MPPI) sur des coupes de raphé dorsal et d'hypothalamus, ont montré une baisse significative de la densité des récepteurs 5-HT_{1A} présynaptiques. Les quantités d'ARNm codant pour les sous-types de récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} sont également modifiées chez les souris mutées dépourvues du SERT. Une baisse significative des quantités d'ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1A} dans les noyaux du raphé (Mannoury La Cour et al., 2001) et d'ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1B} dans la substance noire a été observée (Fabre et al., 2000) ainsi qu'une diminution du couplage de ces deux sous-types de récepteurs 5-HT₁. Elle est accompagnée d'une absence de réponse à l'ipsapirone, un agoniste partiel des récepteurs 5-HT_{1A}, et au GR 127935, un antagoniste des récepteurs 5-HT_{1B} (Fabre et al., 2000). En outre, chez ces souris, la densité des récepteurs 5-HT_{2A} postsynaptiques est plus faible dans le claustrum, le cortex cérébral et le striatum latéral (Rioux et al., 1999). On observe, lors d'une administration de 8-OH-DPAT, une altération des effets hypothermiques et neuroendocriniens (faible augmentation des concentrations plasmatiques d'ocytocine et de corticostérone) chez les KO SERT (Li et al., 1999).

Toutes ces données tendent à prouver que chez les KO SERT, soit la densité de l'autorécepteur 5-HT_{1A} est diminuée, soit ce récepteur est désensibilisé; la régulation du récepteur postsynaptique semble être beaucoup plus complexe, dépendant en majeure partie de l'aire cérébrale et du sous-type de récepteur de la 5-HT étudiés. Les effets hyperlocomoteurs du MDMA sont annulés chez souris KO SERT $-/-$, et ceux d'une dose forte de d-amphétamine sont inchangés (Bengel et al., 1998). Les profondes altérations neurochimiques observées chez les souris mutantes montrent que le transporteur membranaire joue un rôle crucial dans l'homéostasie présynaptique à deux niveaux : en diminuant la quantité de 5-HT libérée dans la fente synaptique et en restaurant les réserves de ce neurotransmetteur (Gainetdinov et Caron, 2003). Les études comportementales réalisées dans un modèle animal d'anxiété, le test de l'enceinte à double compartiments, indiquent que ces souris mutantes ont une anxiété accrue comparée à leurs congénères non mutées (Wichems et al., 2000). Enfin, ces souris KO SERT $-/-$ présentent un comportement particulier : on observe

une diminution de leur activité locomotrice dans leur cage individuelle, accompagnée d'une réduction de l'agressivité lorsqu'elles rentrent en contact avec un intrus (Holmes et al., 2002).

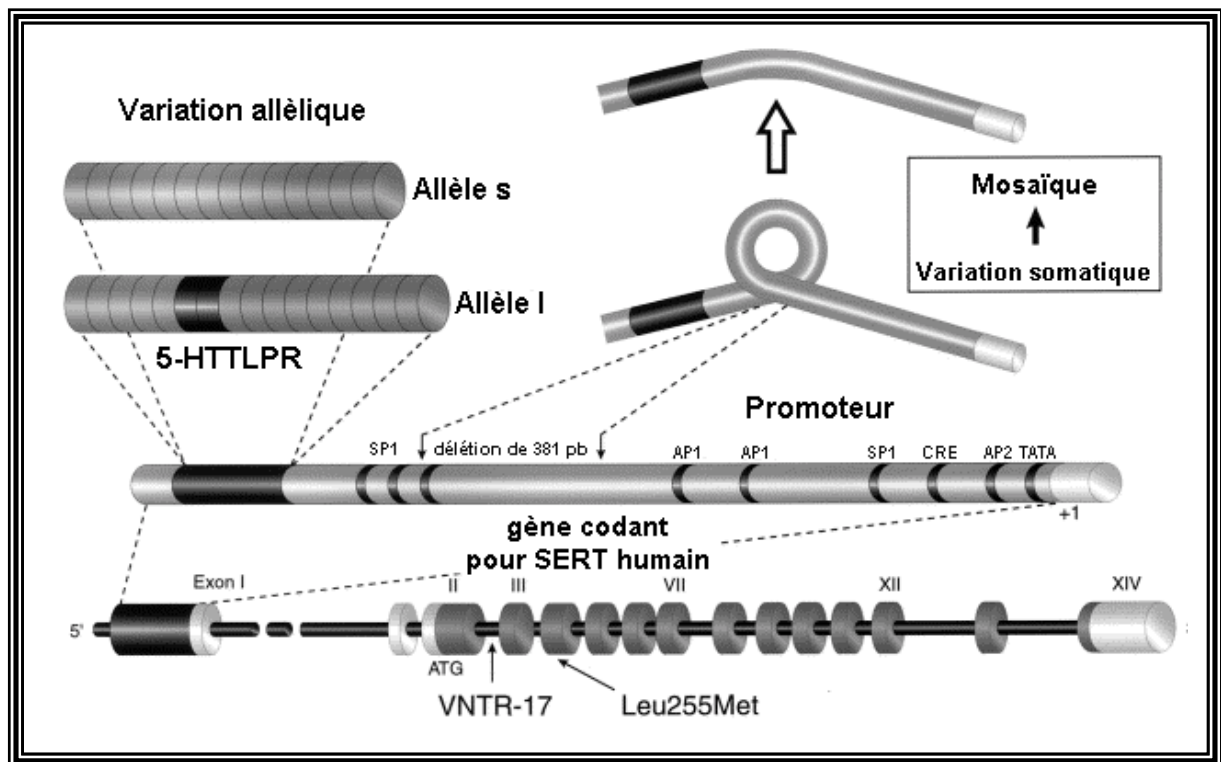


Figure 6 – Structure du gène du transporteur humain et de ses régions de contrôles transcriptionnelles

Le promoteur du gène codant pour le transporteur de la sérotonine est défini par un motif « TATA-like », des motifs de liaisons aux facteurs de transcription incluant AP1, AP2, SP1 et un motif « CRE-like » entourant l'exon 1B. Les positions des différents polymorphismes liés au transporteur de la sérotonine (5-HTTLPR), la délétion de 381 pb [del(17)(q11.2)] ainsi que la localisation d'une séquence variable répétée en tandem (VNTR-17) et le variant structural (Leu255Met) sont reportés.

D'après Lesch, 2001

Tableau 11 – Comparaison de la réduction du transport de la sérotonine, de sa liaison au transporteur et de la quantité d'ARNm de différents génotypes du transporteur humain et murin de la sérotonine

D'après Murphy et al., 2001

<i>mSERT -/- vs. mSERT +/+</i>		<i>hSERT s/s; s/l vs. hSERT l/l</i>		
Cerveau		Lymphoblastes	Cerveau	Plaquettes
Recapture de la [³ H]-5-HT	-44%##	-48%**	N/A	-27**
Fixation au transporteur	-50%##	-36%**	-45%***	ns
ARNm du SERT	N/A	-35%**	-51%***	N/A

mSERT: transporteur sérotoninergique murin; *hSERT*: transporteur sérotoninergique humain ;
SERT s/s : génotype homozygote court pour le SERT, *SERT s/l* : génotype hétérozygote court pour le SERT ; *SERT l/l* : génotype homozygote long pour le SERT.

(p<0,01): différence statistiquement significative entre le groupe de souris ayant n'exprimant pas le transporteur de la sérotonine (*mSERT -/-*) et les souris contrôles (*SERT +/+*).

** (p<0,01), *** (p<0,001) : différence statistiquement significative entre une population d'Hommes ayant le génotype *l/l* du polymorphisme 5-HTTLPR et les populations ayant le génotype *s/s* ou *s/l*.

N/A : non étudié

3.2. Rappel de quelques éléments concernant le système noradrénergique central

3.2.1. Synthèse, libération, inactivation, localisation et rôle physiologique de la noradrénaline

La noradrénaline (NA) appartient à une famille de neurotransmetteurs appelée « les catécholamines » qui inclut l'adrénaline et la dopamine. Tous ces composés sont dérivés de la phényléthylamine. Présente dans le système nerveux central où elle agit comme un neuromédiateur ou comme un neuromodulateur, elle est également présente dans le système nerveux périphérique comme neuromédiateur des ganglions sympathiques et, dans les glandes médullosurrénales, comme hormone. La noradrénaline est synthétisée dans la terminaison du neurone, à partir d'un acide aminé, la tyrosine, captée activement dans les neurones catécholaminergiques à l'exception de certains neurones noradrénergiques, où seule la DA en est le précurseur (figure 7). La synthèse de la NA nécessite trois enzymes, la tyrosine hydroxylase, la DOPA-décarboxylase et la dopamine β -hydroxylase (figure 7). Seule la dernière étape s'effectue dans les vésicules synaptiques. La tyrosine hydroxylase est l'enzyme limitante de la synthèse de NA ; des concentrations trop élevées de NA limitent la synthèse de cette enzyme. La NA est ensuite stockée dans des vésicules jusqu'à sa libération au passage de l'influx nerveux. La libération de la NA fait intervenir un mécanisme calcium-dépendant. La dégradation de la NA met en jeu plusieurs mécanismes (Stahl, 2002). Le premier implique dans le système nerveux central, un phénomène actif, qui fait intervenir un transporteur transmembranaire spécifique de la NA. Les deux autres mécanismes impliquent deux enzymes : la MAO intramitochondriale, intracellulaire, et la catéchol-O-méthyl transférase (COMT), extracellulaire. Ces enzymes transforment la NA en métabolites tels que la normétanéphrine (NME) ou le 3-méthoxy-4-hydroxyphénylglycol (MHPG) qui sont transférés dans le liquide céphalorachidien, puis dans le sang et éliminés dans les urines.

Le système central noradrénergique est constitué de corps cellulaires concentrés dans deux régions principales du tronc cérébral, la région du pont (le locus coeruleus) et celle du bulbe (l'aire tegmentale latérale). Le groupe de cellules A4, A6 (faisceau noradrénergique dorsal) est situé dans les noyaux du locus coeruleus (LC) (Dahlström et Fuxe, 1965). Cette structure est le site de la majeure partie des neurones noradrénergiques d'où partent des faisceaux de fibres ascendantes vers le cortex frontal, l'hippocampe, l'amygdale, le cervelet, et des fibres

descendantes vers la moelle épinière. Des efférences partant de l'aire tegmentale latérale (correspondant au groupe de cellules A1, A2, A5 et A7) forment le système noradrénergique ventral d'où partent des projections vers l'hypothalamus, vers les aires du septum mais aussi vers les noyaux de l'amygdale. Les corps cellulaires présents dans les noyaux du tractus solitaire forment le groupe A2 (figure 8). Les projections noradrénergiques les plus importantes concernant les fonctions physiologiques proviennent d'un ensemble de cellules du LC et remontent du tronc cérébral pour innervier le thalamus, l'hypothalamus dorsal, l'hippocampe et le cortex (Gaspar, 1995).

Depuis les années 1960, le rôle de la NA n'a cessé d'être exploré dans les pathologies touchant les troubles de l'humeur, pour étayer le mécanisme d'action des antidépresseurs. (Leonard, 1997). Ceci est sans doute dû au fait que la première génération d'antidépresseurs, les tricycliques, augmentait les concentrations de NA. Les antidépresseurs ont un impact sur la décharge neuronale des neurones du LC chez le rat anesthésié (Valentino et al., 1990). La noradrénaline et le locus coeruleus ont aussi une influence importante sur le contrôle par le système nerveux central de la cognition, de l'humeur, des émotions, de la motricité et de la pression artérielle. D'ailleurs, un dysfonctionnement de ces noyaux serait en cause dans des troubles situés au carrefour de l'humeur et de la cognition tels que la dépression, l'anxiété, les troubles du traitement de l'attention et de l'information (Stahl, 2002). Deux systèmes noradrénergiques ventral et dorsal semblent être impliqués dans la psychologie de la motivation, des pulsions, dans le mécanisme de récompense et dans le sommeil paradoxal (rapid eye movement sleep, REM). Les différentes voies NA agissent chacune sur une fonction physiologique différente (figures 9 et 10).

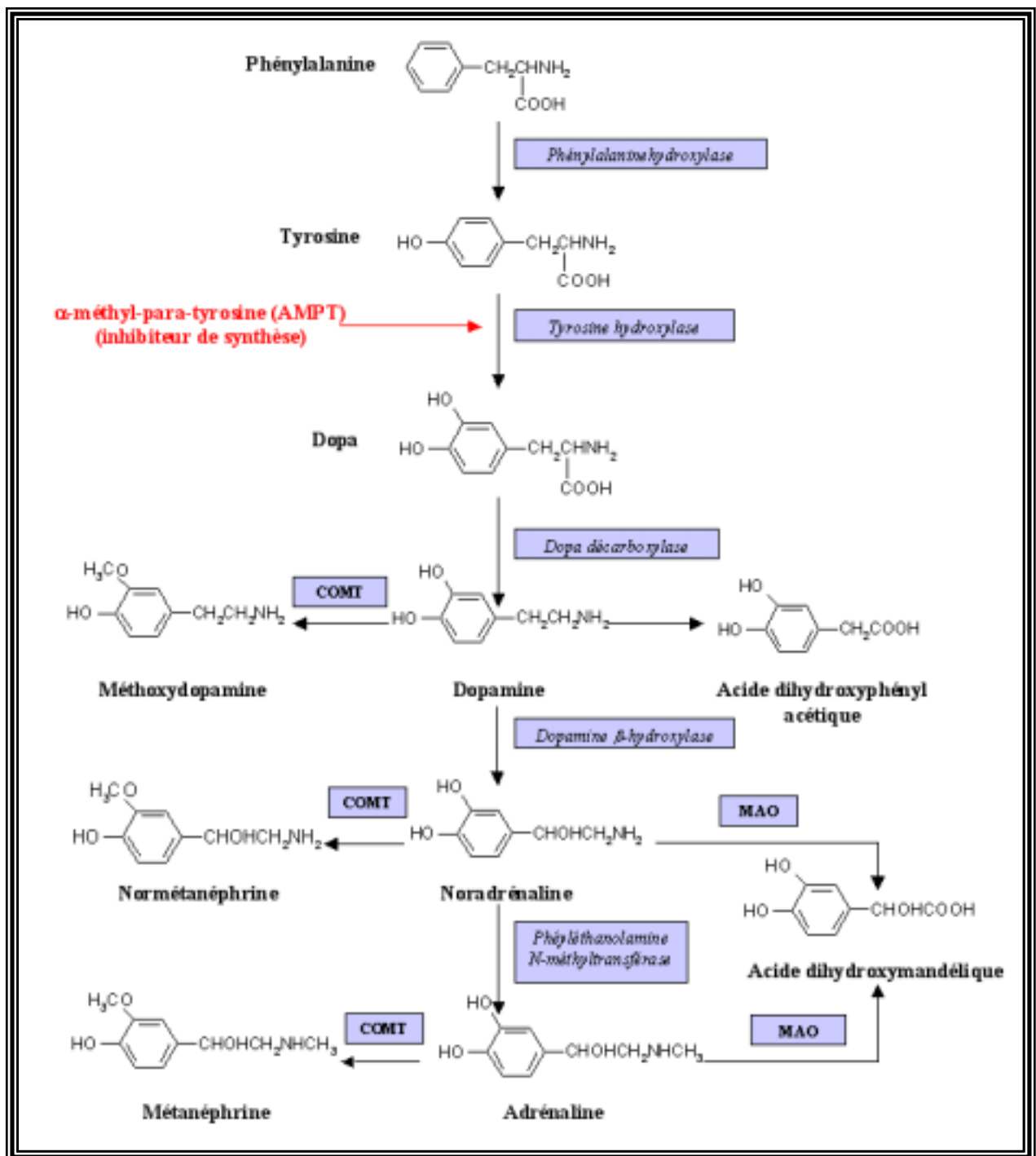


Figure 7 – Voies de biosynthèse et d'inactivation de la noradrénaline

La tyrosine hydroxylase est l'enzyme de l'étape limitante de la synthèse de noradrénaline. Elle est soumise à un rétro-contrôle négatif par les concentrations intracytoplasmiques de noradrénaline.

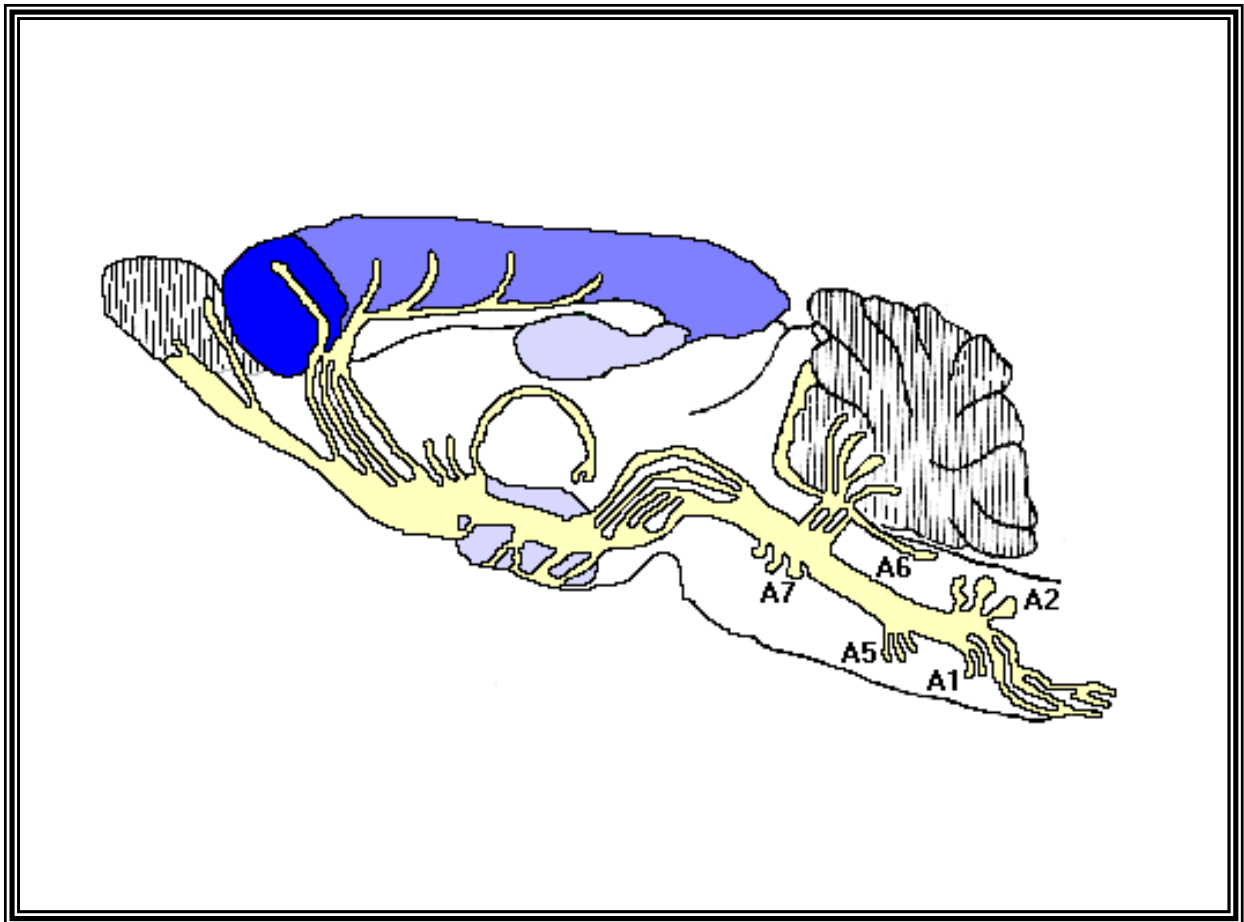


Figure 8 – Représentation schématique des différentes voies noradrénergiques du cerveau de Rat

La plupart des corps cellulaires des neurones noradrénergiques cérébraux sont localisés dans le tronc cérébral, dans un noyau appelé le locus coeruleus. On suppose que c'est un dysfonctionnement du locus coeruleus qui sous tend les troubles dans lesquels l'humeur et cognition sont impliquées, comme la dépression, l'anxiété ainsi que les troubles de l'attention et du traitement de l'information.

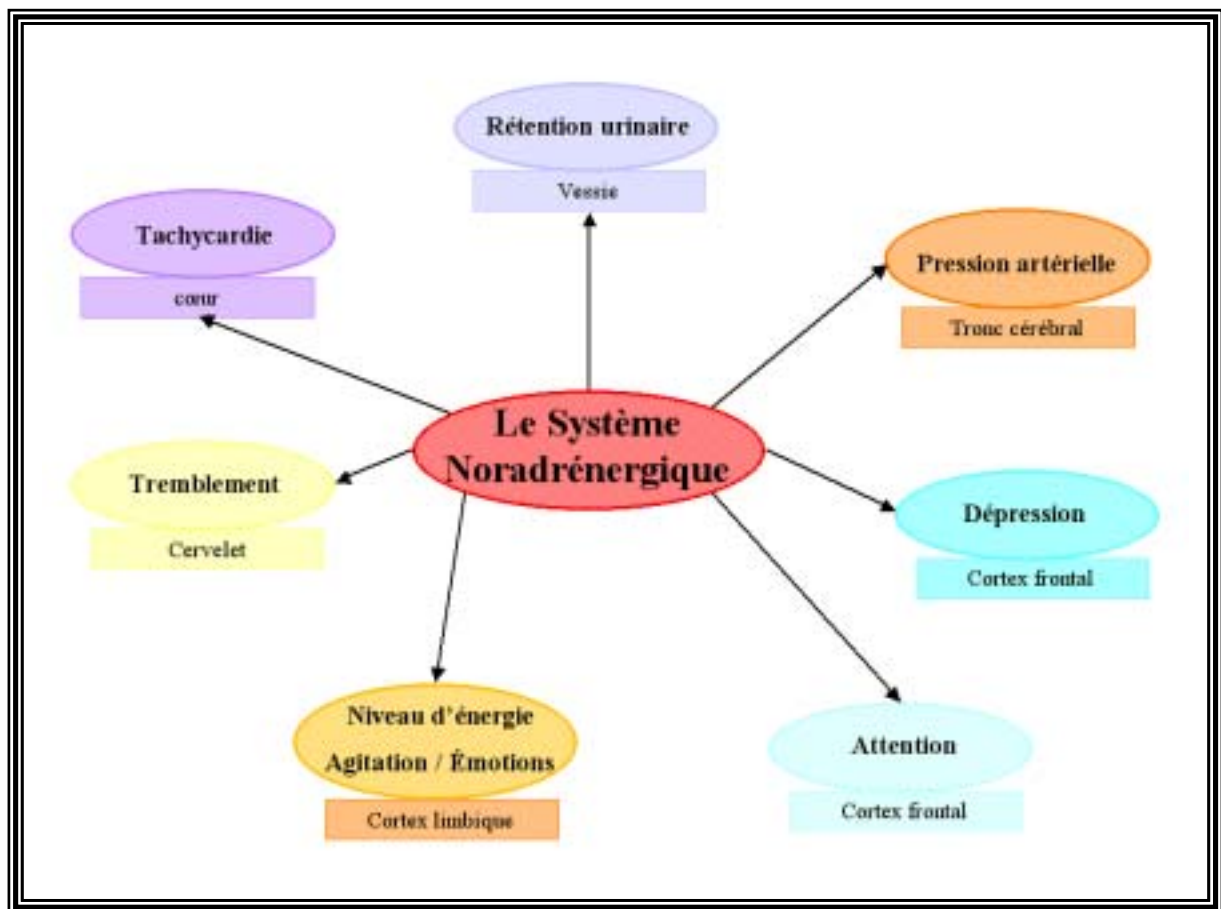


Figure 9 – Structures cérébrales impliquées dans les effets de la noradrénaline

Il existe dans le cerveau, de nombreuses voies noradrénergiques spécifiques, chacune agissant sur une fonction physiologique différente. Par exemple, une projection du locus coeruleus sur le cortex frontal pourrait être responsable de l'action régulatrice de la NA sur l'humeur.

D'après Stahl, 2002

3.2.2. Classification et rôles des récepteurs noradrénergiques

3.2.2.1. Classification des récepteurs NA

Les récepteurs noradrénergiques sont dissociés en deux grandes familles avec les récepteurs α - et β -adrénergiques. A ce jour, sont regroupés dans la famille des récepteurs α adrénergiques deux grands types, les récepteurs α_1 et α_2 composés chacun de 3 sous-types. Concernant les récepteurs, β -adrénergiques, on distingue 4 sous-types de récepteurs β_1 , β_2 , β_3 et β_4 . Les deux derniers sous-types de récepteurs cités ont principalement une fonction cardiaque ou plus généralement une fonction sur le muscle lisse ou le tissu adipeux. Dans les tableaux 12, 13, 14 sont reportés les 10 sous-types de récepteurs adrénergiques connus. Aujourd'hui, sur les neuf adrénorécepteurs clonés, huit ont été identifiés dans le système nerveux central de Rat : α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} , β_1 et β_2 (Bylund et al., 1994 ; Ford et al., 1994). Ils sont tous membres de la famille des récepteurs métabotropiques et donc des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés à des protéines G.

Ayant utilisé au cours de mes différents travaux de thèse, uniquement des molécules ayant une affinité pour les récepteurs α_2 , je décrirai plus en détail uniquement ce sous-type de récepteur noradrénergique.

3.2.2.2. Les sous-types de récepteurs α_2 adrénergiques

La classification des récepteurs α_2 repose sur les résultats d'études de liaison ligand-récepteur et sur leurs implications physiologiques dans certains tissus ou lignées cellulaires (Bylund, 1992). A ce jour, trois sous-types de récepteurs α_2 ont été clonés : α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} . Le récepteur α_{2A} , contrairement au récepteur α_{2B} présente une faible affinité pour la prazosine et une forte affinité pour l'oxymétazoline (Bylund et al., 2000). Le récepteur α_{2C} , bien qu'ayant le même type d'affinité pour la prazosine et l'oxymétazoline que le récepteur α_{2B} , se distingue pharmacologiquement de ce dernier pour son affinité pour la rauwolscine.

Les données expérimentales indiquent qu'au niveau du SNC, les récepteurs α_2 adrénergiques interviennent dans des réponses physiologiques et pharmacologiques aussi variées que les mécanismes de régulation de la pression artérielle, l'antinociception, le contrôle de la température corporelle, les fonctions cognitives et l'humeur. Le récepteur α_{2A} ,

α -adrénorécepteur le plus abondant, est largement distribué aussi bien dans le SNC que dans le système nerveux autonome à la périphérie (Lähdesmäki et al., 2002). Les études d'hybridation in situ réalisées chez le Rat montrent que le récepteur α_{2A} a d'abord été identifié dans la VIème couche du cortex cérébral, puis dans les noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus, dans les noyaux du tractus solitaire, dans la formation réticulaire médullaire, le locus coeruleus et le thalamus (Nicholas et al., 1993). Une autre étude réalisée la même année décrit une présence d'ARNm codant pour le récepteur α_{2A} dans le bulbe olfactif et le cervelet (McCune et al., 1993). Il semblerait que la quantité d'ARNm du récepteur α_{2A} soit la plus abondante dans le locus coeruleus (Scheinin et al., 1994). L'ARNm codant pour les récepteurs α_{2B} -adrénergiques a uniquement été retrouvé, dans le SNC, dans le thalamus, (Scheinin et al., 1994). Ces récepteurs sont principalement exprimés à la périphérie et notamment dans le rein, le foie, le poumon, le cœur et les vaisseaux. Les adrénorécepteurs α_{2C} , sont présents dans les bulbes olfactifs, le cortex cérébral, la formation hippocampique, le striatum et la racine dorsale ganglionnaire (Nicholas et al., 1996). Chez la Souris, la distribution de l'ARNm codant pour les trois sous-types de récepteurs α_2 présente beaucoup de similarité avec celle observée chez le Rat, hormis quelques exceptions comme dans la substance noire où l'ARNm du récepteur α_{2A} est détecté uniquement chez la Souris ou comme pour l'ARNm du récepteur α_{2B} que l'on trouve dans le caudé-putamen de Souris mais pas de Rat (Wang et al., 1996). Les études d'immunohistochimie utilisant des anticorps radiomarqués montrent une présence des récepteurs α_{2A} dans la région du tronc cérébral où l'on retrouve les corps cellulaires (Rosin et al., 1993). Concernant le récepteur α_{2C} , une immunoréactivité a été détectée dans le cortex cérébelleux et le striatum (McCune et al., 1993).

Les trois récepteurs α_2 adrénergiques, contrairement à leur homologue α_1 -adrénergique, sont associés à une inhibition de l'adénylate cyclase ; cet effet est médié par une protéine G inhibitrice. Dans de nombreux tissus, on a démontré un lien entre ces récepteurs et la stimulation de l'influx calcique, l'activation de canaux potassiques, la phospholipase A2 et l'échangeur Na^+/H^+ (Bylund et al., 1994).

Le rôle des différents sous-types de récepteurs α_2 -adrénergiques sur des modèles comportementaux est difficile à explorer puisqu'il n'existe pas de ligands sélectifs capables d'activer ou de bloquer chacun des trois sous-types (Björklund et al., 1998). Ainsi, le rôle de ces récepteurs α_{2A} , α_{2B} , α_{2C} a été étudié en contruisant des souris sur-exprimant (transgéniques) ou au contrairement n'exprimant pas (KO mutées) un des sous-type de

récepteurs α_2 -adrénergiques. En comparaison avec des souris non mutées, les souris dépourvues du récepteur α_{2A} (KO α_{2A}) présentent des altérations phénotypiques caractéristiques : une tachycardie, une élévation de la pression artérielle, une élévation des concentrations plasmatiques de NA et une augmentation du turn-over de NA dans l'hippocampe et une piloérection (Lähdesmäki et al., 2002). L'utilisation de ces souris dans différents modèles animaux tels que le test du labyrinthe en croix élevé ou l'open field montre que l'absence du récepteur α_{2A} provoque une augmentation du comportement d'anxiété accompagné d'un rythme diurne anormal (Lähdesmäki et al., 2002). Le récepteur α_{2C} , joue un rôle dans la modulation du comportement de réactivité (introduction dans un nouvel environnement), dans l'agressivité, l'hyperactivité locomotrice induite par l'amphétamine. Ce récepteur intervient aussi en modulant la réponse dans les modèles murins basés sur l'apprentissage et la mémoire. Les souris tissu-spécifique sur-exprimant le récepteur α_{2C} (souris OE α_{2C}) sont plus sensibles à l'hypothermie induite par la dexmédétomidine que leurs congénères non mutés. Ces dernières sont plus sensibles que les souris KO α_{2C} -/- (Sallinen et al., 1997). L'utilisation de ces souris dans le Morris Water Maze suggère que la synthèse d'agonistes dépourvus d'activité α_{2C} -adrénergiques puisse améliorer les capacités mnésiques (Björklund et al., 1998). Il a aussi été montré que chez des souris KO α_{2C} -/-, l'agressivité semblait accrue (Sallinen et al., 1998).

L'activation des neurones du LC innervant le système limbique et le cortex entraîne une libération de NA qui agit sur une variété de sous types de récepteurs adrénergiques postsynaptiques incluant les récepteurs α_1 , α_2 , β_1 , β_2 . La présence du sous type de récepteur α_2 en tant qu'autorécepteur somatodendritique lui confère des propriétés inhibitrice sur l'activité électrique du neurone alors que le récepteur α_1 , qui peut être présent en tant qu'hétérorécepteur aurait une action facilitatrice, i.e. en augmentant l'activité électrique. Puisque l'activation de ces récepteurs inhibe la libération de NA. Des études pré-cliniques montrent que lorsque un antagoniste α_2 (idazoxan) est combiné à un antidépresseur (désipramine), une potentialisation de l'effet antidépresseur, traduite par une augmentation des concentrations extracellulaires de NA, est observée (Nutt et 1997). En fait, ce système agirait comme le récepteur 5-HT_{1A} pour le système 5-HT, en activant un rétro-contrôle négatif afin de limiter l'augmentation des concentrations extracellulaires de NA (Lacroix et al., 1991). Dans le LC, la NA peut aussi être libérée au niveau des projections neuronales. La libération du neurotransmetteur peut interagir avec les récepteurs α_2 présents sur les corps cellulaires des neurones noradrénergiques. La conséquence de ce phénomène est une

inhibition de l'activité de décharge du neurone, représentant de ce fait un second mécanisme de rétrocontrôle inhibiteur (Nutt, 2002). Enfin chez le Rat, les études de microdialyse *in vivo* ou d'électrophysiologie indiquent que les récepteurs α_2 , après un traitement chronique d'antidépresseurs, semblent désensibilisés dans le cortex (Invernizzi et al., 2001) l'hippocampe (Szabo et Blier, 2001) ou le LC (Mateo et al., 2001) justifiant le délai d'action de ces antidépresseurs (réboxétine, citalopram, .

Tableau 12 – Classification des récepteurs α_1 -adrénergiques

D'après Bylund et al., 2000

	α_{1A} - adrénérique	α_{1B} - adrénérique	α_{1D} - adrénérique
Ancien nom	α_{1A} , α_{1C}	α_{1B}	α_{1A} , $\alpha_{1a/d}$
Agonistes sélectifs	oxymétazoline A61603	-	noradrénaline adrénaline phenyléphrine oxymétazoline A61603
Antagonistes sélectifs (pK _B)	±niguldipine (9,5-10,5) 5-méthylurapidil prazosine (9-10) SNAP5089 Rec152739 RS17053 SB216469 Ro700004 KMD3213	prazosine (9-10) chloroéthylclonidine (non sélectif)	prazosine (9-10) BMY7378 (8,0) SKF105854
Marqueurs radioactifs	[³ H]-prazosine [¹²⁵ I]-HEAT	[³ H]-prazosine [¹²⁵ I]-HEAT	[³ H]-prazosine [¹²⁵ I]-HEAT
Couplage	G _{q/11} -IP ₃ /DAG	G _{q/11} -IP ₃ /DAG	G _{q/11}
Chromosome	Ch. 8	Ch. 5	Ch. 20
Information structurale	7TM	7TM	7TM
Protéine (acides aminés)	h466 r466	h519 r515	h572 r561 s562

Tableau 13 – Classification des récepteurs α_2 -adrénergiques*D'après Bylund et al., 2000*

	α_{2A} -adrénergique	α_{2B} -adrénergique	α_{2C} -adrénergique
Ancien nom	α_2 -C10, RG20	α_2 -C2, RNG	α_2 -C4,
Agonistes sélectifs	oxymétazoline	methylnoradrénaline	methylnoradrénaline
	guanfacine	clonidine	clonidine
	méthylnoradrénaline	UK14304	UK14304
	clonidine	dexmédétomidine	dexmédétomidine
	UK14304		
	dexmédétomidine		
	adrénaline		
	noradrénaline		
	erythro- α -methylnoradrénaline		
	clonidine		
Antagonistes sélectifs (pK_B)	phenyléphrine		
	BRL44408	imiloxan	prazosine
	BRL48962	prazosine	yohimbine
	prazosine	yohimbine	rauwolscine
	yohimbine		BRL44408
	rauwolscine		
Marqueurs radioactifs	[3 H]-rauwolscine		
	[3 H]-RX821002	[3 H]-rauwolscine	[3 H]-rauwolscine
	[3 H]-UK14304	[3 H]-RX821002	[3 H]-RX821002
	[125 I]-iodoclonidine	[3 H]-UK14304	[3 H]-UK14304
Couplage	$G_{i/o}$ - $\downarrow$ AMPc	[125 I]-iodoclonidine	[125 I]-iodoclonidine
	Ch. 10q23-25	$G_{i/o}$ - $\downarrow$ AMPc	$G_{i/o}$ - $\downarrow$ AMPc
Chromosome	7TM	Ch. 2	Ch. 4
Information structurale	h450	7TM	7TM
Protéine (acides aminés)	r450	h450	h461
		r453	r458
		s455	s458

Tableau 14 – Classification des récepteurs β -adrénergiques*D'après Bylund et al., 2000*

	β_1 - adrénérique	β_2 - adrénérique	β_3 - adrénérique	β_4 - adrénérique
Ancien nom	-	-	β -adrenocepteur atypique	-
Agonistes sélectifs	dénopamine	salméterol	BRL37344	CGP12177
	xamotérol	salbutamol	CGP12177	iodocyanopindolol
	T0509	formotérol	CL316243	pindolol
	isoprénaline	terbutaline	isoprotérénol	carazolol
	dénopamine	fénoterol		
	xamotérol	procaterol		
Antagonistes sélectifs (pK_B)	aténolol (7,6)	ICI118551 (9,3)	SR59230A	bupranolol
	bisoprolol (7,5)		bupranolol	CGP20712A
	betaxolol (8,5)		ICI118551 (5,9)	
	practolol (6,5)		SR52930 (8,2-8,8)	
Marqueurs radioactifs	CGP20712A (9,6)			
	[125 I]-iodocyanopindolol	[125 I]-iodocyanopindolol	[125 I]-iodocyanopindolol	[3 H]-CGP12177
	[3 H]-CGP12177	[3 H]-CGP12177	[3 H]-CGP12177	
Couplage	[3 H]-dihydroalprénolol	[3 H]-dihydroalprenolol	[3 H]-dihydroalprénolol	
	G_s - $\uparrow$ AMPc	G_s - $\uparrow$ AMPc	stimulation de l'AC ¹ inhibition de l'AC ¹	G_s - $\uparrow$ AMPc
Chromosome				
Information structurale	Ch. 10q14-26	Ch. 5q31-32	Ch. 8p11-12	-
Protéine (acides aminés)	7TM	7TM	7TM	-
	h477	h413	h408	-
	r466	r418	r400	
	s466	s418	s400	

¹adénylate cyclase

3.2.3. Le transporteur noradrénergique

Le transporteur de la noradrénaline est un acteur de l'épisode majeur dépressif puisqu'il est la cible de nombreux antidépresseurs et que son expression dans le cerveau semble varier entre des patients déprimés et des patients sains (Klimek et al., 1997). En effet, cette étude *post mortem* réalisée chez des patients atteints d'épisode dépressif majeur montre une diminution de liaison de la [³H]nisoxétine au NET indiquant une possible « downregulation » fonctionnelle dans le LC suite à une insuffisance du substrat endogène, la NA. Le NET est la cible pharmacologique de nombreux antidépresseurs comme la nisoxtétine (développement arrêté au cours des essais cliniques), la réboxétine, la viloxazine, la nomifensine, le mazindole, le talsupram, un analogue du citalopram et de nombreux inhibiteurs du NET dérivés de la structure chimique des tricycliques.

3.2.3.1. Distribution dans le système nerveux central

La distribution du NET, que ce soit dans le cerveau humain ou de Rat, a été étudiée par autoradiographie quantitative en utilisant de la [³H]-nisoxétine (Tejani-Butt, 1992 ; Ordway et al., 1997). Dans le cerveau de Rat, le marquage de NET par de la [³H]-nisoxétine montre que la quantité de transporteur la plus importante a été retrouvée dans le LC (1526 fom/mg de protéine), le noyau antéroventral du thalamus ainsi que dans les noyaux des stries terminales et dans les noyaux dorso-médians de l'hypothalamus. Alors qu'une densité importante a aussi été identifiée dans les noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus, du thalamus, du gyrus dentelé de l'hippocampe, la densité de NET dans le caude putamen semble faible (Tejani-Butt, 1992). La protéine et son ARNm seraient co-localisés, chez le Rat dans le LC puisqu'on retrouve par hybridation *in situ* de l'ARNm codant pour le NET (Lorang et al., 1994). Les études d'immunohistochimie chez le Rat ont permis d'identifier la présence du NET dans les corps cellulaires, les dendrites et les axones afférents dans l'hippocampe et du cortex (Schroeter, 2000), mais ont aussi permis de montrer que le NET était associé à la structure tubulo-vésiculaire d'organites intracellulaires. Comme pour le SERT, le NET a aussi été retrouvé à la périphérie dans les neurones du système nerveux sympathique, dans les glandes médullo-surrénales, dans l'intestin et le placenta (Eisenhofer, 2001). Une revue de la

littérature montre que le NET est exprimé très précocément chez l'embryon, aussi bien dans les tissus périphériques que centraux (Sieber-Blum et Ren, 2000).

Chez l'Homme l'ARNm codant pour le NET a été identifié principalement dans les noyaux du LC, aire cérébrale où sont présentes la plus grande partie des neurones noradrénergiques (Eymin et al., 1995). Sa distribution dans le LC et les noyaux du raphé a été étudiée par Ordway et collaborateurs (1997). Cette étude d'autoradiographie quantitative révèle que la quantité NET semble, inégalement distribué tout au long de l'axe rostro-caudal du LC et du noyau du raphé dorsal. La densité du NET dans le raphé dorsal est tout de même supérieure à celle retrouvée dans le LC.

3.2.3.2. *Structure et fonctionnement du transporteur de la noradrénaline*

La comparaison de la séquence d'acides aminés du NET avec celle de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) a montré des similitudes (46%) et a permis de mettre à jour une nouvelle famille de gènes codant pour le transporteur de neurotransmetteur (Blakely et al., 1994). Le NET a été le premier des transporteurs monoaminergiques à être caractérisé et cloné chez l'Homme (Pacholczyk et al., 1991). Il fut ensuite cloné chez le Bovin et le Rat (Brüss et al., 1997). Le transporteur humain, formé de 617 acides aminés est codé par un gène (SLC6A2) de 45 kb constitué de 14 exons et localisé sur le chromosome 16 (16q12.2.) (Porzgen et al., 1995). Chez la souris, le NET a été localisé au niveau du chromosome 8. Il existe un fort degré de conservation dans l'alignement des séquences d'acides aminés des transporteurs humain et de Rat (rat *versus* humain : 93%).

La présence d'un facteur de transcription appartenant à la famille du type « leucine zipper », présent au niveau du TM2 chez les trois types de NET, humain bovin et rongeurs, suggère la possibilité de formation d'oligomères actifs. L'affinité de la NA pour son transporteur résiderait au niveau des boucles TM1-TM3 et TM10-TM11, suggérant que des résidus dans les deux régions puissent interagir. Les domaines impliqués dans la translocation des substrats incluraient les domaines TM4-TM8 (Buck et Amara, 1994). Giros et collaborateurs (1994), en développant une construction chimérique entre le NET_(rat) et le DAT_(humain) et en l'exprimant dans des cellules COS-7, a pu montrer des motifs de liaison et de translocation différents. Les régions allant du domaine N-terminal jusqu'aux segments TM1-TM5 sont considérées comme responsables de la translocation et de la dépendance

ionique. Entre les domaines TM6 et TM8, une région très importante pour l'affinité de la cocaïne et des ADTs a été identifiée (Giros et al., 1994), alors qu'une région incluant le domaine TM9 et allant jusqu'à la région C-terminale semble être responsable de la stéréosélectivité et de l'affinité du transporteur pour des substrats comme les antidépresseurs, l'amphétamine ou la cocaïne. De même que pour le SERT, le remplacement d'un acide aspartique par une alanine, une glycine ou une asparagine, abolit l'activité du transporteur noradrénergique. La construction d'un transporteur chimère entre le DAT de Rat et le NET humain a permis de conclure que les domaines TM5 et TM7 étaient importants pour l'affinité du NET humain pour les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la NA comme la désipramine et la nioxétine. La région incluant les domaines TM1-3 est aussi impliquée dans la liaison de la désipramine et de la nioxétine (Buck et Amara, 1995).

La stoechiométrie nécessaire à la translocation de la NA par le NET est différente de celle nécessaire pour le SERT. En effet, alors qu'il y a une sortie de potassium pour le co-transport de la 5-HT, le transport de la NA nécessite seulement du sodium et du chlore (NA, Na⁺, Cl⁻ = 1 : 1 : 1).

3.2.3.3. Régulation du transporteur

Les sites de phosphorylation et de déphosphorylation sur le NET participent probablement à un système de régulation complexe permettant l'augmentation ou la diminution de la capture de la NA (Olivier et al., 2000). Les deux NET (Homme, Rat) ont un site de phosphorylation par la PKC situé sur la deuxième boucle intracellulaire. Chez le Rat, on retrouve aussi sur le segment C-terminal un site de phosphorylation par la PKC et un site de phosphorylation à la caséine kinase II. Dans des cellules HEK293 et LLC-PK1 où le NET a été transfecté, il a été montré que l'activation de la PKC par le β -PMA et le PDBu (phorbol-12,13-dibutyrate), deux phorbolesters, provoquait une diminution significative de la recapture de la NA par le *h*NET transfecté et ceci sans affecter l'affinité du neurotransmetteur pour son transporteur (Asparsundaram et al., 1998). Lors de la même étude, l'utilisation de transporteurs *h*NET immunomarkés par des anticorps N430, montre que le β -PMA provoque une internalisation du transporteur, phénomène que l'on peut bloquer par de la stauporine. Le transporteur de la NA est aussi régulé par exemple par le Ca²⁺ et la calmoduline Kinase (CAMK II), le monoxyde d'azote ou l'éthanol (pour revue Zahniser et Doolen, 2001). Par exemple, l'exposition de cellules PC12 exprimant le NET pendant 10 min à 1mM de Ca²⁺, augmente la capture de la [³H]NA de plus de 700% (Uchida et al., 1998). En fait le Ca²⁺

régulerait l'activité du NET par l'implication d'une CaMK II, qui elle le phosphorylerait. Le monoxide d'azote serait lui aussi un élément régulateur du transporteur puisque un agoniste du NO, le SNAP, diminue la capture de la [³H]NA (Kaye et al., 2000). Enfin, l'application d'éthanol dans le cortex de Rat anesthésié, inhibe l'activité de recapture du NET (Lin et al., 1993).

Le transporteur humain comporte trois sites de glycosylation situés sur la deuxième boucle extracellulaire, tandis que le NET de Rat n'en contient que deux. En fait ces sites de glycosylation se situent entre les segments TM3 et TM4 et comportent une asparagine 184 (Asn184), une Asn192 et une Asn198. Les effets de la glycosylation sur l'expression et l'activité du NET ont surtout été étudiés par Nguyen et Amara (1996) et Melikian et al., (1996). La mutation de l'Asn192 et l'Asn198 par une glutamine dans des vecteurs d'expression comme les cellules HeLa (Nguyen et Amara, 1996), montre une activité du NET muté diminuée de deux fois alors qu'elle est diminuée de vingt fois lorsque les trois acides aminés sont remplacés et ceci sans en affecter l'affinité de la NA ou de ligands comme la désipramine ou la cocaïne pour le NET.

Il a été démontré *in vivo* et *in vitro* dans des modèles de lignées cellulaires qu'une régulation hormonale influencerait de façon chronique sur le gène codant pour le NET. *In vitro*, sur des coupe d'hypothalamus de Rat, un traitement par de l'insuline (0,1 – 10 nM) diminue la recapture de la [³H]NA (Figlewicz et al., 1993a). De même un traitement chronique par de l'insuline pendant 96 h sur des cellules PC12 réduit la capture de NA ainsi que la fixation de [³H]désipramine sur le NET (Figlewicz et al., 1993a). *In vivo*, l'administration d'insuline chez des Rats réduit de manière significative les concentrations d'ARNm codant pour le NET dans le LC (Figlewicz et al., 1993b).

3.2.3.4. Transporteur noradrénergique et polymorphisme génétique

Le fait qu'un seul gène code pour le NET à la périphérie et au niveau du SNC signifie qu'un polymorphisme peut influencer sur la densité du NET (Blakely, 2001). Stöber et al., (1996) ont décrit 13 variants pour le hNET dont cinq sont des substitutions d'acides aminés (Val69Ile, Thr99Ile, Val245Ile, Val449Ile, et Gly478Ser) localisés respectivement au niveau des segments TM1, TM2, TM4, TM9, TM10. Une étude de mutagenèse dirigée contre le

hNET exprimé dans des cellules COS-7, a permis de reproduire les cinq variants, sans affecter la puissance de recapture du transporteur de la NA. Cependant, la mutation Gly478Ser diminuerait l'affinité du transporteur pour son substrat indiquant que la glycine en position 478 jouerait un rôle important dans la reconnaissance substrat / transporteur (Runkel et al., 2000). Un sixième variant exonique, 1287G/A localisé dans l'exon 9, consiste en une substitution silencieuse. Ce polymorphisme étudié dans une population adulte de caucasiens ne semble pas jouer un rôle majeur dans la dépression, ni dans les comportements suicidaires (Owen et al., 1999). Une autre étude réalisée chez des volontaires sains caucasiens dont du LCR a été prélevé par ponction lombaire, révèle que les personnes ayant le variant 1287G/A ont de fortes concentrations en MHPG, alors que les concentrations de 5-HIAA et l'HVA ne semblent pas modifiées (Jönsson et al., 1998). Ainsi, le polymorphisme du NET a principalement été impliqué dans des troubles cardio-vasculaires comme l'hypotension orthostatique (Robertson, 1999). En fait, ce variant situé à proximité du variant 1287G/A, semble le seul associé à une perte de fonction physiologique (Shannon et al., 2000). Cette mutation résulterait de la substitution d'une guanine en cytosine. Ce changement de base nucléotidique a pour conséquence de substituer une alanine par une proline au niveau d'une région hautement conservée du segment TM9. Les études *in vitro* sur ce mutant montrent une perte complète de la fonctionnalité du NET ainsi qu'une absence de maturation de la protéine du NET (Blakely, 2001).

3.2.3.5. *Apport des études utilisant des souris mutées privées de transporteur de la noradrénaline dans la compréhension des effets des antidépresseurs*

Le NET, principale cible pharmacologique des ADTs, est aussi la cible de quelques molécules psychostimulantes (cocaïne, amphétamine et dérivés). Les souris n'exprimant pas le transporteur de la NA (souris KO NET $-/-$) ont été obtenues par recombinaison homologe (Xu et al., 2000). Chez ces souris, l'absence du transporteur prolonge la demi-vie de la NA et élève les concentrations extracellulaires de cette monoamine tout en déplaçant les stocks vésiculaires (Xu et al., 2000). Il en résulte une augmentation des concentrations de NA et une déplétion des réserves du neurotransmetteur. De plus, chez ces souris, une diminution de la liaison des récepteurs α_1 adrénergiques est observée dans l'hippocampe. Elles présentent une perte de poids et leur activité locomotrice est diminuée fortement lorsqu'elles sont placées dans un nouvel environnement. Dans le TST, un modèle animal de « dépression », les souris

KO NET $-/-$ non traitées, ont un comportement semblable à celui des souris WT traitées par un antidépresseur ; les antidépresseurs comme la désipramine, la paroxétine ou le bupropion ne modifient pas leur comportement (Xu et al., 2000). La désipramine inhibe la locomotion des souris KO NET $-/-$; ceci indique que cet effet est indépendant du NET. L'hypoactivité pourrait être, soit liée à de faibles concentrations extracellulaires de DA dues à une altération du système DA du cerveau médian, soit liée à un effet de la désipramine sur le SERT (Bohn et al., 2000). Dans un modèle animal d'analgésie, le tail-flick, les souris mutées traitées par de la morphine présentent une analgésie supérieure aux souris non mutées (Bohn et al., 2000).

Une étude réalisée à partir de synaptosomes obtenus par broyat de cortex frontal de souris mutées NET $-/-$ montre que la cocaïne et la nisoxétine n'ont aucun effet inhibiteur sur la capture de la DA, indiquant que dans cette région, la recapture de la DA dépend principalement du NET. Enfin, les souris KO NET $-/-$ possèdent une réponse aux psychostimulants augmentée que nous relierions à la suppression des fonctions dopaminergiques présynaptiques et à l'hypersensibilité des récepteurs dopaminergiques D_2 et D_3 (Xu et al., 2000).

3.3. Les interactions fonctionnelles entre les systèmes sérotoninergique et noradrénergique

Les interactions fonctionnelles entre les systèmes 5-HT et NA sont importantes puisque lorsque l'on administre un antidépresseur, une augmentation des concentrations extracellulaires des deux neurotransmetteurs est mesurée. Il existe donc deux hypothèses : l'une où l'augmentation des concentrations des neurotransmetteurs s'effectue en parallèle avec une inhibition des deux transporteurs, l'autre où l'on observe d'abord l'augmentation des concentrations d'un neurotransmetteur, puis de l'autre.

Le système NA est plus lié à la composante psychomotrice de la dépression, tandis que le système 5-HT est plus lié aux aspects affectifs de la dépression (figure 10). Il existe de nombreux chevauchements comportementaux dans les effets de la NA et de la 5-HT et l'on pense actuellement que des comportements complexes peuvent être le reflet d'interactions fonctionnelles entre ces neurotransmetteurs (Tassin, 1994 ; Blier, 2001). De nombreuses données montrent que les interactions entre les systèmes sérotoninergique et noradrénergique reposent sur des connexions anatomiques et biochimiques, impliquant différents types de synapses et de récepteurs (Caldecott-Hazard et al., 1991). La connaissance des inter-relations

entre les systèmes de neurotransmission est très importante afin de mieux comprendre les troubles de l'humeur. Deux types d'interactions de la noradrénaline avec la 5-HT coexistent. Dans le tronc cérébral, une première voie partant du LC vers le raphé interagit avec les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques ce qui accélère la libération de 5-HT. Une seconde voie noradrénergique qui se projette sur le cortex interagit également avec les terminaisons axonales sérotoninergiques et à l'inverse freine la libération de 5-HT.

L'administration chronique d'un IRSS comme le citalopram, après 14 et 21 jours de traitement continu, diminue progressivement la décharge des neurones noradrénergiques et ceci sans doute à cause des projections 5-HT vers le LC (Blier, 2001). Les corps cellulaires sérotoninergiques (présents dans le noyau du raphé) et les corps cellulaires noradrénergiques (présents dans la région du LC) émettent mutuellement des projections d'un système vers l'autre (figure 11). On retrouve aussi bien des hétérorécepteurs sérotoninergiques de type 5-HT_{2A} sur les terminaisons des neurones noradrénergiques que des hétérorécepteurs noradrénergiques de type alpha 1 sur les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques.

Les études d'électrophysiologie mettent l'accent sur l'implication du récepteur 5-HT₂ dans la régulation des neurones noradrénergiques du LC. Les enregistrements d'électrophysiologie effectués chez le rat anesthésié suggèrent que l'activation des récepteurs 5-HT₂ résulte à la fois de la facilitation de l'activation des neurones noradrénergiques, et de l'inhibition de leur activité spontanée (Aghajanian, 1995). L'effet inhibiteur des récepteurs 5-HT₂ sur la transmission noradrénergique a aussi été démontré par des études de microdialyse intracérébrale *in vivo* indiquant une diminution de la libération de NA dans l'hippocampe de rat après l'administration d'un agoniste des récepteurs 5-HT₂ (DOI ou DOB), effet qui est d'ailleurs antagonisé par la ritansérine ou la spipérone (Done et Sharp, 1992). D'autres études de microdialyse chez le Rat éveillé mettent plus généralement en évidence le rôle des antagonistes 5-HT₂ dans l'augmentation de la libération de NA (Done et Sharp, 1994). Certaines études suggèrent que l'activation des récepteurs 5-HT₂ portés par des neurones noradrénergiques puisse être indirecte, impliquant des afférences du LC vers le cerveau moyen (Gorea et al., 1991 ; Aghajanian, 1995). Les récepteurs 5-HT₂ pourraient être responsables de l'excitation des neurones des noyaux *prépositus hypoglossi* qui sont une source majeure d'inhibition des afférences du LC (Bobker, 1994). Bien que de nombreuses données indiquent que les neurones noradrénergiques sont modulées par le sous type 5-HT_{2A}, les résultats obtenus en microdialyse laissent à penser qu'un autre sous type de récepteur 5-HT₂, le 5-HT_{2C}, modulerait l'activité du système noradrénergique. Les antagonistes de ces récepteurs augmenteraient les concentrations de noradrénaline (Millan et al., 1998). En fait,

les récepteurs 5-HT_{2C} exerceraient une influence tonique inhibitrice sur les projections noradrénergiques.

De nombreuses études soulignent aussi le rôle important du récepteur 5-HT_{1A} dans la modulation de la libération de NA. Les études de microdialyse effectuées chez le Rat éveillé, démontrent que le 8-OH-DPAT augmente la libération de NA dans de nombreuses aires cérébrales incluant l'hypothalamus, l'hippocampe, le cortex frontal, l'aire tegmentale ventrale (Done et Sharp, 1994 ; Chen et Reith, 1995 ; Suzuki et al., 1995). D'autres ligands, comme la buspirone, le NAN-190 et le MDL 73005EF augmentent les concentrations de noradrénaline dans les dialysats et dans chaque cas, l'effet semble résulter d'une activation des récepteurs 5-HT_{1A} (Done et Sharp, 1994 ; Hájos-Korcsok et al., 1999). L'action des récepteurs 5-HT_{1A} sur la réponse noradrénergique est probablement postsynaptique puisque ni une neurotoxine 5-HT (Suzuki et al., 1995), ni un inhibiteur de synthèse de la 5-HT (Hájos-Korcsok et al., 1999) ne bloquent la réponse. De plus, les agonistes des récepteurs 5-HT_{1A} comme le 8-OH-DPAT ou la buspirone induisent une expression très marquée du gène précoce *c-fos*, dans le locus coeruleus, effet bloqué par le WAY 100635 (Hájos-Korcsok et Sharp, 1999). Par conséquent, étant donné que la densité de récepteurs 5-HT_{1A} est faible dans le locus coeruleus, les agonistes de ce sous-type de récepteur 5-HT pourraient stimuler l'activité noradrénergique via une action sur les afférences du locus coeruleus.

Le récepteur α_2 noradrénergique peut, quant à lui, être aussi bien autorécepteur qu'hétérorécepteur. Ainsi l'activation des autorécepteurs α_2 noradrénergiques du locus coeruleus contribue à la réduction de la concentration de la noradrénaline et de la sérotonine dans le cortex frontal via une diminution de l'activité des fibres noradrénergiques excitatrices, médiée par les récepteurs α_2 noradrénergiques postsynaptiques localisés sur les corps cellulaires des neurones des noyaux du raphé. De plus l'activation des autorécepteurs α_2 adrénérergiques présents sur les terminaisons des neurones adrénérergiques afférent aux noyaux du raphé peut aussi inhiber l'activité des corps cellulaires sérotoninergiques (Gobert et al., 1997). Chez le Rat, par exemple, l'augmentation de la transmission noradrénergique stimule la fréquence de décharge des neurones 5-HT (Vandermaelen et Aghajanian, 1983) et après un certain délai, augmente la neurotransmission sérotoninergique. Inversement, un tonus sérotoninergique inhibiteur diminue l'activité électrique des neurones noradrénergiques du LC et donc diminue la libération de NA (Aston-Jones et al., 1991). Néanmoins, le type d'interactions entre les deux systèmes de neurotransmetteurs, facilitatrices ou inhibitrices, peut changer en fonction des structures anatomiques dans lesquelles elles ont lieu.

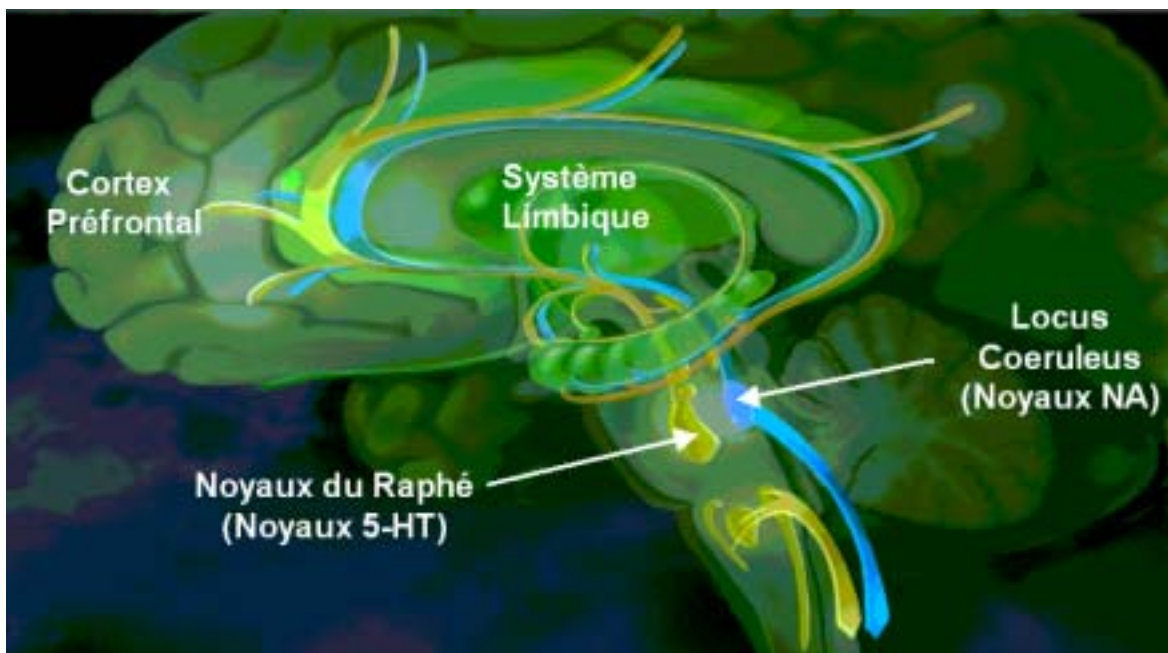


Figure 10 – Schéma des différentes projections noradrénergiques et sérotoninergiques dans le système nerveux central

Les connexions et projections anatomiques sérotoninergiques et noradrénergiques impliquent des interactions fonctionnelles entre les deux systèmes.

D'après Kaplan et Sadock, 1995

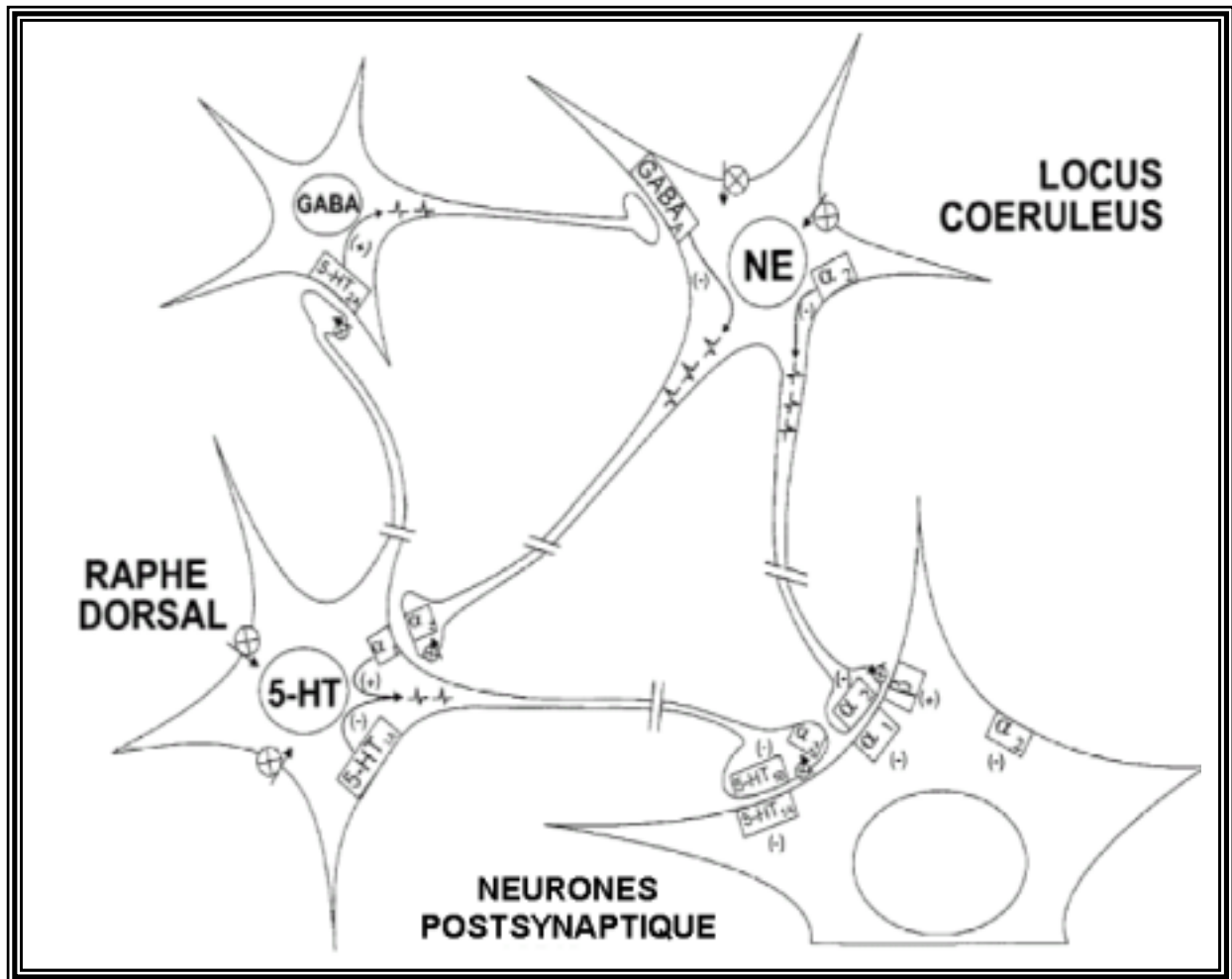


Figure 11 - Interactions mutuelles entre un neurone sérotoninergique, noradrénergique et un neurone postsynaptique.

Les neurones sérotoninergiques projettent du noyau du raphé dorsal vers le locus coeruleus et les neurones NA projettent du locus coeruleus vers le noyau du raphé dorsal. Ces projections mutuelles revêtent un caractère physiologique important permettent le contrôle de l'activité d'un neurone postsynaptique. Ces interactions jouent un rôle important dans le mécanisme d'action des antidépresseurs. Les signes (+) ou (-) indiquent une action excitatrice ou inhibitrice sur les récepteurs.

D'après Blier 2003

4. Les thérapeutiques médicamenteuses de la dépression

La découverte des antidépresseurs imipraminiques et leurs dérivés et celle des IMAOs voilà plus de trente ans, a été une révolution dans le traitement de la dépression. Selon les études cliniques, les antidépresseurs imipraminiques ont prouvé leur efficacité dans le traitement de la dépression endogène aussi bien que réactionnelle chez 70 à 80% des patients. Il convient de signaler d'ailleurs que la plupart des études modernes ont été réalisées en tenant compte des critères diagnostiques du DSM III voire du DSM III R qui ne font plus appel à la notion de dépression endogène ou réactionnelle. De nombreux essais cliniques ont montré que l'effet placebo, dans la dépression, pouvait être voisin, voire supérieur à 40 %. Une molécule dont il est prouvé qu'elle exerce un effet d'au moins 20% supérieur à celui du placebo est dès lors considérée comme un nouvel antidépresseur, ce qui revient à dire que les antidépresseurs améliorent le tableau clinique initial, *i.e.* les symptômes, d'au moins 60%.

4.1. Classification des antidépresseurs

Nous pouvons dégager trois classifications selon que l'on souhaite regrouper les antidépresseurs selon leur structure chimique, selon leur activité thérapeutique ou selon leur mécanisme d'action central, classification la plus pertinente donc je ne parlerai que de celle-ci.

La classification mécanistique, que nous avons retenue, a l'avantage de regrouper les antidépresseurs en grandes classes selon les mécanismes d'action des molécules. On peut ainsi classer les médicaments antidépresseurs en différentes catégories selon la modulation de la transmission monoaminergique impliquée et leur affinité spécifique pour un des transporteurs de monoamines (Frazer, 2001) (figure 12). Cette classification permet en cas d'échec thérapeutique de changer de famille d'antidépresseurs bien que le mécanisme d'action des molécules ne résume pas leur pouvoir thérapeutique. La première catégorie comprend les antidépresseurs qui augmentent sélectivement la transmission sérotoninergique, on y retrouve tous les inhibiteurs du recaptage sélectifs de la sérotonine (IRSS) (tableau 15). La seconde catégorie regroupe les antidépresseurs qui augmentent sélectivement la transmission noradrénergique, dans laquelle on classe les inhibiteurs sélectifs du recaptage de la noradrénaline (IRN). La troisième regroupe les antidépresseurs d'action mixte qui augmentent simultanément les transmissions sérotoninergique et noradrénergique (IRSN). Du

fait d'un mécanisme d'action différent, les IMAOs qui augmentent eux aussi la transmission monoaminergique, ont été classés dans une catégorie à part entière. Enfin, des molécules comme le bupropion qui inhibe principalement la recapture de la dopamine ou la trazodone (antidépresseur dit « atypique »), ont été regroupées dans une quatrième classe (IRD).

4.2. Mécanismes d'action

Afin de restaurer les concentrations en monoamines dans le SNC, les antidépresseurs utilisent trois principaux mécanismes d'action basés sur l'inhibition de la MAO, l'inhibition de la recapture et enfin le blocage d'un récepteur (Artigas et al., 2002). Après la mise sur le marché des premiers inhibiteurs de la MAO, non sélectifs d'une monoamine, la découverte des deux formes A et B de la monoamine oxydase, différant l'une de l'autre par l'affinité préférentielle de la forme A pour la NA et la 5-HT et de la forme B pour la DA, a conduit à la commercialisation d'IMAOs réversibles et sélectifs de la monoamine oxydase A ou B. L'action de la molécule sur une cible thérapeutique autre que l'enzyme de dégradation, le transporteur monoaminergique, a permis de commercialiser de nouvelles classes innovantes de médicaments antidépresseurs. Ces molécules dont le mécanisme d'action est fondé sur l'inhibition du recaptage des monoamines qu'il s'agisse de la NA, de la 5-HT ou de la DA reste le plus fréquemment retrouvé. On a d'abord proposé l'inhibition de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline "induite" par les imipraminiques. Plus tard, est apparue la notion de sélectivité et des molécules "plus spécifiques", n'agissant que sur la recapture de la noradrénaline, telles que la désipramine ou la maprotiline, ont été identifiées. Puis, la génération des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine a fait son apparition. Il existe enfin des molécules qui agissent essentiellement sur l'inhibition du recaptage de la dopamine, telle que le bupropion, ce dernier étant commercialisé comme antidépresseur seulement aux États-Unis. L'effet thérapeutique des derniers antidépresseurs développés résulte d'une action simultanée sur plusieurs grands systèmes de neurotransmission. Ainsi, sont apparues sur le marché des molécules agissant à la fois sur les voies noradrénergiques et sérotoninergiques en inhibant aussi bien la recapture de la NA et de la 5-HT. Enfin, il existe un mécanisme d'action des antidépresseurs distinct des deux précédents, fondé sur le blocage de certains sous-types de récepteurs sérotoninergiques ou noradrénergiques.

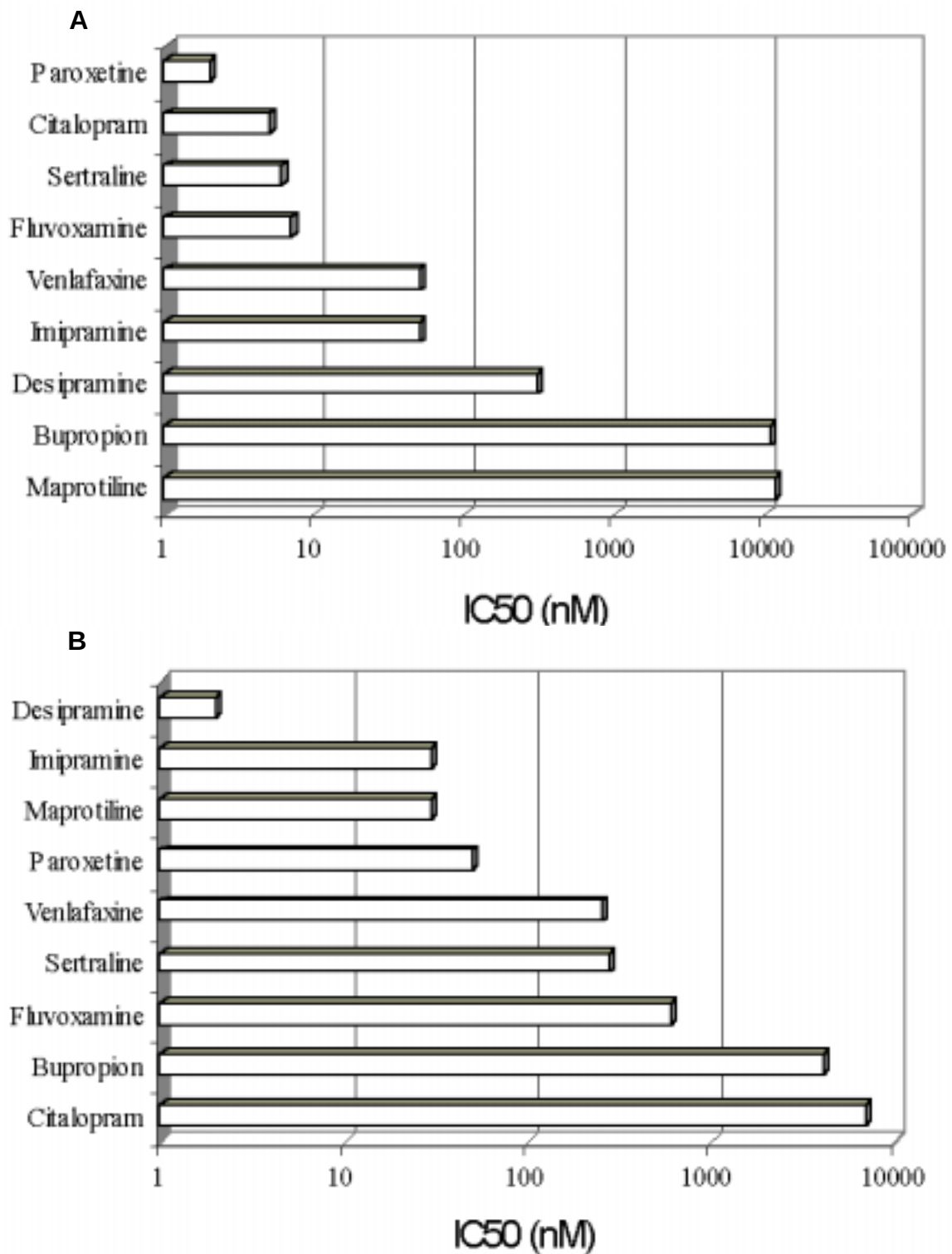
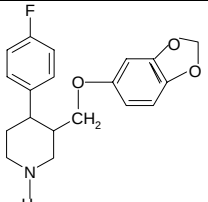
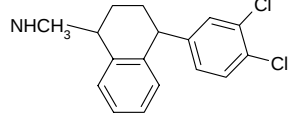
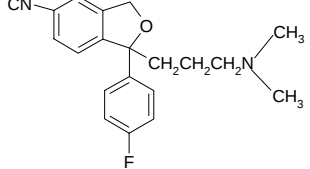
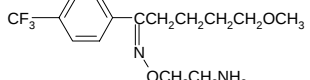
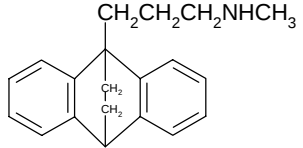
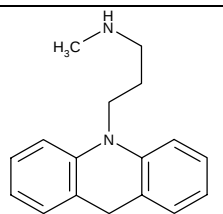
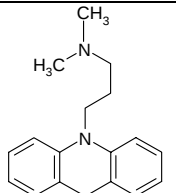
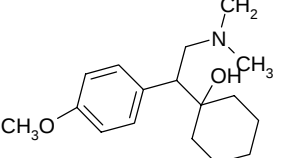
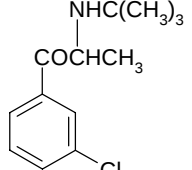


Figure 12 – Puissance d’inhibition du transporteur de la 5-HT (A) ou de la NA (B) par les antidépresseurs utilisés au cours des différents travaux expérimentaux

L’IC₅₀ la plus faible d’un antidépresseur correspond à une puissance plus grande.

D’après Frazer, 2001

Tableau 15 - Classification des antidépresseurs utilisés au cours des études comportementales et neurobiochimiques avec leur formule chimique

	Dénomination commune internationale	Formule	Dénomination chimique
Augmentation sélective de la transmission sérotoninergique	paroxétine		(3S-trans)-3-[(1,3-benzodioxol-5-yloxy) méthyl]-4-(4-fluorophényl)pipéridine)
	sertraline		(+)-cis (1S,4s)-4-(3,4dichlorophényl)-1,2,3,4-tétrahydro-N- méthyl- 1-naphtylamine
	citalopram		1-[3-(diméthylamino)propyl]-1-(p-fluoirophényl)-1, 3-dihydro- isobenzofuran- 5-carbonitrile
	fluvoxamine		(E)-5-méthoxy-4'-(trifluorométhyl)valerophénone 0-(2-amino-éthyl)oxime
Augmentation sélective de la transmission noradrénergique	maprotiline		N-méthyl-9,10-éthanoanthracène-9(10H)-propylamine
	desipramine		5-[3-(méthylamino)propyl]-10.11-dihydro-5H-dibenz[b,f]azépine
Augmentation mixte de la transmission sérotoninergiques et noradrénergique	imipramine		5-[3-(diméthylamino)propyl]-10.11-dihydro-5H-dibenz[b,f]azépine
	venlafaxine		(+/-)-1-[2-(diméthylamino)-1-(p-méthoxyphényl)éthyl]cyclohexan-1-ol
Augmentation de la transmission dopaminergique	bupropion		(+)-2-(tert-butylamino)-3'-chloropropiophénone

4.3. Caractéristiques de la réponse aux antidépresseurs

4.3.1. Caractéristiques de la réponses aux antidépresseurs : faits cliniques

Si les antidépresseurs imipraminiques ont fait la preuve de leur efficacité, deux problèmes majeurs demeurent dans le traitement chimiothérapeutique des maladies dépressives : une importante proportion de patients, 30 %, est non répondeuse au traitement et un trop long délai d'action de près de quatre à six semaines est nécessaire à une amélioration franche de l'humeur. Des progrès notables ont cependant été réalisés depuis les années 80, en particulier ces dix dernières années. En effet, les thérapeutes ont aujourd'hui à leur disposition des molécules antidépressives responsables de l'apparition d'un petit nombre d'effets indésirables sévères. En conséquence, une meilleure compliance des patients ainsi qu'une meilleure efficacité globale des traitements sont observées. Par ailleurs, des relations dose/réponse pour les antidépresseurs commencent à être établies. L'existence de relations effet/dose a longtemps fait défaut en psychiatrie, privant les patients d'importants bénéfices potentiels. Avec les antidépresseurs tricycliques en particulier, une augmentation importante de la dose conduit à une inefficacité clinique chez l'Homme suivant une courbe effet/dose en U. Aujourd'hui, la preuve d'une relation effet/dose a été établie pour deux molécules : la paroxétine et la venlafaxine. De même que la paroxétine (Redrobe et al., 1998a), la venlafaxine est à faible dose, inhibitrice du recaptage de la sérotonine et lors de l'augmentation de la dose, inhibitrice du recaptage de la noradrénaline (Redrobe et al., 1998b et mes résultats de l'article 6). On considère ainsi qu'à partir de 150 mg/j et plus, la venlafaxine inhibe principalement le recaptage de la noradrénaline (Frazer, 2001). De même pour la paroxétine passer de 20 à 40 mg/jour augmente nettement la proportion de patients répondeurs. Cette augmentation de dose est certes limitée par la survenue d'effets indésirables, mais la relation effet/dose permet de proposer au patient une augmentation de posologie et d'éviter des changements de traitements précoces.

Une des hypothèses étiologiques de la dépression est une hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophyso-adrénocorticotrope. Cette hyperactivité serait normalisée après un traitement antidépresseur (Pepin et al., 1992 ; Barden et al., 1995). À la fin des années 70, la diminution du nombre ou de la sensibilité des récepteurs bêta-adrénergiques cérébraux semblait impliquée dans l'activité des antidépresseurs (Sulser et al., 1978). Dans la mesure où l'effet clinique des antidépresseurs apparaissait seulement après 15 jours d'administration, on

a pensé qu'on trouvait là une explication rationnelle à l'activité des antidépresseurs. Cette diminution, survient aussi chez le Rat près de quatre semaines après le début de l'administration du traitement (pour revue Vetulani et Nalepa, 2000). Mais à l'heure actuelle, il existe des antidépresseurs qui n'entraînent pas de diminution du nombre de récepteurs bêta et qui sont cliniquement actifs dans la dépression. C'est le cas notamment des inhibiteurs du recaptage de la sérotonine : une “ down-regulation ” des récepteurs bêta a été observée avec la fluvoxamine, la fluoxétine et la sertraline, mais ni avec la paroxétine, ni avec citalopram, pour lequel un effet opposé est observé (Nalepa et Vetulani, 1993). Ces derniers normalisent toutefois la densité et la fonction des récepteurs 5-HT, exerçant ainsi une action sur la désensibilisation des récepteurs sérotoninergiques.

4.3.2. Rôle des récepteurs 5-HT_{1A} sur l'activité des antidépresseurs

Diverses études comportementales, d'électrophysiologie et de microdialyse *in vivo* ont permis de mettre en évidence le rôle des récepteurs 5-HT_{1A} dans les propriétés pharmacodynamiques des antidépresseurs. Ainsi, les effets de l'administration d'une dose unique d'antidépresseur sur un modèle animal de désespoir (FST) réalisé chez la Souris, suggèrent que l'action des imipraminiques s'effectue *via* les récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques (Redrobe et al., 1996). Des études d'électrophysiologie ont montré qu'un traitement chronique avec un IRSS, induisait une désensibilisation fonctionnelle des autorécepteurs 5-HT_{1A} dans le noyau du raphé dorsal (Szabo et al., 2000). De plus, bien qu'aucune diminution de la quantité des autorécepteurs 5-HT_{1A} dans le noyau du raphé dorsal n'ait été observée au cours d'études de liaison (Le Poul et al., 2000), des études de microdialyse (Bel et Artigas, 1993 ; Gardier et al., 1996) ont montré qu'un traitement chronique avec des IRSSs provoque un hypofonctionnement des autorécepteurs 5-HT_{1A} (désensibilisation fonctionnelle). L'activation des autorécepteurs 5-HT_{1A} par la 5-HT endogène est un frein à la rapidité d'action des antidépresseurs. En effet, au cours des premiers jours de traitement, l'excès de NA et surtout de 5-HT intrasynaptique va activer les autorécepteurs dans la région des noyaux du raphé. Ce phénomène appelé rétrocontrôle négatif va freiner le système de synthèse et de libération des monoamines en retour. Par contre, les récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques ne réagissent pas de la même manière que les autorécepteurs 5-HT_{1A} à un traitement chronique avec des IRSSs. En effet, les récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques, localisés dans l'hippocampe, ne subissent ni désensibilisation, ni

modification de leur densité (Hensler, 2003) (figure 13). Chez des souris dites « résignées », sélectionnées à partir d'une immobilité basale importante dans le TST, un traitement chronique par de la fluoxétine pendant 21 jours diminue le temps d'immobilité. Cet effet « antidépresseur-like » est à relier à la baisse de l'expression du récepteur 5-HT_{1A} particulièrement dans les aires limbiques (Naudon et al., 2002).

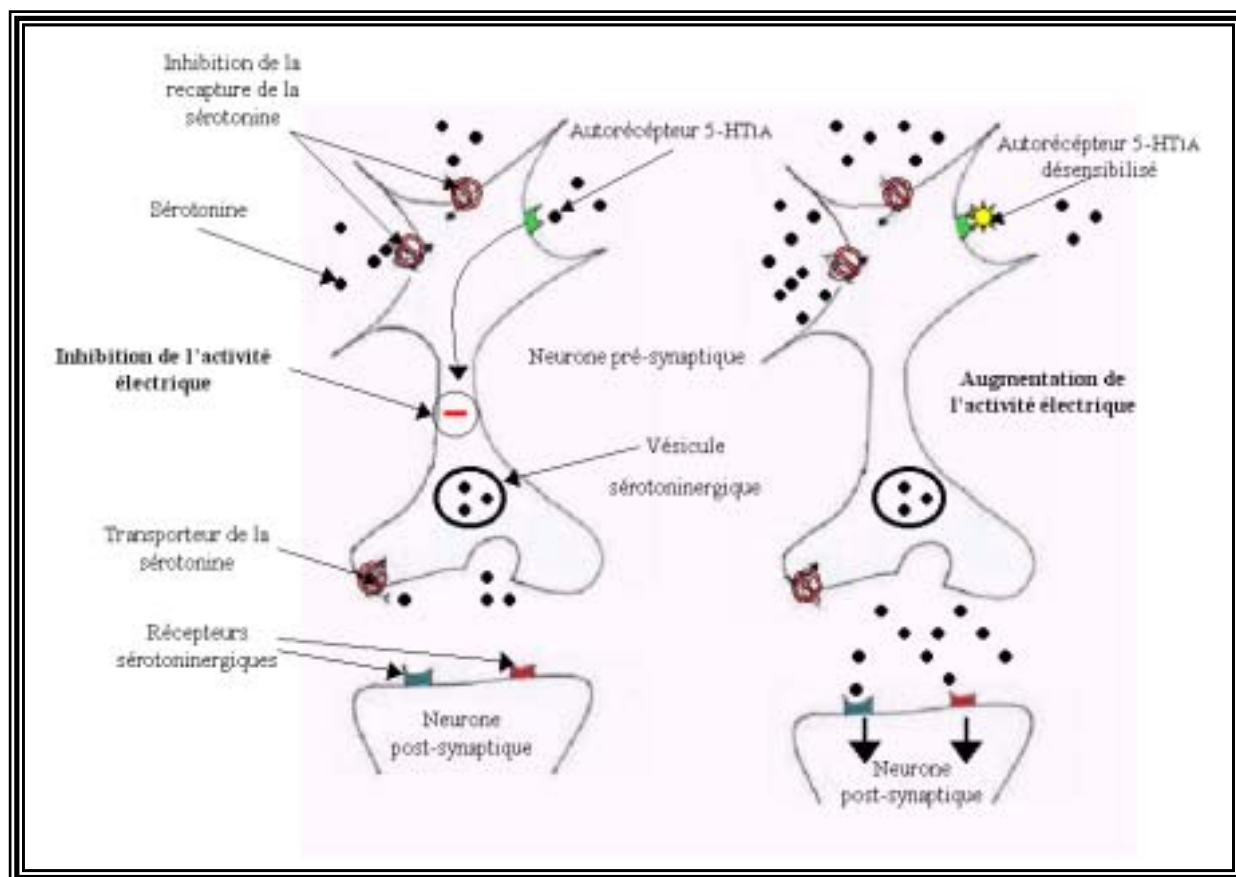


Figure 13 - Les deux phases d'un traitement par un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine

Pendant la première période du traitement, l'IRSS, en inhibant le transporteur de la 5-HT, augmente les concentrations extracellulaires de sérotonine principalement autour des corps cellulaires des neurones 5-HT dans la région du noyau du raphé dorsal et médian, stimulant de ce fait l'autorécepteur 5-HT_{1A} grâce à la 5-HT endogène. La décharge neuronale est alors inhibée et les terminaisons neuronales libèrent moins de sérotonine dans la fente synaptique. Après 3 à 4 semaines de traitement, les autorécepteurs trop stimulés, finissent par être désensibilisés et donc la décharge neuronale est réémise par le neurone sérotoninergique. Il y a une augmentation de sérotonine par les terminaisons axonales.

4.3.3. Rôle des récepteurs 5-HT_{1B} sur l'activité des antidépresseurs

Des études pré-cliniques ont montré que les inhibiteurs du recaptage de la sérotonine semblent agir indirectement sur les récepteurs 5-HT_{1B} (Redrobe et al., 1996). Cette notion peut être associée au fait que, chez les souris âgées, les inhibiteurs du recaptage de la sérotonine perdraient de leur activité (Bourin et al., 1998), car on sait que chez ces animaux l'âge entraîne une diminution de ce sous-type de récepteurs (Gozlan et al., 1990). Or des études de comportement (test de la nage forcée) et de microdialyse effectuées chez la Souris ont permis de mettre en évidence que selon la structure cérébrale, les IRSSs (paroxétine et fluoxétine) en augmentant les concentrations extracellulaires de 5-HT, activent soit l'autorécepteur 5-HT_{1B} (au niveau des terminaisons neuronales sérotoninergiques situées dans l'hippocampe, mais pas celles situées dans le cortex frontal), soit le récepteur 5-HT_{1B} postsynaptique (Malagié et al., 2001). Ainsi, l'activation des autorécepteurs 5-HT_{1B} semble limiter les effets des IRSSs, contrairement aux récepteurs 5-HT_{1B} postsynaptiques qui seraient nécessaires pour que l'activité antidépressive des inhibiteurs sélectifs du recaptage de la sérotonine apparaisse. Dans un modèle animal de dépression, le test de résignation acquise, il a été démontré une augmentation de la densité des récepteurs 5-HT_{1B} dans le cortex, l'hippocampe et le septum (Edward et al., 1991). Ces résultats obtenus par une étude de liaison, ont été confirmés par une étude de microdialyse *in vivo* effectuée chez dans le cortex de rats « résignés » où il a été démontré une diminution de la libération de 5-HT (Petty et al., 1992). Il apparaîtrait aussi qu'un traitement au long terme par un antidépresseur tricyclique ou par un IRSS provoquerait chez le Rat, en bloquant la recapture du neurotransmetteur, une désensibilisation des autorécepteurs terminaux 5-HT_{1B} (Briley et al., 1997). L'utilisation d'un antagoniste de ces récepteurs permettrait une efficacité plus rapide des antidépresseurs (Briley et Moret, 1993).

4.3.4. Rôle des autres sous-types de récepteurs sérotoninergiques sur l'activité des antidépresseurs

De nombreux antidépresseurs, de différentes classes chimiques, ne possèdent qu'une affinité modérée pour les récepteurs de type 5-HT₂. Il n'existerait donc pas de corrélation forte entre l'affinité pour ces récepteurs et l'activité antidépressive. Cependant, la forte

densité de récepteurs 5-HT_{2C} dans les régions corticales et limbiques suggère leur rôle dans les troubles anxieux et/ou dépressifs. Plusieurs études de liaison ou de reconnaissance utilisant des anticorps spécifiques dirigés contre les récepteurs 5-HT_{2C} se sont focalisées sur la localisation précise de ce récepteur dans le cerveau (Mengod et al., 1990). Si l'on observe les modifications de densité des récepteurs 5-HT₂ dans le plexus choroïde chez le Rat après une administration répétée d'antidépresseurs (fluoxétine ou citalopram), il est évident que le nombre de récepteurs augmente (Laasko et al., 1996). D'autres résultats renforcent également l'hypothèse selon laquelle la dysrégulation de la fonction des récepteurs 5-HT_{2C} joue un rôle important dans la pathogénie des troubles anxieux et dépressifs (Moreau et al., 1993). En effet, les mécanismes médiés par les récepteurs 5-HT_{2C} sont hypersensibilisés dans la dépression et c'est la normalisation de cette fonction qui pourrait contribuer à l'effet antidépresseur.

4.4. Action des antidépresseurs sur les seconds messagers et sur les gènes

L'augmentation de la neurogénèse hippocampique par un traitement chronique avec un antidépresseur (Malberg et al., 2000) suggère que ces traitements régulent l'expression de certains gènes. Les antidépresseurs n'agissent pas seulement en inhibant le recaptage des monoamines, mais influent aussi indirectement sur les récepteurs de neurotransmetteurs. La stimulation de ces récepteurs entraînerait l'activation de facteurs de transcription présents à l'intérieur du noyau de la cellule *via* les protéines G. L'activation des facteurs de transcription diminue la synthèse des récepteurs : c'est la "down regulation". Ces activations successives stimulent la libération de facteurs trophiques d'origine neuronale comme le BDNF. Cette stimulation rend-elle compte pour autant de l'augmentation de la taille de l'hippocampe évoquée plus haut, conséquence de l'action des antidépresseurs ? Ceci est à relier à l'importante notion que les antidépresseurs n'agiraient pas seulement sur les neuromédiateurs mais également sur les facteurs de croissance neuronaux (Duman et al., 1997 ; 2001). Nibuya et al., (1996) ont montré, chez le Rat, qu'une administration chronique d'antidépresseurs (désipramine, imipramine, fluoxétine, sertraline), augmente la concentration de BDNF et l'expression de l'ARNm du récepteur trkB correspondant dans l'hippocampe. De récentes données *in vivo*, ont établi qu'un traitement au long cours par antidépresseurs menait à une

activation soutenue du « cAMP response element binding protein » (CREB) (Duman et al., 1997) et qu'une augmentation de l'expression de CREB est notamment observée dans l'hippocampe. Ces résultats indiqueraient que l'administration d'un antidépresseur, en augmentant la synthèse de CREB, régulerait certains gènes comme celui codant pour le BDNF et son récepteur trkB. Récemment, d'autres études pré-cliniques ont confirmé cette hypothèse. Ainsi, Martin et al., (2000) ont montré dans l'hippocampe que la quantité d'ARNm de BDNF était augmentée après un traitement chronique par un antidépresseur. Les études animales ont montré que les antidépresseurs imipraminiques et leurs dérivés pouvaient se comporter comme des composés qui interagissent avec les protéines G (Moor et al., 1987). Ainsi, il est plausible de faire l'hypothèse que, à l'origine des épisodes dépressifs majeurs, il y ait un défaut de la super famille des protéines G couplées à un récepteur. Ce trouble, pourrait s'exprimer au niveau d'un récepteur ou alternativement de protéines G conduisant ainsi à un couplage défectueux entre ce récepteur et cette protéine G et entraînant des mécanismes de transduction anormaux. Cette hypothèse est à étudier, notamment parce que les récepteurs 5-HT_{1A} ne réagissent pas de la même manière à un traitement chronique par un antidépresseur selon leur localisation. En effet, les récepteurs 5-HT_{1A} présynaptiques sont désensibilisés après un traitement chronique par un antidépresseur, tandis que les récepteurs 5-HT_{1A} postsynaptiques ne le sont pas (Hensler, 2003). Le récepteur, quelle que soit sa localisation, est pourtant codé par un seul et même gène. Par conséquent, les différences de réponse aux antidépresseurs, ne seraient pas dues à la protéine réceptrice elle-même. Il est possible que le récepteur 5-HT_{1A} présynaptique soit couplé à une protéine G différente (Gi, Go) de celle à laquelle est couplé le récepteur 5-HT_{1A} postsynaptique (Hensler, 2003). Ceci suggère que la nature de la protéine G couplée au récepteur 5-HT_{1A} puisse être différente d'une région cérébrale (noyau du raphé dorsal) à une autre (cortex frontal, hippocampe ventral). L'administration d'un antidépresseur influence également l'expression génique de l'axe hypothalamo-hypophyso-adrénocorticotrope. Il a été démontré qu'un traitement par des antidépresseurs tricycliques diminue l'expression de l'ARNm de CRH (corticotropin-releasing hormone) dans le noyau paraventriculaire (Brady et al., 1991) et augmente le nombre de récepteurs aux minéralocorticoïdes dans l'hippocampe ainsi que l'expression d'ARNm codant pour les récepteurs aux glucocorticoïdes de type II (GR II) (Peiffer et al., 1991 ; Rossby et al., 1995). Cependant, il apparaît que les IRSSs, comme la fluoxétine, ne provoquent pas les mêmes effets que la désipramine (Rossby et al., 1995).

5. Les modèles comportementaux animaux de la dépression

En psychopharmacologie, les tests comportementaux sont la « colonne vertébrale » de la recherche pré-clinique en psychiatrie et permettent la sélection de molécules candidates issues de la biologie moléculaire, mais sont aussi à la base de la détermination de leur mécanisme d'action. Un modèle animal est une situation expérimentale dans laquelle un système simple représente un autre système complexe moins immédiatement accessible à la connaissance, impliquant de ce fait un compromis réductionniste. Le modèle animal idéal devrait non seulement reproduire tous les symptômes de la pathologie mais aussi être prédictif de l'activité antidépressive de nouveaux composés. Les modèles animaux de psychopharmacologie doivent obéir si possible à trois critères de validité : un critère de validité créative (est-ce que les comportements induits ont des similarités avec la pathologie humaine ?), une validité théorique (est-ce que le modèle animal permet d'identifier les mécanismes neurochimiques sous-jacents ?) et enfin une validité prédictive (est-ce que le modèle animal permet d'identifier correctement les antidépresseurs de différentes classes pharmacologiques, sans faux-positifs, ni faux-négatifs ?) (Willner, 1984). Ainsi, aucun test, quel qu'il soit ne peut examiner tous les symptômes des épisodes dépressifs majeurs chez l'Homme (Thiébot et al., 1992), mais n'explore qu'un symptôme d'un syndrome complexe. Ces modèles sont difficilement à la fois prédictifs et explicatifs. Cependant, certains comportements animaux et humains partagent des bases phylogénétiques et peuvent donc permettre de mieux comprendre la pathologie.

Les psychopharmacologues ont tout d'abord développé rétrospectivement (après avoir démontré cliniquement l'action antidépressive de médicaments) des modèles animaux d'interactions médicamenteuses (Bourin et al., 1990). Ces modèles animaux sont surtout basés sur la théorie monoaminergique de la dépression.

5.1. Modèles de comportements induits

Parmi les modèles de comportements induits par des substances pharmacologiques, l'antagonisme des effets réserpiniques fut l'un des tous premiers (Costa et al., 1960). Cette méthode fut basée sur le fait que la réserpine (2,5 mg/kg, i.p.) est capable d'induire une dépression chez l'Homme (Goodwin et al., 1972). La réserpine déplete les stocks de 5-HT, NA et DA en bloquant la capture des différents neurotransmetteurs dans les vésicules

synaptiques. La réserpine induit une hypothermie (activité bêta-adrénergique), un ptosis (activité alpha-adrénergique et sérotoninergique) et une réduction de l'activité motrice (akinésie, action dopaminergique). Les molécules administrées en dose unique, capables d'antagoniser l'hypothermie (Bourin et al., 1983), le ptosis (Rubin et al., 1957) et l'activité motrice (Vernier et al., 1962) seraient des antidépresseurs. Cependant, l'absence de spécificité du test (Katz et al., 1981) et de surcroît la présence de faux positifs (Willner et al., 1984) font qu'il est abandonné.

D'autres modèles d'interactions pharmacologiques comme l'antagonisme des effets induits par l'oxotrémorine (0,5 mg/kg) (Frances et al., 1981), l'antagonisme de fortes doses d'apomorphine (Puech et al., 1981) ou le test à la yohimbine (Quiton et al., 1963) ont été proposés et développés. L'oxotrémorine est un agoniste des récepteurs cholinergiques muscariniques qui induit une hypothermie, des tremblements ainsi que des signes périphériques comme la constipation ou la sécheresse buccale. Des molécules comme l'imipramine capables d'antagoniser les effets de l'oxotrémorine montrent qu'elles ont des propriétés anticholinergiques.

Une forte dose d'apomorphine (16 mg/kg par voie sous-cutanée) provoque des stéréotypies de redressements, de la sphère buccale ainsi qu'une hypothermie. Des molécules capables d'antagoniser l'hypothermie induite par l'apomorphine indiquent qu'elles ont une activité antidépressive.

Enfin, les molécules capables de potentialiser les effets d'une dose subactive de yohimbine (25 mg/kg, s.c., mesure du nombre de décès chez le groupe traité) sont suspectées de développer une activité alpha2-adrénolytique que l'on retrouve chez certains antidépresseurs.

À partir du milieu des années 1970, les modèles animaux comportementaux remplacèrent les modèles d'interactions pharmacologiques. Les différents modèles proposés et les plus souvent utilisés, peuvent être regroupés en deux grandes classes ; ceux fondés sur un stress et ceux fondés sur une lésion.

5.2. Modèle animal fondé sur un déficit neuronal

Le modèle animal basé sur un déficit neuronal induit est l'ablation des bulbes olfactifs (BO) chez le Rat (Cairncross et al., 1977a ; 1977b). Ce modèle est construit sur l'hypothèse selon laquelle la dépression est un trouble biochimique développé par des individus

prédisposés à un déficit neuronal. Les dommages cérébraux induits par l'ablation bilatérale des deux bulbes olfactifs, provoquent des changements comme l'irritabilité, l'hyperactivité et une élévation des concentrations de corticostéroïdes plasmatiques.

Tableau 16 - Effets de différents antidépresseurs dans le modèle d'ablation des bulbes olfactifs chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
ADTs	imipramine	+	Grecksch et al, 1997
	amitriptyline	+	Kelly et al, 1997
	clomipramine	+	Kelly et al, 1997
IRSSs	paroxétine	+	Kelly et al, 1997
	sertraline	+	Kelly et al, 1997
	fluoxétine	+	Lloyd et al, 1982
	fluvoxamine	+	Kelly et al, 1997
	lofèpramine	0	O'Connor and Leonard, 1988
	YM992 (aussi 5-HT _{2A} -)	+	Takeuchi et al, 1997
Antidépresseurs atypiques	miansérine	+	Butler et al, 1988
	trazodone	+	Jesberger and Richardson, 1985
IRSNs	venlafaxine	+	McGrath and Normal, 1998
	milnacipran	+	Redmond et al, 1999
IRN	désipramine	+	Kelly et al, 1997
IMAOs	moclobémide	+	Earley and Leonard, 1985
	pargyline	0	O'Connor et al, 1985
Molécule déplétant les stocks de catécholamines	réserpine	0	Butler et al, 1988

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet

Tableau 17 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le modèle d'ablation des bulbes olfactifs chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Neuroleptiques	chlorpromazine sulpiride	0 0	Butler et al., 1988 Butler et al., 1988
Anxiolytiques	diazépam alprazolam adinazolam chlordiazépoxyde	0 0 0 +	Earley et Leonard, 1985 Earley et Leonard, 1985 Earley et Leonard, 1985
Anticonvulsivants	phénobarbital progabide	0 +	O'Connor et Leonard, 1987 O'Connor et Leonard, 1987
Thymorégulateur	lithium	+	Song et al., 1994
Ginkgo biloba	EGB 761	+	Didier et Jourdan, 2002

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet

Tableau 18 - Effets de différentes molécules dans le modèle d'ablation des bulbes olfactifs chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Ligands sérotoninergiques 5-HT _{1A} +	zalospirone 8-OHDPAT ipsapirone	+	Kelly et al., 1997 McNamara, 1995 Kelly et al., 1997
5-HT ₁ + / 5-HT _{2A} -	BIMT 17	+	Borsini et al., 1997
5-HT ₃ +	quipazine	0	Lloyd et al., 1982
5-HT- (non spécifique)	méthysergide	0	Jancsar et Leonard, 1983
Ligands adrénergiques agonistes α_2 antagonistes α_2	clonidine yohimbine atipamézole	+	Butler et al., 1988 Butler et al., 1988 Kelly et al., 1997
agoniste β	salbutamol	+	Jesberger et Richardson, 1986a,b
Ligand DA	d-amphétamine	+	O'Connor et Leonard, 1987
Inhibiteur de la cholinestérase	physostigmine	+	Hozumi et al., 2002
Ligand anticholinergique	atropine	+	O'Connor et al., 1985
Ligands GABAergiques GABA _A (+) GABA _B (-)	GABA THIP baclofène	+	Butler et al., 1988 Jancsar et Leonard, 1983 Earley et Leonard, 1985
Inhibiteur de la GABA transaminase	Gamma-vinyle-GABA	+	Earley et Leonard, 1985
Antagoniste NMDA	MK-801	+	Kelly et al., 1997
Antagoniste mGlu5	MPEP	+	Wieronska et al., 2002

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet, faux + : faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

Les rats bulbectomisés montrent des comportements émotionnels anormaux, appelés « syndrome bulbectomique », dus à des perturbations de la régulation homéostatique du système limbique (Jesberger et Richardson, 1985). Lorsqu'ils sont soumis à un environnement stressant comme le test de l'« open field », l'hyperactivité des rats bulbectomisés, la diminution de la prise alimentaire, l'altération du comportement agressif (Leonard, 1990) ou le déficit dans des tâches d'évitement passif sont corrigés après un traitement chronique par des antidépresseurs (tableau 16), mais pas *a priori* par d'autres psychotropes (tableau 17). Différents ligands des récepteurs sérotoninergiques ou adrénergiques ont été étudiés dans ce modèle et présentent une certaine activité. L'activité des ligands 5-HT_{1A} serait postsynaptique (tableau 18). Ces rats présentent par ailleurs de nombreux dérèglements physiologiques, dont certains sont réminiscent des symptômes de la maladie dépressive, comme des altérations du comportement sexuel, des changements immunitaires et des perturbations de la fonction cardiaque (Kelly et al., 1997).

5.3. Modèles animaux fondés sur le stress

Des conditions stressantes augmenteraient la vulnérabilité aux épisodes dépressifs chez l'Homme et seraient un des facteurs étiologiques de la dépression. Aussi, des modèles animaux basés sur l'hypothèse que la dépression est causée par un stress non contrôlé par l'animal, ont été proposés. Il s'agit du test de la nage forcée (FST ; Porsolt et al., 1977), du test de suspension caudale (TST ; Stéru et al., 1987), du stress modéré chronique (Willner et al., 1992) et du test de résignation acquise (Seligman, 1975).

5.3.1. Le test de la nage forcée

La théorie qui sous-tend ce modèle dérive de sa relation supposée avec un comportement de résignation. Ce modèle animal existe chez la Souris et chez le Rat et il existe des différences de procédure selon l'espèce animale utilisée. Le FST nécessite d'être accompagné d'un test d'activité locomotrice (Boissier et Simon, 1965) afin d'éliminer les doses qui entraînent une hyperlocomotion et pourraient provoquer l'apparition de faux positifs.

Le FST chez la Souris, est un modèle comportemental qui permet de prédire l'efficacité d'un traitement antidépresseur (Porsolt et coll., 1977). Ce test permet de discriminer les

antidépresseurs des autres psychotropes car aucun effet n'est observé lors de l'administration d'autres psychotropes (tableaux 19 et 20). Le test consiste à placer individuellement des souris dans des bocaux de verre (hauteur = 25 cm, diamètre = 10 cm) contenant 10 cm d'eau maintenue entre 23°C et 25°C et à les y laisser pendant six minutes. Le test en lui-même dure 6 minutes. Après une phase d'activité vigoureuse de deux minutes (temps d'adaptation), l'animal contrôle cesse de nager et se fige adoptant un comportement de désespoir. On considère que la souris est immobile lorsqu'elle flotte en position horizontale et ne réalise que des mouvements de faible amplitude, suffisant à maintenir sa tête hors de l'eau. Les antidépresseurs administrés en une seule dose, 30 min avant le test, diminuent la durée du temps d'immobilité, qui est comptabilisée pendant les quatre dernières minutes du test (figure 14). Pour affiner le mécanisme d'action des antidépresseurs, de nombreux ligands ont été testés (tableau 21). Il ressort de ce tableau que les agonistes des récepteurs 5-HT_{1B} semblent jouer un rôle très important dans le FST chez la souris. D'ailleurs, de précédentes études réalisées dans ce test chez la Souris ont mis en évidence le rôle important des récepteurs 5-HT_{1B} dans le mécanisme d'action des antidépresseurs (Redrobe et al., 1996 ; Redrobe et Bourin, 1999).

La procédure du FST chez le Rat diffère de celle réalisée chez la Souris. Le FST chez le Rat se déroule en deux phases, le pré-test et le test, séparés par un intervalle de 24 heures au cours duquel le médicament est administré. Lors du pré-test, le rat est placé (pendant 15 minutes) dans un cylindre rempli d'eau dont il ne peut s'échapper. À la fin de la session, l'animal est immobile. Le jour suivant, l'animal est replongé dans le cylindre pendant 5 minutes, période pendant laquelle le temps d'immobilité est enregistré. Un traitement antidépresseur efficace diminue le temps d'immobilité seulement lors du jour du test (Porsolt et al., 1978 ; 1979). Cependant chez le Rat, la sensibilité du FST aux IRSSs ne semble pas être reproductible. Aussi, les effets de différents types d'antidépresseurs ont ils été réévalués dans le FST avec une révision des procédures expérimentales : certaines modifications, non validées, proposaient l'inclusion d'une voie d'échappement (Cools, 1980 ; Thornton et al., 1985) voire une automatisation du test avec l'utilisation d'une roue à eau (Shimizu et al., 1984). Récemment, une amélioration du test, cette fois-ci validée, propose chez le Rat non seulement d'évaluer l'immobilité posturale, mais aussi les deux comportements actifs impliqués directement dans la diminution de cette immobilité, la nage et l'escalade (Detke et al., 1995). Au moyen de ces nouvelles procédures, on a montré que les inhibiteurs de recapture de la noradrénaline réduisent l'immobilité et augmentent l'escalade, sans modifier la nage (figure 15). Les IRSSs réduisent également l'immobilité mais augmentent sélectivement la nage sans

modifier les tentatives d'escalade (tableau 22). Les psychotropes non antidépresseurs étudiés avec ce test ne développent pas d'effets (tableau 23). Les effets observés en présence de ligands spécifiques des récepteurs de neurotransmetteurs sont listés dans le tableau 24. Les ligands sérotoninergiques ont une activité beaucoup moins évidente dans le FST chez le Rat. Seuls les agonistes des récepteurs 5-HT_{1A} réduisent le temps d'immobilité.



Figure 14 – Photos de test de la nage forcée chez la Souris

Un antidépresseur augmente le temps de nage de la souris (photo de droite) tandis qu'une administration de NaCl 0,9% provoque une quasi immobilité de l'animal (photo de gauche).



Figure 15 – Schémas du test de la nage forcée chez le Rat

Un antidépresseur diminue le temps d'immobilité (schéma de gauche). Les inhibiteurs de recapture de la noradrénaline augmentent le comportement d'escalade (schéma du centre) tandis que les antidépresseurs à composante sérotoninergique prédominante augmentent le temps de nage (schéma de droite).

D'après Pour la Science n°259 © Pour la Science, décembre 2002

Tableau 19 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de la nage forcée chez la Souris

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
ADTs	imipramine	+	Porsolt et al., 1977
	amitriptyline	+	Szymczyk et Zebrowska-Zupina, 2000
	maprotiline	+	Redrobe et al., 1996
	nortriptyline	+	Borsini et Meli, 1988
	clomipramine	+	Eschaliér et al., 1987
IRSSs	paroxétine	+	David et al., 2001b
	sertraline	+	Renard et al., 2001
	fluoxétine	+	Redrobe et al., 1996
	fluvoxamine	+	David et al., 2001a
	citalopram	+	Malinge et al., 1988
	indalpine	+	Da-Rocha et al., 1997
	zimélidine	+	Borsini, 1995
Antidépresseurs atypiques	miansérine	+	Szymczyk et Zebrowska-Zupina, 2000
	trazodone	+	Borsini et Meli, 1988
	béfloxatone	+	Caille et al., 1996
	dothiépine	+	Bourin et al., 1996
IRSNs	venlafaxine	+	David et al., 2001a
	réboxétine	+	Wong et al., 2000
	viloxazine	+	Bourin et al., 1996
IRNs	désipramine	+	Redrobe et al., 1996
IRD	bupropion	+	Bourin et al., 1998
IMAO	pargyline	+	Borsini et Meli, 1988
	T-794	+	Kato et al., 1998
	clorgyline	+	Porsolt et al., 1977
	tranylcypromine	+	Porsolt et al., 1977

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet

Tableau 20 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de la nage forcée chez la Souris

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Anxiolytiques	diazépam	0	Biala, 1998
	alprazolam	0	Borsini et Meli, 1988
Antiépileptiques	phénytoïne	0	Szymczyk et Zebrowska-
	valproate	0	Zupina, 2000
	carbamazépine	0	Szymczyk et Zebrowska-
	vigabatrin	0	Zupina, 2000
	lamotrigine	0	
Neuroleptiques	halopéridol	0	Biala, 1998
Antiparkinsoniens	amantadine	+	Vamvakides, 2000
	3-cyclopentyladaman- tanamine	+	Vamvakides, 2000
Psychostimulants	caféine	faux +	Schechter et Chance, 1979
	amphétamine	faux +	Porsolt et al., 1977
Thymorégulateurs	lithium	+	Nixon et al., 1994
Opiacés		faux +	Willner, 1984
Glycolipides	GalNAc alpha 1- 3GalNAc-lipide	+	Masuda et al., 2000
CREB	HSV-CREB	+	Chen et al., 2001
Antagoniste du récepteur à la mélanocortine	MCL0129	+	Chaki et al., 2003
Métabolite endogène de polyamine	agmatine	+	Zomkowski et al., 2002
ECT	Chocs électroconvulsifs	+	Porsolt et al., 1977

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet, faux + : faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

Tableau 21 - Effets de différentes molécules dans le test de la nage forcée chez la Souris

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Ligands sérotoninergiques			
5-HT1A-	NAN190	+	Redrobe et al., 1996
	pindolol	0	Borsini, 1995
	WAY 100635	0	O'Neill et Conway, 2001a
5-HT1A+	8-OHDPAT	+	O'Neill et Conway, 2001a
	ipsapirone	0	Borsini, 1995
	gépironne	0 ; +	Borsini, 1995 ; Wieland et Lucki, 1990
	buspirone	0 ; +	Biala, 1998 ; Wieland et Lucki, 1990
	1PP	0	Borsini, 1995
5-HT1B/D+	anpirtoline	+	O'Neill et Conway, 2001a
	RU24969	+	Redrobe et al., 1996
5-HT1B-	GR127935	0	Borsini, 1995
	isamoltane	0	O'Neill et Conway, 2001a
5-HT1B/C+	mCPP (at 60min)	+	Borsini, 1995
5-HT1+	TFMPP (at 30min)	+	Borsini, 1995
	TFMPP (at 60min)	0	Borsini, 1995
5-HT2-	LY 53857	0	Yamada et Sugimoto, 2002
5-HT2A/C+	DOI	0	Redrobe et Bourin, 1997
5-HT2A/2C-	ritansérine	0	Redrobe et Bourin, 1997
	mésulergine	0	Redrobe et Bourin, 1997
5-HT2A-	kétansérine	0	Redrobe et Bourin, 1997
	spiroxatrine	0	Borsini, 1995
5-HT2B	SB 206553	0	Yamada et Sugimoto, 2001
5-HT2C-	cyprohéptadine	0	Borsini, 1995
		+	Luttinger et al., 1984
5-HT3	ondansétron	0	Borsini, 1995
5-HT4	DAU 6285	0	Borsini, 1995
	tryptophan (jusqu'à 125mg/kg)	+	Wong et Ong, 2001
	tryptophan (250 mg/kg)	0	Wong et Ong, 2001
	tryptophan	+	Borsini, 1995
	métiteptine	0	Borsini, 1995
Ligands dopaminergiques (DA+)	dexamphétamine	faux +	Vaugeois et al., 1996a
	GBR12783	+	Vaugeois et al., 1996a
(DA-)	SCH23390	0	Vaugeois et al., 1996a

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet, faux + : faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

suite tableau 21

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Ligands adrénérgiques	clonidine	+	O'Neill et al., 2001b
	p-synéprine (faible dose)	+	Song et al., 1996
	p-synéprine (forte dose)	0	Song et al., 1996
	propranolol	0	Borsini, 1995
Ligand anticholinergique	atropine	faux +	Brown, 1979
Antagoniste NMDA	éliprodil (SL-82.075)	+	Layer et al., 1995
	zinc (forte dose)	+	Krocicka et al., 2000
Modulateurs des canaux voltage-dépendants de type L	nifédipine	+	Biala, 1998
	vérapamil	0	Cohen et al., 1997
	diltiazem	0	Cohen et al., 1997
	flunarizine	0	Cohen et al., 1997
Ligands histaminérgiques	thiopéramide	+	Lamberti et al., 1998
	L-histidine	+	Lamberti et al., 1998
	2-(3-trifluorométhyl-phényl)histamine	+	Lamberti et al., 1998
	2-thiazolyéthylamine	+	Lamberti et al., 1998
	métoprine	+	Lamberti et al., 1998
	chlorphéniramine	faux +	Wallach et Hedley, 1979
	prométhazine	faux +	Wallach et Hedley, 1979
Substrat de l'oxyde nitrique	L-arginine	+	Da Silva et al., 2000
	N(G)-nitro-L-arginine (faible dose)	+	Harkin et al., 1999
	L-arginine (forte dose)	0	Harkin et al., 1999
	N(G)-nitro-L-arginine (forte dose)	0	Harkin et al., 1999
	N(G)-nitro-D-arginine,	+	Harkin et al., 1999
	N(G)-nitro-L-arginine méthyl ester	+	Harkin et al., 1999
	N(G)-monométhyl-L-arginine	+	Harkin et al., 1999
	7-nitroindazole	+	Volke et al., 2003
	1-(2-trifluorométhyl-phenyl)imidazole	+	Volke et al., 2003
Ligands imidazoliques	BU224	0	O'Neil et al., 2001b
	BU239	0	O'Neil et al., 2001b
	BU8082	0	O'Neil et al., 2001b
Agoniste muscarinique	AE14	+	Vamvakides et al., 2002
2 nd messagers	inositol	+	Einat et al., 2001

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet, faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

Tableau 22 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de la nage forcée chez le Rat

Classe Pharmacologique	Molécules	Effets			Références
		Réduction de l'immobilité	Augmentation du temps de nage	Augmentation de l'escalade	
ADTs	imipramine	+	0	0	Dougherty et al., 1995
	amitriptyline	+	0	0	Kawashima et al., 1986
	maprotiline	+	0	+	Rénéric et Lucki, 1998
	nortriptyline	+	0	0	Porsolt et al., 1979
	chlorimipramine	0	0	0	Kawashima et al., 1986
	duloxétine	+	0	+	Rénéric et Lucki, 1998
IRSSs	paroxétine	+	+	0	Detke et al., 1995
	sertraline	+	+	0	Detke et al., 1995
	fluoxétine	+	+	0	Detke et al., 1997
Antidépresseurs atypiques	trazodone	0	0	0	Rénéric et Lucki, 1998
	WF-11	+	+	+	Rénéric et Lucki, 1998
	mirtazapine	+	0	+	Hemby et al., 1997
IRSNs	venlafaxine	+	+	+ (forte dose)	Rénéric et Lucki, 1998
	duloxétine	+	0	0	Rénéric et Lucki, 1998
	milnacipran	+	0	+	Rénéric et Lucki, 1998
IRN	désipramine	+	0	+	Rénéric et Lucki, 1998
IRD	bupropion	+	0	+	Rénéric et Lucki, 1998
	GBR12909	+	0	+	Hemby et al., 1997
IMAO	befloxatone	+			Caille et al., 1996
	moclobémide	+			Caille et al., 1996

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet, faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

Tableau 23 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de la nage forcée chez le Rat

Classe Pharmacologique	Molécules	Effets			Références
		Réduction de l'immobilité	Augmentation du temps de nage	Augmentation de l'escalade	
Neuroleptiques	chlorpromazine	0	0	0	Kawashima et al., 1986
	halopéridol	0	0	0	Kawashima et al., 1986
	sulpiride	+	0	0	Kawashima et al., 1986
Anxiolytiques	diazépam	0	0	0	Kawashima et al., 1986
Antibiotiques	lévofloxacine	0	0	0	Erden et al., 2001
Anticonvulsivants	oxcarbamazépine	+	non testé	non testé	Joca et al., 2000
Psychostimulant	caféine	faux +	non testé	non testé	Kitada et al., 1981
	methamphétamine	faux +	non testé	non testé	Kitada et al., 1981
ECT	Chocs électroconvulsifs	+	non testé	non testé	Zyss et al., 1997
SMT	Stimulation magnétique transcraniale	+	non testé	non testé	Zyss et al., 1999

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet, faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

Tableau 24 - Effets de différentes molécules dans le test de la nage forcée chez le Rat

Classe Pharmacologique	Molécules	Effets			Références
		Réduction de l' immobilité	Augmentation du temps de nage	Augmentation de l'escalade	
Ligands sérotoninergiques					
5-HT1A-	NAN190	0	0	0	Detke et Lucki, 1995
	WAY100635	0	0	0	Detke et Lucki, 1995
	pindolol	0	+	0	Rénéric et al., 2000
5-HT1A+	8-OHDPAT	0, +	0, +	0, 0	Rénéric et al., 2001, Wieland et Lucki, 1990
	gépironne	+	+	0	Wieland et Lucki, 1990
	ipsapirone	+	0	0	Wieland et Lucki, 1990
	bupirone	+	0	0	Wieland et Lucki, 1990
5-HT1B+	CGS12066	+	+	0	Detke et Lucki, 1995
5-HT1B/C+	mCPP	0	0	0	Wieland et Lucki, 1990
5-HT1+	TFMPP	0	0	0	Cervo et al., 1989
5-HT2A-	kétansérine	0	0	0	Detke et Lucki, 1995
5-HT2+	DOB	0	0	0	Wieland et Lucki, 1990
5-HT3-	ondansétron	0	0	0	Detke et Lucki, 1995
5-HT3+	PBG	+	+	+	Detke et Lucki, 1995
5-HT4+	SB204070	0	0	0	Cryan et Lucki, 2000
Ligands Adrénérgiques					
α2-antagoniste	idazoxan	+	0	0	Rénéric et al., 2001
β-agoniste	salbutamol	0	0	0	Porsolt, 1981
Ligand Anticholinergique	scopolamine	+	0	0	Kawashima et al., 1986
Ligand DA D+	d-amphétamine	faux +	0	+	Detke et al., 1995
Ligand non- peptidique antagoniste CR1	CRA 100	+	0	0	Harro et al., 2001
Modulateur de la synthèse des phospholipides	cytidine	+	0	+	Carlezon et al., 2002
Antagoniste des récepteurs V1b à la vasopressine	SSR149415	+	non testé	non testé	Griebel et al., 2002

+ : activité antidépressive, 0: pas d'effet

5.3.2. *Le test de suspension caudale*

Le TST est un modèle animal (Stéru et al., 1985), dérivé du FST où la suspension de la souris ou du rat par la queue induit une immobilité. Ce test, réalisé maintenant le plus souvent chez la Souris, présente l'avantage d'être automatisé (ITEMATIC-TST). Il mesure la durée de l'immobilité (pendant 6 minutes) ainsi que la puissance des mouvements de l'animal (Stéru et al., 1987 ; Porsolt et al., 1987) permettant de distinguer différentes classes de psychotropes (tableaux 25, 27). Le TST résoudrait plusieurs problèmes rencontrés avec le FST : l'immobilité est mesurée objectivement (automatique) et aucune hypothermie n'est induite après immersion dans l'eau froide (Thierry et al., 1986). Les études montrent que le TST peut être prédictif de l'activité de nombreux antidépresseurs. Afin de comprendre le mécanisme d'action de ces molécules de nombreux ligands ont été testés (tableau 26). Il semble que les ligands ayant une affinité pour les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} aient une activité dans le TST. Comme pour le FST, les molécules qui augmentent l'activité locomotrice spontanée donnent de faux positifs. Il a donc été suggéré qu'un test évaluant l'activité locomotrice devrait être systématiquement réalisé en parallèle du TST (Porsolt et al., 1978).

Devant l'absence d'animaux naturellement « déprimés », des souris contrôles issues de la souche CD1, présentant un temps d'immobilité supérieur à leurs congénères issus de la même souche, ont été sélectionnés dans le TST afin de créer des animaux spontanément « résignés » (Vaugois et al., 1996b ; Vaugois et Constantin, 1998). Chez ces souris pré-sélectionnées, l'imipramine est alors active dans ce modèle animal de désespoir (Vaugois et al., 1997).

5.3.3. *Le stress modéré chronique*

Après une période d'adaptation aux conditions de laboratoire et à la consommation d'eau sucrée, une variété de stress légers (changements de lumière, privation de nourriture, changement de compagnon de cage, inclinaison de la cage, illumination intermittente au stroboscope) qui pris individuellement n'ont aucun effet chez l'animal (Rat ou Souris), provoque, lorsqu'ils sont changés régulièrement sur une période de plusieurs semaines (Willner et al., 1992), un changement comportemental. Celui-ci se manifeste par une consommation réduite de saccharose reflétant une diminution de la sensibilité du système de récompense, autrement dit un comportement anhédonique que l'on retrouve chez le déprimé. L'état hédonique des animaux soumis à cette variété de stress modéré chronique (CMS pour

« chronic mild stress ») est évalué par l'auto-stimulation intracrâniale (Moreau et al., 1995 ; Willner et al., 1996) Ceci se manifeste par une augmentation de la fréquence d'auto-stimulations intracrânielles suggérant une baisse graduelle de la sensibilité aux stimulations chez ces animaux soumis aux différents stress. D'autres paramètres de cotation, comme la qualité du pelage (Ducottet et Belzung, 2002) ont aussi été ajoutés au modèle de stress modéré chronique. Les souris soumises aux différents stress modérés négligent leur toilette et donc la qualité du pelage se dégrade par rapport à celle des animaux contrôle. Les animaux ayant reçu un traitement chronique par un antidépresseur voient leur consommation d'eau sucrée revenir à la normale (tableaux 28, 29, 30).



Figure 16 – Photo du test de suspension caudale chez la Souris

Un antidépresseur diminue le temps d'immobilité (photo de droite) alors qu'une administration de NaCl 0,9% provoque une quasi immobilité de l'animal.

Tableau 25 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de suspension caudale chez la Souris

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
ADTs	imipramine	+	David et al., 2001b; Liu et Gershenfeld, 2001; O'Neill et al., 1996, Teste et al., 1993, Steru et al., 1987
IRSSs	amitriptyline	+	Takeuchi et al., 1997
	clomipramine	+/-	Teste et al., 1993
	YM992 (aussi 5-HT2A-)	+	Takeuchi et al., 1997
	fluoxétine	+/-	Takeuchi et al., 1997
	citalopram	+/-	Takeuchi et al., 1997
Antidépresseurs atypiques	paroxétine	+	David et al., 2001b; O'Neill et al., 1996
	zimelidine	+	Perrault et al., 1992
	indalpine	+	Perrault et al., 1992
	litoxétine	+	Perrault et al., 1992
	miansérine	+	Stéru et al., 1987
IRSNs	nomifensine	+	Stéru et al., 1987
	démexiptiline	+/-	Teste et al., 1993
IRN	viloxazine	+	Stéru et al., 1987
	reboxétine	+	Wong et al., 2000
IRD	desipramine	+/-	Teste et al., 1993
IMAOs non sélectifs	amineptine	0	Teste et al., 1993
	GBR 1209	0	Teste et al., 1993
	aphétamine	+/-	Stéru et al., 1987
	bupropion	+	Stéru et al., 1987
	phénelzine	0	Prakie et Oxenkrug, 1998
Inhibiteurs de la MAO-A	niamide	0	Prakie et Oxenkrug, 1998
	béfloxatone	+	Prakie et Oxenkrug, 1998
	brofaromine	0	
	clorgyline	0	
	moclobémide	+	Stéru et al., 1987
	indalpine	+	Stéru et al., 1987
	pargyline	+	Stéru et al., 1987
	toloxatone	+	Stéru et al., 1987
Inhibiteurs de la MAO-B	déprényl	0	Prakie et Oxenkrug, 1998
	Ro 196327	0	Prakie et Oxenkrug, 1998

+ : activité antidépressive, +/- : faible activité antidépressive (tendance), 0 : pas d'effet

Tableau 26 - Effets de différentes molécules dans le test de suspension caudale chez la Souris

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Ligands sérotoninergiques 5-HT1A/B +	N-acétylserotonine RU 24969	+ +	Prakie et Oxenkrug, 1998 O'Neill et al., 1996
Ligands adrénergiques	p-synéprine (faible dose) p-synéprine (forte dose)	+ 0	Song et al., 1996 Song et al., 1996
(α 2+)	B-HT920 (fortes doses)	+	Ferrari et Giuliani, 1991
(α 2-)	clonidine yohimbine	0 0	Ferrari et Giuliani, 1991 Ferrari et Giuliani, 1991
Ligands dopaminergiques	B-HT920 (forte dose) N-n-propylnor-pomorphine (agoniste DA)	0 0 0	Ferrari et Giuliani, 1997 Ferrari et Giuliani, 1997 Ferrari et Giuliani, 1997
Ligands D2/D3	(-)éticlopride (-)éticlopride (chronique)	0 +	Ferrari et Giuliani, 1997 Ferrari et Giuliani, 1997
Ligands D3	7-OH-DPAT (faible dose) 7-OH-DPAT (forte dose) 7-OH-DPAT (chronique) (faible dose) 7-OH-DPAT (chronique) (forte dose)	0 + 0 +	Ferrari et Giuliani, 1997 Ferrari et Giuliani, 1997 Ferrari et Giuliani, 1997 Ferrari et Giuliani, 1997
Ligands cholinergiques	atropine oxotrémorine	+ 0	Stéru et al., 1987 Stéru et al., 1987
Antagoniste mGlu5	MPEP	+	Tatarczynska et al., 2001
Antagonistes NMDA	éliprodil (SL-82.0715) MK-801 AP7 GDEE	0 + 0 0	Layer et al., 1995 Panconi et al., 1993 Panconi et al., 1993 Panconi et al., 1993
Modulateurs des canaux voltage-dépendant de type L	nifédipine nicardipine nitrendipine isradipine félodipine nimodipine amlodipine vérapamil (-)émopamil diltiazem clentiazem flunarizine	+ + + + + + 0 0 0 0 0 0	Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997 Cohen et al., 1997

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet

Tableau 27 - Effets de différentes molécules non antidépresseives dans le test de suspension caudale chez la Souris

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Neuroleptiques	chlorpromazine	0	Porsolt et al., 1987
	halopéridol	0	Stéru et al., 1987
	sulpiride	0	Stéru et al., 1987
Anxiolytiques	clobazam	0	Stéru et al., 1987
	diazépam	0	Porsolt et al., 1987
Psychostimulants	d-amphétamine	+	Stéru et al., 1987
	caféine	+	Stéru et al., 1987
Hormone	mélatonine	+	Prakhie et Oxenkrug, 1998
Neuropeptide	TRH	+	Shi et al., 1991
Substrats de l'oxyde Nitrique	L-Arginine (faible dose)	+	Da Silva et al., 2000
	N(G)-nitro-L-arginine (faible dose)	+	Da Silva et al., 2000
	L-Arginine (forte dose)	0	Da Silva et al., 2000
	N(G)-nitro-L-arginine (forte dose)	0	Da Silva et al., 2000
Métabolite endogène de polyamine	agmatine	+	Zomkowski et al., 2002

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet

Tableau 28 - Effets de différents antidépresseurs dans le test du stress modéré chronique chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
ADTs	imipramine	+	Papp et al., 1996
	amitriptyline	+	Muscat et al., 1990
	maprotiline	+	Muscat et al., 1992a
IRSSs	fluvoxamine	+	Sluzewska et Szczawinska, 1996a,b
	citalopram	+	Willner et al., 1987
	fluoxétine	+	Willner et al., 1992
Antidépresseur atypique	mianserin	+	Moreau, 1997
IRN	désipramine	+	Moreau, 1997
IMAO	moclobémide	+	Moreau et al., 1993
	brofaromine	+	Papp et al., 1996

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet

Tableau 29 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test du stress modéré chronique chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Neuroleptiques	rispéridone	0	Moreau, 1997
	chlorprothixene	0	Papp et al., 1996
	halopéridol	0	Papp et al., 1996
Anxiolytique	chlordiazépoxide	0	Muscat et al., 1992a
Analgésique	morphine	0	Papp et al., 1996
Thymorégulateur	lithium	+	Sluzewska et Szczawinska, 1996a

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet

Tableau 30 - Effets de différentes molécules dans le test du stress modéré chronique chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules	Effet	Références
Ligands sérotoninergique 5-HT1A+	buspirone	+	Papp et al., 1996 Przegalinski et al., 1995
	ipsapirone	0	
5-HT1+/5-HT2A-	BIMT-17 (flibanserin)	+	D'Aquila et al., 1997b
Ligands DA DA+ D2+ D2+/D3+	d-amphétamine	0	Papp et al., 1996
	bromocriptine	+	Muscat et al., 1992b
	quinpirole	+	Muscat et al., 1992b
Ligand anticholinergique	atropine	faux +	Papp et al., 1996
Ligands histaminergique Antagoniste	mépyramine	faux +	Papp et al., 1996
Inhibiteur de synthèse de la corticotérorone	kétoconazole	+	Sluzewska et Nowakovska, 1994
Antagoniste des récepteurs V1b à la vasopressine	SSR149415	+	Griebel et al., 2002
Mélatonine		+	Brotto et al., 2001

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet, faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

5.3.4. *Le test de résignation acquise*

Le test de résignation acquise (LH pour « learned helplessness ») est le modèle animal de dépression le plus classique mais aussi le plus controversé (Willner, 1991). Ce test mime certains traits de la dépression, principalement ceux provoqués par un stress environnemental défavorable. Le modèle initialement décrit chez le Chien puis étendu au Rat (Seligman et al., 1975) et à la Souris consiste à exposer l'animal à une situation gênante incontrôlable provoquant une incapacité à apprendre à échapper à des chocs électriques plantaires en appuyant sur un levier dans une boîte de « Skinner » ou à passer dans un autre compartiment. Ce test se déroule en deux étapes, avec trois groupes d'animaux. Le premier jour, dans une boîte dont le sol est électrifié, le premier groupe d'animaux est soumis individuellement à des chocs plantaires qu'ils peuvent interrompre en pressant un levier. Le deuxième groupe d'animaux est soumis individuellement à des chocs électriques de même intensité et de même durée que le premier groupe mais qu'ils ne peuvent cette fois éviter. Le troisième groupe, ne reçoit aucun choc et représente le groupe témoin. Le deuxième jour, les animaux subissent une épreuve d'évitement actif, dans une boîte à deux compartiments dont le sol de l'un est électrifié. Quand apparaît un signal lumineux, l'animal doit passer dans l'autre compartiment afin d'éviter le choc électrique. En fait, les animaux du deuxième groupe, contrairement à ceux des deux autres groupes, adoptent une attitude prostrée et subissent passivement les chocs. L'exposition de l'animal à cette situation qu'il ne contrôle pas induit des signes d'incapacité cognitive traduisant une résignation acquise (Seligman et al., 1975). Les animaux présentent également une diminution globale de leur activité, de la prise alimentaire, du temps de sommeil, du poids et de l'agressivité. Le déficit d'échappement est réduit par un traitement sub-chronique, mais pas aigu avec des antidépresseurs (tableaux 31, 32, 33).

Tableau 31 - Effets de différents antidépresseurs dans le test de résignation acquise chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules Traitement subchronique de 3 à 7 jours	Effet	Références
ADTs	imipramine amitryptiline nortriptyline (subacutely) doxépine	+ + + +	Sherman et al., 1979 Sherman et al., 1982 Telner et al., 1981 Sherman et al., 1982
IRSSs	fluoxétine citalopram fluvoxamine indalpine ziméldine	+ + + + +	Ferguson et al., 2000 Martin et al., 1990 Martin et al., 1990 Martin et al., 1990 Martin et al., 1990
IRSN	milnacipran	+	Briley et al., 1996
Antidépresseurs atypiques	miansérine iprindole néfazodone	+ + +	Sherman et al., 1982 Sherman et al., 1982 Eison et al., 1990
IRN	désipramine	+	Telner et Singhal, 1981
IRD	amineptine	+	Besson et al., 1999
IMAOs	pargyline béfloxatone iproniazide moclobémide brofaromine phénelzine nialamide T-794	+ + + + + + + +	Maier, 1983 Caille et al., 1996 Sherman et al., 1982 Caille et al., 1996 Caille et al., 1996 Caille et al., 1996 Caille et al., 1996 Kato et al., 1998

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet

Tableau 32 - Effets de différentes molécules non antidépressives dans le test de résignation acquise chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules Traitement subchronique de 3 à 7 jours	Effet	Références
Neuroleptiques	chlorpromazine halopéridol	0 0	Sherman et al., 1982 Sherman et al., 1982
Anxiolytiques	diazépam lorazépam chlorprodiazépoxide éthanol	0 0 0 0	Sherman et al., 1982 Sherman et al., 1982 Sherman et al., 1982 Sherman et al., 1982
Psychostimulants	amphétamine caféine	0 0	Sherman et al., 1982 Sherman et al., 1982
Anticonvulsivants	oxcarbazépine phénobarbital	+ 0	Joca et al., 2000 Sherman et al., 1982
Thymorégulateur	lithium (30 jours de traitement)	+	Faria et al., 1993
ECS	chocs électroconvulsifs	0	Sherman et al., 1982

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet

Tableau 33 - Effets de différentes molécules dans le test de résignation acquise chez le Rat

Classe pharmacologique	Molécules Traitement subchronique de 3 à 7 jours	Effet	Références
Ligands sérotoninergiques agoniste 5-HT1		+	Giral et al., 1988
5-HT1A+	1-(2,4-diméthylphényl)-3- [(2-méthoxyphényl)- pipérazine-1il]-1- propanone (aussi SSRI) alnespirone (S 20499)	+	Oficialdegui et al., 2000
Ligand adrénergique agoniste α_2	8-OHDPAT	+	Mac Sweeney et al., 1998 Martin et al., 1990
	clonidine	+	Anisman et Zacharko, 1982, Maier, 1983
Ligand DA	apomorphine	+	Maier, 1983
Ligand anticholinergique	atropine	faux +	Anisman et Zacharko, 1982
Ligands GABAergiques	gaba injecté dans l' hippocampe	0	Petty et Sherman, 1980
	bicuculline injecté dans l'hippocampe	0	Petty et Sherman, 1980
GABA _B -	CGP36742	+	Nakagawa et al., 1999
	ICS205-93	+	Nakagawa et al., 1999
Ligand cholinergique	nicotine	+	Semba et al., 1998
	SIB-1508Y	+	Ferguson et al., 2000
Ligands Opioïdes			
Inhibiteur du catabolisme des Enképhaline	RB101	+	Tejedor-Real et al., 1998
Agoniste des récepteurs opioïde de type D	BUBU	+	Tejedor-Real et al., 1998
Bloqueur des canaux ioniques	mécamylamine nimodipine	0	Ferguson et al., 2000 Saade et al., 2003
CREB	HSV-CREB	0	Chen et al., 2001
Ligands CRF CRF1-	CP-154,526	+	Mansbach et al., 1997
BDNF	BDNF	+	Siuciak et al., 1997

+ : activité antidépressive, 0 : pas d'effet, faux positif (réponse au test, mais aucun effet antidépresseur observé en clinique)

TRAVAIL EXPERIMENTAL

1. Choix des modèles comportementaux

Les modèles animaux de dépression apportent une grande contribution non seulement à la recherche et au développement de nouvelles molécules mais aussi à la compréhension du mécanisme d'action des antidépresseurs. Un modèle animal doit posséder une sensibilité de base aux médicaments et développer peu de faux positifs. Tous les modèles précédemment présentés sont appelés modèles animaux de dépression car ils peuvent permettre d'identifier les molécules antidépressives. Cependant, comme ces modèles animaux ne caractérisent pas tous les symptômes de la dépression chez l'Homme, on peut considérer qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de modèle de dépression universel. Les deux critères de choix d'un modèle animal de dépression sont la reproductibilité et la robustesse (Willner, 1984 ; David et al., 2001c).

La bulbectomie olfactive peut être considérée comme une bonne approche de l'étiologie de la dépression. La bulbectomie olfactive a une forte base rationnelle théorique puisque les antidépresseurs ne sont pas efficaces chez les rats « normaux ». De plus, l'intérêt de ce test est de se placer dans les conditions cliniques puisqu'un médicament antidépresseur n'agit pas avant deux à trois semaines. Cependant la sensibilité et la sélectivité de ce modèle peuvent être remises en question puisque certains antidépresseurs ne sont pas actifs après un traitement subchronique ou chronique.

Le test de résignation acquise est le modèle animal de dépression le plus critiqué du fait de sa faible spécificité et la difficulté de relier les résultats obtenus dans différents laboratoires. Le phénomène « antidépresseur-like » produit après l'administration du médicament est court, il se dissipe en 48 à 72 heures, selon la procédure d'induction des chocs (Wiess et Simon, 1989). Plusieurs composés possédant à la fois des propriétés anxiolytiques et antidépressives comme la buspirone, la gépironne, l'alnespirone annulent la résignation acquise chez le Rat (Martin et al., 1990 ; pour revue Thiébot et al., 1992). De plus certaines difficultés d'apprentissage de la résignation peuvent résulter de déficits de la motricité et de l'attention et certains rats manquent d'adaptabilité au stress. Il a été suggéré que le test de résignation était plus un modèle animal d'adaptation au stress plutôt qu'un modèle animal de dépression remettant ainsi en cause la pertinence du test dans cette pathologie (Anisman et al., 1980).

Le stress modéré chronique est considéré comme le modèle animal de dépression le plus valide puisqu'il implique le stress comme facteur étiologique de la dépression (Willner et Papp, 1997) et qu'il est sélectif des molécules antidépresseurs. Cependant, il a été dit que les résultats obtenus par ce modèle seraient peu reproductibles (D'Aquila et al., 1997a) et que les altérations comportementales se dissiperaient trop rapidement. Pendant très longtemps, il n'existait pas de protocole de stress consensuellement défini ce qui peut expliquer la dispersion des résultats. Aujourd'hui, il semble que l'application de stress soit mieux codifiée. L'anhédonie qui se manifeste après plusieurs semaines de stress ne serait pas seulement un des symptômes de la dépression mais aussi de la maladie de Parkinson et même de la schizophrénie (Breslau et Davis, 1986) puisque les neuroleptiques peuvent en annuler l'effet. De plus, des données cliniques indiquent que l'incidence de la dépression est de 5 à 10%, suggérant que le stress, auquel chaque individu peut se trouver confronté sous ses multiples formes, ne soit pas le facteur déclenchant de la dépression (Breslau et Davis, 1986).

Le TST est un modèle animal de dépression facile à mettre en place bien que les résultats montrent une variabilité non négligeable entre les souches pour le même traitement (Vaugois et al., 1997) (figure 16). Il semble aussi que l'activité basale puisse dépendre des conditions d'hébergement des animaux (Karolewicz et Paul, 2001). Hascoët et al., (1991) puis Renard et al., (2003) ont suggéré que le TST comprenait une composante motrice beaucoup moins négligeable que celle du FST. En effet, à l'aide d'une activité locomotrice spontanée, on montre qu'une hypolocomotion apparaît après les deux minutes d'habituation du FST alors que cet effet ne se manifeste que deux minutes après la fin du TST. Ceci indique qu'il existe une composante motrice résiduelle dans le TST.

Le FST est un modèle largement utilisé pour détecter une activité « antidépressive-like » puisqu'il est facile à mettre en place, peu coûteux et qu'il a prouvé que ses résultats étaient reproductibles. Les modifications du test, surtout pour le FST chez le Rat et l'administration chronique des molécules ont permis d'améliorer la spécificité du test. Detke et al., (1997) ont montré que les antidépresseurs administrés chroniquement à faibles doses produisaient une baisse significative du temps d'immobilité. Il est admis que le FST chez la Souris apparaît comme le modèle animal de dépression le plus adéquat pour définir une réponse antidépressive même si la symptomatologie induite n'est que difficilement comparable à la dépression chez l'Humain puisque l'administration des molécules s'effectue généralement en aigu. Cependant ce modèle est sensible à toute les classes d'antidépresseurs et comporte peu de faux positifs lorsqu'il est couplé à un test d'activité locomotrice. Récemment les recherches pré-cliniques se sont focalisées sur la combinaison de molécules afin de diminuer

le délai d'action des antidépresseurs en clinique et d'augmenter le nombre de répondeurs. Le FST permet l'exploration des mécanismes d'action des molécules antidépressives à travers l'utilisation de ligands spécifiques (pour revue Redrobe et Bourin, 1999). Des composés comme la bupropion (Joffe et Schuller., 1993 ; Jacobsen, 1991) et le pindolol (Blier et Bergeron, 1995 ; Tome et al., 1997) ont prouvé cliniquement qu'ils potentialisaient la réponse antidépressive et donc la taille de l'effet.

Pour nos travaux de recherche en psychopharmacologie comportementale, nous avons retenu le TST et le FST chez la souris comme modèles animaux de dépression. Les techniques opératoires employées dans ces deux tests chez la Souris au laboratoire sont strictement superposables à celles décrites en pages 96 et 107. Dans le FST chez la Souris, il existe une très bonne corrélation entre l'activité « antidépressive-like » prédite pour une molécule et son effet avéré en clinique puisque 94% des molécules, dont le test montre une baisse du temps d'immobilité, se révèlent être de futurs antidépresseurs alors que ce chiffre n'est que de 89% pour le FST chez le Rat (Bai et al., 2001). Cette corrélation entre l'effet antidépresseur dans le FST et l'effet thérapeutique n'est retrouvé dans aucun autre modèle (Thiébot et al., 1992). Le FST et le TST présentent des spectres de sensibilité aux antidépresseurs assez comparables mais pas identiques (Bai et al., 2001). Les antidépresseurs ADTs, les IMAOs et certains antidépresseurs atypiques comme la miansérine sont actifs dans les deux tests (Stéru et al., 1985 ; Borsini et Meli, 1988 ; Dalvi et Lucki, 1999). Cependant des divergences sont décrites concernant les IRSSs dont on reporte généralement qu'ils sont actifs dans le TST mais non dans le FST (Porsolt et al., 1993 ; Detke et al., 1995) ; l'inverse est observé pour des agents atypiques comme le rolipram et la lévoprotiline (Porsolt et Lenegre, 1992). Pourtant la question de la sensibilité du FST chez la Souris pour les IRSSs n'est plus à démontrer (Redrobe et Bourin, 1999 ; Borsini, 1995). Les divergences de résultats entre le FST et le TST pourraient s'expliquer par l'implication de mécanismes neurochimiques différents. De plus il existe des différences d'ordre méthodologique (souche de souris, conditions d'éclairage) (Bai et al., 2001). En conséquence l'étude de la variabilité dans les deux tests, le FST et le TST, et la maîtrise de paramètres aussi tels que l'âge, le genre ou la souche devraient nous permettre de sensibiliser les tests et donc d'augmenter les tailles d'effets des deux tests afin de mieux comprendre les mécanismes neurochimiques impliqués dans l'effet « antidépresseur-like ». Pour comprendre ces mécanismes neurochimiques sous-jacents, la microdialyse intracérébrale *in vivo*, chez la souris éveillée libre de ses mouvements est très complémentaire.

2. Approche neurobiologique : microdialyse intracérébrale *in vivo* chez la souris éveillée libre de ses mouvements

La technique de microdialyse *in vivo* chez l'animal anesthésié ou éveillé a été mise au point par Delgado et collaborateurs en 1972, puis perfectionnée par Ungerstedt (1984). Son principe repose sur la loi de diffusion passive de composés de faible poids moléculaire à travers une membrane poreuse (figure 17), du compartiment le plus concentré vers le compartiment le moins concentré. Cette technique, ici appliquée chez la souris éveillée libre de ses mouvements, permet de recueillir, tous les ¼ d'heures environ, la 5-HT (articles 5, 6, 7) et/ou la NA endogène (articles 6, 7) ainsi que leurs métabolites présents dans le milieu extracellulaire cérébral et de les quantifier par une méthode analytique de dosage [chromatographie liquide haute performance (CLHP) couplée à un détecteur électrochimique]. Les concentrations en neurotransmetteurs reflètent l'équilibre entre sa libération dans la fente synaptique et sa recapture par le neurone présynaptique qui l'a libéré. Grâce à des coordonnées fournies par un atlas stéréotaxique, la sonde est insérée verticalement dans l'aire cérébrale voulue, en l'occurrence le cortex préfrontal dans notre étude. La technique en elle-même comporte deux phases : une première phase de chirurgie sous anesthésie au cours de laquelle les sondes de dialyse sont implantées dans une région cérébrale donnée et une seconde phase, le lendemain, de recueil de prélèvements.

2.1. Chirurgie

Après pesée, les animaux sont anesthésiés avec de l'hydrate de chloral (400 mg/kg), administré par voie i.p.. Les souris sont ensuite placées sur l'appareil stéréotaxique à l'aide de barres d'oreilles et d'un étau buccal fixant la mâchoire supérieure. L'appareil stéréotaxique est équipé d'un système de 3 axes avec vis micrométriques permettant le déplacement dans les 3 dimensions (antériorité, latéralité, ventralité) du bras portant la sonde de dialyse.

Après incision longitudinale de la peau du crâne, celle-ci est écartée et l'os crânien nettoyé et blanchi par de l'eau oxygénée. Le Bregma, point d'intersection des lignes de suture des os du crâne est alors visible et sert de point référence antéro-postérieur et latéral. A partir de ce point et grâce aux coordonnées données par l'atlas stéréotaxique (Franklin et Paxinos, 1997), l'os du crâne est percé en deux points, à la verticale des cortex frontaux droit et gauche où seront implantées les deux sondes (antériorité : 1.6 mm ; latéralité : 1.3 mm ; ventralité : 1.6 mm). Concernant les travaux expérimentaux 6 et 7, l'implantation de deux sondes chez le

même animal (droite et gauche) permet de mesurer simultanément les concentrations extracellulaires corticales de 5-HT ($[5\text{-HT}_{\text{ext}}]$) et de NA ($[NA_{\text{ext}}]$). La surface de la dure mère constituant le point de coordonnée « zéro » de l'axe ventral, la sonde après avoir été descendue à 1.6 mm de profondeur, est ensuite collée sur l'os crânien, puis, afin d'assurer la solidité du maintien de cette sonde, du ciment dentaire est apposé dessus.

Après chirurgie, les souris sont placées dans des cages cylindriques de plexiglas dans lesquelles elles sont libres de leurs mouvements et ont un accès *ad libitum* à l'eau et la nourriture. La fin de cette phase précède d'environ 20 heures au minimum la séance de dialyse.

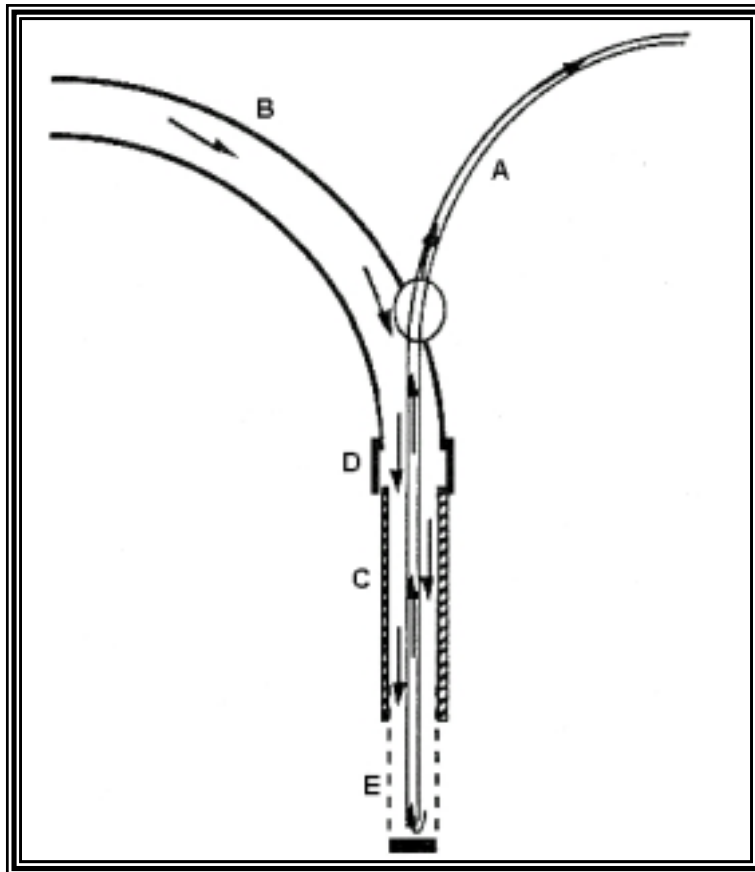


Figure 17 - Schéma d'une sonde de microdialyse avec sa membrane

A : capillaire en silice, B : cathéter en polyéthylène n°1, C : tube métallique, D : cathéter en polyéthylène n°3, E : membrane de dialyse.

Le milieu tampon artificiel est perfusé à travers le cathéter B et l'échange entre le milieu extracellulaire et le liquide perfusé se fait au niveau de la membrane de dialyse (E). Le recueil des dialysats se fait par le cathéter D.

2.2. Dialyse

Le lendemain de la chirurgie, on procède au recueil des dialysats (figure 18). Les entrées des sondes sont reliées à un perfuseur automatique (CMA 100, Phymep, Paris) délivrant une solution tampon artificielle préparée par nos soins et dont la composition pour 500 ml est la suivante :

Composants	Quantités
NaCl	125 nM
MgCl ₂	1,18 nM
CaCl ₂	1,26 nM
KCl	2,50 nM
Eau millipore	qsp 500 ml

La solution est ensuite filtrée (filtre HA 0,45 µm, Millipore), le pH est mesuré et ajusté à $7,4 \pm 0,2$ et conservée à l'abri de la lumière et à 4°C.

Le tampon artificiel dont la composition est proche du liquide céphalo-rachidien (LCR) est délivré à un débit de 1,5 µl/min et diffuse à travers la membrane de dialyse. Après une heure de stabilisation, les 4 premiers échantillons sont recueillis toutes les 15 minutes par le cathéter de sortie, puis les substances à étudier (les antidépresseurs), sont administrées et les recueils se poursuivent pendant 2 heures post-administration. Les dialysats (22 µl) sont ensuite placés au congélateur à -80°C jusqu'à leur analyse par CLHP.

A la fin de la séance de dialyse, les animaux sont euthanasiés par une injection létale d'hydrate de chloral. Leur cerveau est prélevé, puis placé au congélateur (-20°C). Le lendemain, le cerveau est placé sur un microtome à congélation et différentes coupes d'une épaisseur de 40 µm sont réalisées dans la zone d'implantation des sondes. Ces coupes sont photographiées grâce à un appareil numérique (PowerShot G1, Canon) puis comparées aux photographies des coupes provenant d'un atlas stéréotaxique numérique de Souris (Hof, et al., 2001) afin de vérifier le bon emplacement des sondes dans le cortex frontal (figure 19).

2.3. Dosage de la 5-HT et de la NA par CLHP-ED

Les procédures de dosage de la 5-HT et de la NA diffèrent. En effet, l'analyse des dialysats contenant de la 5-HT est effectuée selon une méthode décrite par Malagie et al., (2001). Brièvement, le système chromatographique est constitué d'une pompe LC-118, (Beckman Coulter, Roissy, France) qui permet l'arrivée, à un débit fixe (0,7 ml/min) de la phase mobile dans la colonne (phase stationnaire). Les échantillons sont placés sur le plateau d'un injecteur automatique réfrigéré (CMA200, Phymep, Paris). La composition de la phase mobile est la suivante :

Composants	Quantité
NaH ₂ PO ₄	31,05 g
EDTA disodique	0,1125 g
Acide octane sulfonique	0,350 g
Méthanol	350 ml
Eau distillée	qsp 1750 ml

La phase mobile est filtrée (filtre HA 0,45 µm, Millipore, Saint-Quentin en Yvelines) avant d'ajouter le méthanol (pureté : 99,8%). Le dégazage de cette phase mobile est assuré avant toute mise en service par un passage d'hélium en continu. Le pH de cette solution ajusté à 4,3 (par de l'acide orthophosphorique 85%) permet d'obtenir la séparation des composés endogènes d'intérêt (5-HT et 5-HIAA) avec un détecteur ampérométrique (HP 1049A, Hewlett Packard, France). Dans ces conditions, un chromatogramme est obtenu en 7 min environ. Les temps de rétention de la 5-HIAA et de la 5-HT sont respectivement d'environ 3,0 min et 5,2 min.

Le dosage des dialysats NA est quant à lui adapté de la méthode de dosage de la 5-HT. Le système chromatographique (mode isocratique) est constitué d'une pompe (116, Beckman) d'un amortisseur de pulsations, d'un injecteur automatique (Carnegie Medicin, Stockholm, Suède) et d'une colonne (phase stationnaire) constituée d'une silice greffée en C18 et de granulométrie 5µm (4,6 x 150 mm, Macherey-Nagel, Hoerd, France) couplée à un détecteur coulométrique (Coulchem, ESA, Bedford, MA, USA). Le potentiel d'oxydation choisi doit permettre une détection maximale des composés tout en minimisant le bruit de fond. Pour le dosage de la NA, le potentiel de la cellule de référence est fixé à 0 mV et à -10 mV (E1), +350 mV (E2) pour la cellule analytique. La phase mobile est composée de 100 mM d'acétate

de sodium trihydrate; de 40 mM d'acide citrique monohydrate; de 7,4 mM d'acide 1-octanesulfonique; de 270 μ M d'EDTA disodique, de méthanol pour HPLC à 7% et de 0,17 % de dibutylamine. Le pH de la phase mobile est de $4,55 \pm 0,05$ u.pH.

2.4. Analyse des résultats

Les concentrations de $[5\text{-HT}_{\text{ext}}]$ et de $[\text{NA}_{\text{ext}}]$ dosées dans les dialysats sont exprimées en pourcentage de la valeur basale qui correspond à la moyenne calculée à partir des 4 premiers échantillons recueillis pendant la première heure de dialyse. On calcule également les aires sous la courbe (ASC) en pourcentage de la valeur basale de $[5\text{-HT}_{\text{ext}}]$ ou de $[\text{NA}]_{\text{ext}}$ correspondante à la concentration totale de 5-HT/NA recueillie sur la période de 0 à 120 minutes post-traitement.

$$\text{ASC} = (\text{Moyenne évoquée} / \text{Moyenne basale}) * 100$$

Les résultats sont analysés grâce au logiciel Statview 5.0 (Abacus Concepts, Berkeley, CA, USA). On réalise une analyse de variance (ANOVA) à un (articles 6 et 7) ou plusieurs facteurs (souche/traitement) (article 5) pour comparer les valeurs des ASC obtenues dans les différents groupes. Cette ANOVA est suivie d'un test PLSD de Fischer s'il y a lieu. Le seuil de significativité est fixé à $P < 0.05$.

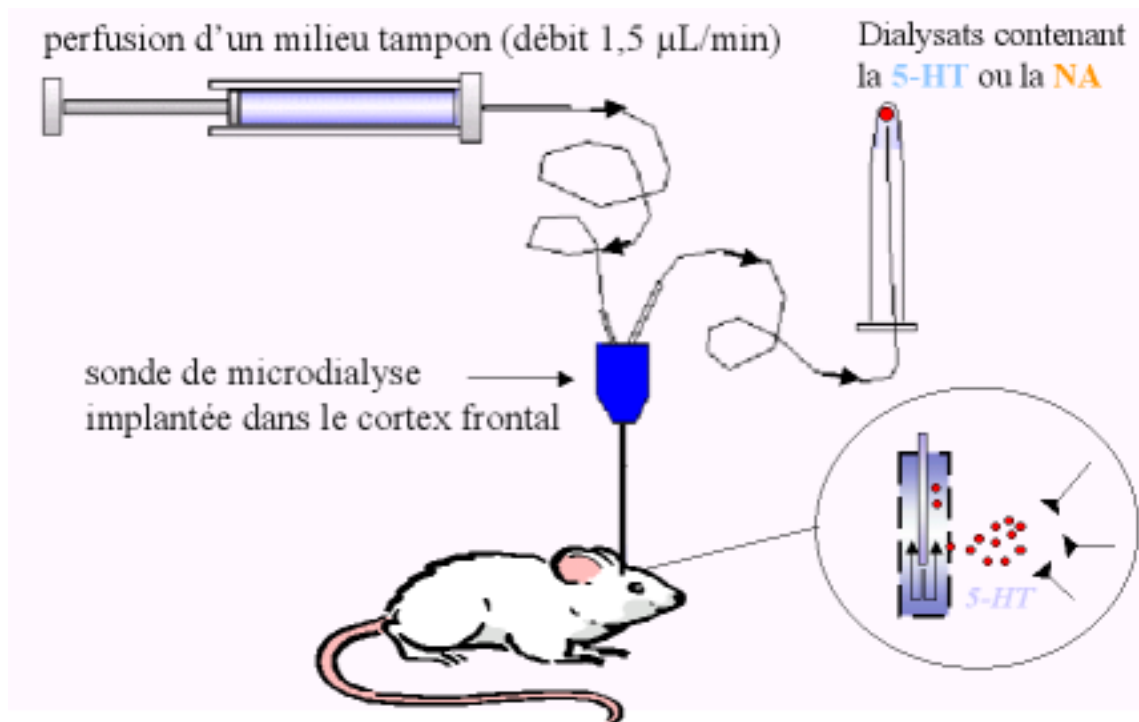


Figure 18– Schéma représentant une expérience de microdialyse intracérébrale *in vivo* chez la souris éveillée libre de ses mouvements.

La seringue, installée sur un perfuseur, permet de délivrer le milieu tampon à un débit constant (1,5 µl/min dans le cas nos expérimentations) par le biais de la membrane placée dans l'aire cérébrale étudiée.

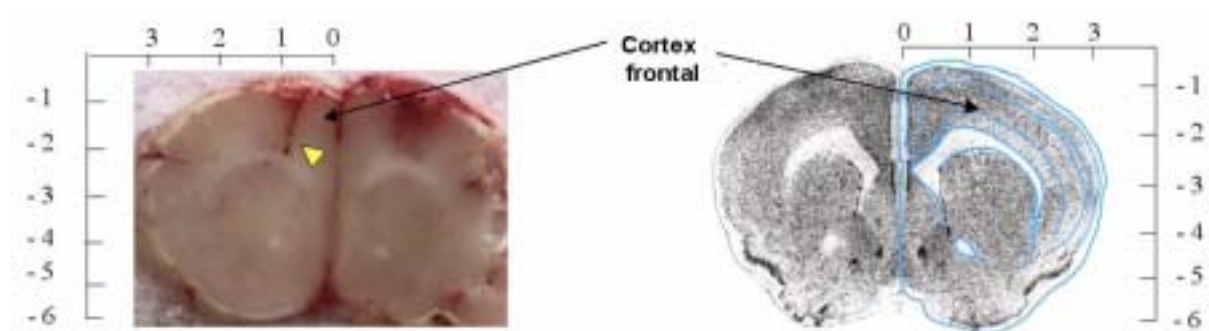


Figure 19 – Vérification du bon emplacement d'un sonde de microdialyse placée dans le cortex frontal

Comparaison de coupes de cerveau frontal d'une souris Swiss (à gauche) passant par le cortex médian préfrontal à celles de l'atlas stéréotaxique numérique (à droite) (Hof et al., 2001). Coordonnées en mm.

D'après Bruno GUIARD

TRAVAUX EXPÉRIMENTAUX DE PSYCHOPHARMACOLOGIE COMPORTEMENTALE

Étude 1 : variabilité en fonction de l'âge

Comparaison de l'activité des antidépresseurs chez des souris âgées de 4 et 40 semaines dans le test de la nage forcée

Psychopharmacology, 2001, 152, 443-449

Comparison of antidepressant activity in 4- and 40- week old male mice in the Forced Swimming test : involvement of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in old mice.

Denis Joseph Paul DAVID, Michel BOURIN, Martine HASCOËT, Marie-Claude COLOMBEL, Glen B. BAKER, Pascale JOLLIET. *Psychopharmacology*, 2001, 152 : 443-449.

Objectif de l'étude 1

Il est maintenant bien établi qu'une diminution de l'activité du système nerveux central survient lors du vieillissement et qu'elle s'accompagne de changements de réponse aux neurotransmetteurs liés à des modifications pharmacodynamiques, nombre et fonctionnalité des récepteurs (Allain et Bentue-Ferrer, 1995). En outre, on observe lors du vieillissement une modification de la réponse aux traitements antidépresseurs. Une étude de liaison « ligand marqué/récepteur » a montré qu'il existait une diminution marquée des récepteurs 5-HT_{1B} et une diminution moindre des récepteurs 5-HT₂ chez le Rat âgé par rapport au Rat adulte (Gozlan et coll., 1990). Dans cette même étude, la densité des récepteurs 5-HT_{1A} est pratiquement la même quel que soit l'âge.

La présente étude a eu pour but de comparer l'action de différentes classes d'antidépresseurs chez des souris âgées de 4 (souris jeune adulte) et de 40 semaines (souris âgée) en utilisant un modèle animal de dépression ; le test de la nage forcée, puis d'évaluer dans les deux groupes par ce même test, le rôle respectif des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} dans la réponse au traitement. Pour cela, nous avons administré en dose unique, par voie intrapéritonéale, plusieurs antidépresseurs, l'imipramine (8, 16 et 32 mg/kg) (tricyclique), la maprotiline (8, 16 et 32 mg/kg) (inhibiteur de la recapture de la noradrénaline), la venlafaxine (4, 8 et 16 mg/kg) (inhibiteur mixte de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline), la fluvoxamine (4, 8 et 16 mg/kg) et la sertraline (8, 16 et 32 mg/kg) (inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine)].

Afin de préciser le rôle des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} chez les souris de 4 et 40 semaines par le FST, une administration conjointe a été pratiquée pour tester l'interaction entre leurs agonistes sélectifs respectifs, la buspirone (0,06 mg / kg, i.p.) pour les récepteurs 5-HT_{1A} et l'anpirtoline pour les récepteurs 5-HT_{1B} (1 mg / kg, i.p.) et une dose subactive de chacun des antidépresseurs.

Synthèse des résultats de l'étude 1

Nos résultats montrent que tous les antidépresseurs testés ont diminué de façon significative le temps d'immobilité chez les souris de 4 et 40 semaines à l'exception de la fluvoxamine chez les souris âgées. La taille de l'effet antidépresseur quel que soit le médicament, est beaucoup plus importante chez les souris de 4 semaines, exception faite de la venlafaxine, pour laquelle la baisse du temps d'immobilité observée chez les souris âgées de

40 semaines est similaire à celle observée chez les souris adultes jeunes. De façon générale, on observe que les antidépresseurs qui inhibent la recapture de la NA comme l'imipramine, la maprotiline et la venlafaxine ont une activité antidépressive plus importante que les IRSSs chez les animaux âgés.

Un pré-traitement par buspirone (0,06 mg/kg) a augmenté significativement l'effet antidépresseur chez les souris jeunes et ceci quel que soit l'antidépresseur administré, exception faite de la sertraline. De même, une dose sub-active d'anpirtoline (1 mg/kg) a potentialisé la dose sub-active de chacun des antidépresseurs testés chez les souris jeunes adultes. Chez les souris âgées, une dose sub-active (8 mg/kg) de la fluvoxamine est potentialisée par une dose sub-active de buspirone (0,06 mg/kg) alors que l'association de la même dose de cet IRSS à de l'anpirtoline (1 mg/kg) n'entraîne pas « d'effet antidépresseur-like ». Ces résultats suggèrent que lors du vieillissement, les récepteurs 5-HT_{1A} ne soient que peu altérés, alors que les récepteurs 5-HT_{1B} ont une fonctionnalité diminuée.

L'étude neurochimique montre que les concentrations cérébrales totales de 5-HT et de DA sont significativement beaucoup plus importantes chez les souris contrôles de 40 semaines que chez les souris jeunes adultes. Ceci conforte l'idée que les auto- ou hétérorécepteurs 5-HT_{1B} sont altérés chez les animaux âgés et exercent mal le rétrocontrôle inhibiteur de la libération du neurotransmetteur.

L'âge est donc un facteur de variabilité non négligeable de la réponse aux IRSSs dans le FST. La suite logique de ce travail consiste à considérer d'autres facteurs de variabilité, comme le genre, et à en étudier l'influence sur deux modèles animaux de dépression, le FST et le TST.

Étude 2 : variabilité en fonction du genre

Existe-t-il une différence de température entre les souris mâles et femelles après une administration unique d'antidépresseur dans deux modèles animaux de dépression ?

Behavioural Brain Research, 2001, 119, 203-211

Are there gender differences in the temperature profile of mice after acute antidepressant administration and exposure to two animal models of depression ?

Denis Joseph Paul DAVID, Bríd Àine NIC DHONNCHADHA, Pascale JOLLIET, Martine HASCOËT, Michel BOURIN. Behav. Brain Res., 2001, 119 : 203-211.

Objectif de l'étude 2

De nombreuses études cliniques ont rapporté une différence de la prévalence de la dépression et de la réponse à son traitement dans les deux sexes (Frackiewicz et al., 2000). Les études pré-cliniques utilisent généralement des animaux mâles pour détecter l'activité « antidépressive-like » négligeant ainsi le facteur de variabilité « genre » (Barros et Ferigolo, 1998).

Le but de cette étude a été de comparer dans un premier temps, les effets d'une administration par voie intrapéritonéale de deux antidépresseurs, un tricyclique, l'imipramine et un IRSS, la paroxétine, aux doses de 4, 8, 16 et 32 mg/kg, chez des souris mâles et femelles âgées de 4 semaines, au moyen de deux modèles animaux de dépression, le FST et le TST.

Le TST utilise une procédure moins stressante que le FST et contrairement à ce dernier, ne provoque pas d'hypothermie (Thierry et al., 1986). C'est pourquoi, nous avons étudié, dans un deuxième temps, l'influence sur la température de l'administration unique d'un antidépresseur au moyen des deux tests comportementaux dans le but de les comparer et d'apprécier si l'effet sur la température (T) était corrélé à l'effet « antidépresseur-like ». Pour cela, nous avons mesuré la température rectale des souris avant l'administration de l'antidépresseur (T-30 min), avant le test (T0) et après le test (T +6 min), et calculé $\delta 1$ (variation de température entre T-30 min et T0), $\delta 2$ (variation de température entre T0 et T +6 min) et $\delta 3$ (variation de température entre T-30 min et T +6 min).

Synthèse des résultats de l'étude 2

Nos résultats montrent qu'aussi bien la paroxétine que l'imipramine ont exercé un effet « antidépresseur-like » chez les souris des deux genres et ceci quel que soit le modèle animal employé (FST ou TST).

Mais, dans le FST, chez les souris mâles, l'imipramine et la paroxétine ont diminué de façon significative le temps d'immobilité à la dose de 32 mg/kg seulement alors qu'elles étaient efficaces chez les souris femelles aux doses de 8, 16, 32 mg/kg pour l'imipramine et aux doses de 16 et 32 mg/kg pour la paroxétine. Contrairement à notre attente, pour une dose donnée entraînant une réponse, le FST n'a pas mis en évidence de différence de taille de l'effet entre les souris mâles et les souris femelles.

Dans le TST, l'imipramine et la paroxétine (32 mg/kg) ont exercé un effet « antidépresseur-like » aussi bien chez les souris femelles que chez les souris mâles, mais chez ces dernières, l'effet antidépresseur-like intervient dès la dose de 16 mg/kg. La baisse du temps d'immobilité observée, secondairement à l'administration de l'antidépresseur étant similaire entre les souris mâles et femelles, nous concluons que le TST ne permet pas de mettre en évidence de différence significative entre les deux genres.

Les deux tests influent sur la température corporelle des souris des deux genres : le FST entraîne une hypothermie nette alors que l'on observe une hyperthermie de degré variable lors du TST. L'hypothermie observée chez les souris soumises au FST, n'est pas corrélée à l'effet « antidépresseur-like » apprécié par la baisse du temps d'immobilité ($r = 0,404$ et $r = 0,303$ pour les souris ayant été respectivement traitées par de l'imipramine et de la paroxétine). Dans le TST, il n'existe pas non plus de corrélation entre l'effet « antidépresseur-like » (baisse du temps d'immobilité) et l'augmentation de température ($r = 0,028$ et $r = 0,160$ pour les souris ayant été respectivement traitées par de l'imipramine et de la paroxétine). Nous avons noté que l'administration d'une forte dose d'imipramine (32 mg/kg), entraînait à elle seule, avant que le test commence, une hypothermie tant chez les souris mâles que femelles.

Notre étude nous permet de conclure que le genre ne semble pas être un facteur de variabilité déterminant de la réponse au test, FST ou TST, puisque les tailles des effets observés après l'administration des antidépresseurs ne sont pas significativement différentes entre les souris mâles et femelles. Après avoir étudié l'influence de l'âge et du genre, il était intéressant de mesurer l'influence relative de la souche de souris choisie sur la réponse aux antidépresseurs et ce dans les deux tests, FST (article 3) et TST (article 4).

Étude 3 : variabilité en fonction de la souche

Effets des antidépresseurs chez différentes souches de souris dans le test de la nage forcée

Psychopharmacology, 2003, 166, 373-382

Antidepressant-like effects in various mice strains in the Forced Swimming Test.

Denis Joseph Paul DAVID, Caroline E. RENARD, Pascale JOLLIET, Martine HASCOËT, Michel BOURIN. *Psychopharmacology, 2003, 166, 373-382*

Objectif de l'étude 3

La souche est un facteur génétique qui peut contribuer à faire varier dans des modèles animaux de dépression, comme le FST chez la Souris, la réponse, à l'administration d'antidépresseurs (Bai et al., 2001, Lucki et al., 2001 ; Porsolt et al., 1978 ; Tadano et al., 1997). Le choix d'une souche appropriée dans ces tests comportementaux de désespoir est donc capital pour augmenter la sensibilité de détection d'une activité antidépressive

Il existe des études montrant une réponse souche-dépendante dans le FST, mais elles n'ont testé que deux antidépresseurs. Le but de ce travail a été de comparer dans le FST chez la Souris, les effets de l'administration unique par voie intra péritonéale d'une gamme de doses (1 à 16 mg/kg) d'antidépresseurs de différentes classes [l'imipramine, (inhibiteur mixte de recapture de la NA et de la 5-HT) ; la paroxétine et le citalopram (IRSSs) ; la désipramine (inhibiteur de recapture de la NA) ; le bupropion (inhibiteur de recapture de la DA)] ; nous avons choisi d'étudier quatre souches de souris [Swiss, NMRI (souches non-co-sanguines) ; DBA/2 et C57BL/6J Rj (souches co-sanguines) en utilisant les conditions originales de Porsolt (Porsolt et al., 1977). Afin de s'assurer que l'effet observé soit bien un effet « antidépresseur-like » et donc de limiter les faux-positifs, nous avons préalablement effectué un test d'activité locomotrice sur ces quatre souches. Seules les doses n'entraînant pas d'hyperlocomotion ont été retenues pour ensuite être étudiées dans le FST. Pour tenter de comprendre la pharmacodynamie des différences comportementales observées entre les souches, nous avons mesuré les concentrations cérébrales totales de 5-HT, NA et de DA par CHLP chez des animaux ayant reçu uniquement le véhicule et soumis ou non au FST.

Synthèse des résultats de l'étude 3

Les résultats observés montrent que l'activité locomotrice spontanée des quatre souches étudiées est significativement différente. Cette différence ne s'explique pas par une variation intersouche de l'activité basale mesurée par le FST puisque les souris témoins des différentes souches présentent les mêmes temps d'immobilité sous placebo compris entre 230 s et 234 s. En revanche, l'activité locomotrice spontanée varie de 146 pour les souris de la souche DBA/2 à 190s pour les souris de la souche C57BL/6J Rj, les souris des souches NMRI et Swiss ayant une activité locomotrice spontanée de 160 et 165 s respectivement. Notre étude

démontre clairement que toutes les souches ne répondent pas de la même manière dans ce test à l'administration d'un antidépresseur.

L'imipramine (16 mg/kg), la paroxétine (8-16 mg/kg), la désipramine et le citalopram (4-16 mg/kg) ont diminué de manière significative le temps d'immobilité chez les souris de la souche Swiss et l'effet « antidépresseur-like » observé est important, plus de 20% de diminution du temps d'immobilité. Au contraire, les souris de la souche DBA / 2 n'ont pas répondu à l'administration d'une dose unique d'antidépresseur et ceci quelle que soit sa classe. Cette absence d'effet anti-immobilité chez les souris DBA/2 pourrait être liée aux fortes concentrations cérébrales en monoamines, notamment en dopamine, mesurées dans cette souche.

La souche C57BL/6J Rj, bien que ne répondant ni aux IRSSs, ni à l'imipramine, ni à la désipramine, s'avère être la seule sensible à un inhibiteur de recapture de la DA puisque l'administration de bupropion (2 et 4 mg/kg) diminue significativement le temps d'immobilité.

La souche NMRI, pourtant considérée comme souche « de référence » en psychopharmacologie, est moins sensible dans notre étude, que la souche Swiss, à l'administration d'un antidépresseur, car seule la paroxétine et seulement à la dose de 16 mg/kg a diminué le temps d'immobilité.

Notre étude suggère bien que dans le FST chez la souris, la sensibilité d'une souche pour un médicament antidépresseur dépend du génotype. Aussi le choix d'une souche adaptée dans ce modèle animal est indispensable afin de sensibiliser le test à la classe d'antidépresseur étudiée. Compte tenu de la différence inter-souche dans le FST, nous avons voulu savoir si dans le TST, en gardant les mêmes conditions expérimentales, nous observerions la même variabilité.

Étude 4 : variabilité en fonction de la souche

Effets des antidépresseurs chez différentes souches de souris dans le test de suspension caudale

Behavioural Brain Research, 2003, 143 (2), 193-200

Antidepressant-like effects in various mice strains in the Tail Suspension Test.
Nadège Ripoll, Denis Joseph Paul DAVID, Eric Dailly, Martine HASCOËT, Michel BOURIN. *Behav. Brain Res.*, 2003, 143 (2), 193-200

Synthèse des résultats de l'étude 4

Contrairement aux résultats obtenus dans le FST, le temps d'immobilité basal observé chez les animaux contrôles diffère dans le TST selon les souches de souris. En effet, alors que les souris Swiss, NMRI et DBA / 2 présentent une activité basale similaire, les souris de la souche C57BL/6J Rj ont une immobilité basale supérieure aux autres souches, de l'ordre du double.

Nos résultats montrent que seules les souches de souris Swiss et C57BL/6J Rj ont répondu à tous les antidépresseurs testés, avec une taille d'effet atteignant quasiment 50%. Par conséquent, dans le TST, ces deux souches sont appropriées pour mettre en évidence une activité « antidépressive-like » et ce quel que soit le mode d'action du médicament : inhibition de la recapture de la 5-HT, de la NA ou de la DA.

Concernant les deux autres souches de souris, NMRI et DBA/2, nos résultats indiquent que seuls le citalopram, la paroxétine et l'imipramine ont diminué le temps d'immobilité. L'absence d'effet « antidépresseur-like » de la désipramine et du bupropion chez ces souris suggère une spécificité de réponse aux molécules inhibant principalement la recapture de la sérotonine. On notera de plus que ces deux souches sont celles qui présentent la meilleure sensibilité pour détecter une activité « antidépressive-like » (de l'imipramine ou du citalopram). En effet, la souche NMRI voit son temps d'immobilité diminuer dès la dose subactive de 4 mg/kg d'imipramine dans les autres souches. De la même façon, la souche DBA/2 répond à la dose subactive de 0,5 mg/kg de citalopram.

L'observation du comportement des souris DBA/2 et C57BL/6J Rj dans le TST, nous laisse dubitatifs quant au choix de ces souches dans ce modèle animal : en effet, ces souris tentent au cours du test de se relever pour s'accrocher et agripper leur queue avec leurs pattes avant. Ce comportement, comptabilisé par l'appareil de mesure comme une immobilité, ne peut pas être considéré comme un comportement de désespoir sans quelques réserves.

En conclusion, les résultats obtenus avec le TST montrent que la variabilité inter-souches existe dans ce modèle, traduisant des sensibilités et des tailles d'effets différentes selon l'antidépresseur administré.

Le bilan de nos quatre études comportementales nous amène à conclure que la souris mâle de la souche Swiss, âgée de 4 semaines, est la meilleure souche pour détecter une activité antidépressive quel qu'en soit le mécanisme (*i.e.* la classe de l'antidépresseur) et ce quel que soit le test employé, FST ou TST.

**TRAVAUX EXPÉRIMENTAUX DE MICRODIALYSE
INTRACEREBRALE *IN VIVO* CHEZ LA SOURIS ÉVEILLÉE
LIBRE DE SES MOUVEMENTS**

Étude 5 : traitement chronique

Effet de l'administration chronique de paroxétine sur les concentrations extracellulaires de sérotonine dans l'hippocampe ventral chez les souris knock-out 5-HT_{1B}

Journal of Neurochemistry, 2003, 86, 13-24

Effects of chronic paroxetine treatment on dialysate serotonin in 5-HT_{1B} receptor knockout mice.

Alain M. GARDIER, **Denis Joseph Paul DAVID**, Gaëlle JEGO, Cédric PRZYBYLSKI, Christian JACQUOT, Sandrine DURIER, Bérangère GRUWEZ, Patrick BEAUVERIE, Nicolas POISSON, René HEN, Michel BOURIN. *J. Neurochem.*, 2003, 86, 13-24

Objectif de l'étude 5

Afin de mieux comprendre le rôle des récepteurs 5-HT_{1B} et pour pallier l'absence d'antagonistes spécifiques de ce sous-type de récepteurs, des souris dépourvues de récepteurs 5-HT_{1B} (souris KO 5-HT_{1B}) ont été générées par recombinaison homologue (Saudou et al., 1994). Il a été tout d'abord démontré au laboratoire qu'une administration unique d'IRSS provoque une augmentation des concentrations extracellulaires de sérotonine plus importante chez les souris mutées que chez les souris non mutées (wild-type, WT) principalement dans l'hippocampe ventral (Malagié et al., 2001, 2002 respectivement pour la paroxétine et la fluoxétine). Ces résultats ont montré que pour deux antidépresseurs, deux IRSSs, appartenant à la même famille et ayant des propriétés pharmacocinétiques très différentes, la paroxétine (demi-vie courte et pas de métabolite actif) et la fluoxétine (également un IRSS de demi-vie longue, un métabolite actif la norfluoxétine de demi-vie encore plus longue) (Caccia et al., 1993 ; Holladay et al., 1998), le récepteur 5-HT_{1B} limite leur efficacité sur les concentrations extracellulaires de 5-HT, surtout dans l'hippocampe ventral et assez peu dans le cortex préfrontal chez la Souris. C'est la première fois qu'une telle approche génétique (souris KO) a révélé la spécificité régionale d'action indirecte des IRSSs sur les récepteurs 5-HT_{1B}.

En utilisant à nouveau la technique de microdialyse intracérébrale *in vivo*, chez la souris éveillée libre de ses mouvements, dans la présente étude, nous avons voulu approfondir le rôle des récepteurs 5-HT_{1B} dans le mécanisme d'action des IRSSs en comparant les effets d'une administration chronique de paroxétine sur les concentrations extracellulaires de sérotonine [5-HT]_{ext} dans le cortex médian préfrontal (mPFCX) et dans l'hippocampe ventral (VHPC). La paroxétine (1 mg/kg) ou son véhicule (DMSO et NaCl 0,9%) sont délivrés pendant 14 jours aux souris mutées et non mutées (contrôles) à des concentrations stables en utilisant des mini-pompes osmotiques Alzet®. Les études de microdialyse sont réalisées 20 à 24 heures après le retrait des mini-pompes (soit au 15^{ème} jour). Après cette période de « wash-out », l'effet d'une dose-test de paroxétine est étudié en comparant les concentrations [5-HT]_{ext} dans les deux structures aux concentrations initiales mesurées chez le même animal.

Synthèse des résultats de l'étude 5

Nos résultats montrent logiquement que les concentrations basales de sérotonine dans l'hippocampe ventral et le cortex médian préfrontal, mesurées environ 20 heures après le retrait des mini-pompes ne sont pas altérées par un traitement chronique par la paroxétine, ni chez les souris contrôles (WT), ni chez les souris KO 5-HT_{1B}.

Dans l'hippocampe ventral, au 15^{ème} jour, l'administration par voie intrapéritonéale d'une dose unique de paroxétine (1 mg/kg) induit une augmentation des [5-HT]ext plus importante dans le groupe KO 5-HT_{1B} que dans le groupe WT après un traitement de 14 jours par le véhicule. La même différence est observée entre les deux groupes KO 5-HT_{1B} versus WT après l'administration chronique de paroxétine (14 jours). Inversement, dans le cortex médian préfrontal, l'administration aiguë de paroxétine augmente les [5-HT]ext de manière similaire dans les deux groupes contrôles (14 jours de traitement au NaCl). Le traitement chronique de paroxétine, même si aucune différence n'est observée entre les deux génotypes, induit une augmentation beaucoup plus importante des [5-HT]ext dans le cortex préfrontal que celle de l'administration aiguë.

Pour éliminer la participation d'une désensibilisation des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} situés dans le noyau du raphé médian suite à l'administration chronique de paroxétine, nous avons perfusé localement, chez les souris WT, 1 µM de paroxétine à travers la sonde de dialyse, implantée dans l'hippocampe ventral. Les résultats montrent alors une augmentation similaire des [5-HT]ext hippocampiques aussi bien dans le groupe WT contrôle que chez le groupe de souris WT traitées pendant 14 jours avec de la paroxétine. L'administration locale intra-hippocampique de paroxétine reproduit l'effet de son administration par voie systémique.

Une administration par voie intrapéritonéale de l'antagoniste mixte des récepteurs 5-HT_{1B/1D}, le GR 127935 (4 mg/kg), chez les souris ayant reçu de façon chronique de la paroxétine, potentialise les effets d'une administration unique de paroxétine sur les [5-HT]ext dans l'hippocampe ventral, tandis que l'antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A}, le WAY 100635 (1 mg/kg), ne produit aucun effet. Ceci suggère que les autorécepteurs 5-HT_{1B} terminaux situés dans l'hippocampe ventral ne soient pas désensibilisés après 14 jours de traitement chez la souris.

En utilisant la méthode de microdialyse quantitative, le « zéro net flux », dans les deux régions cérébrales de souris sauvages et mutées, nous montrons que les [5-HT]ext basales et les extractions, sont similaires, suggérant qu'il n'existe aucun phénomène de compensation *in vivo* impliquant le transporteur sérotoninergique, secondairement à la délétion constitutive du gène codant pour le récepteur 5-HT_{1B}.

Enfin, au 14^{ème} jour d'administration de paroxétine par mini-pompe, au « steady-state », les concentrations cérébrales de paroxétine sont identiques dans les deux génotypes, excluant donc une altération des propriétés pharmacocinétiques de la paroxétine chez les souris KO 5-HT_{1B}.

Nous concluons qu'il existe des différences régionales entre l'hippocampe ventral et le cortex médian préfrontal quant à l'activation des autorécepteurs 5-HT_{1B} terminaux et leur aptitude à réguler les concentrations sérotoninergiques intrasynaptiques. En fait, ces récepteurs ont gardé leur capacité à limiter la libération de la 5-HT, et ceci principalement dans l'hippocampe ventral, après un traitement chronique de paroxétine chez la souris. Cette étude m'a permis de me familiariser avec les différentes techniques opératoires nécessaires à l'implantation des sondes de dialyse et à l'implantation des mini-pompes osmotiques Alzet® qui permettent une diffusion stable dans le plasma et le cerveau du médicament antidépresseur lors de son administration chronique (ce qui est plus délicat avec un mode d'administration répétée : 1 à 2 fois par jour i.p. ou s.c.).

Étude 6 : administration aiguë

Effets de l'administration d'une dose unique de paroxétine, de citalopram ou de venlafaxine sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline dans le cortex médian préfrontal : étude de microdialyse chez la souris éveillée

British Journal of Pharmacology (soumis)

Effects of acute treatment with paroxetine, citalopram and venlafaxine on serotonin and noradrenaline outflow : a microdialysis study in Swiss mice.

Denis Joseph Paul DAVID, Michel BOURIN, Gaëlle JEGO, Cédric PRZYBYLSKI, Pascale JOLLIET, Alain M. GARDIER. Soumis dans Br. J. Pharmacol., 2002.

Objectif de l'étude 6

Les études *in vitro*, réalisées sur des synaptosomes de rat, montrent une activité du citalopram pour bloquer le transporteur de la NA 100 fois moins importante que celle de la paroxétine, [K_D 5-HT/ K_D NA pour le citalopram = 1.8 nM/6 100 nM= 1/3388; K_D 5-HT/ K_D NA pour la paroxétine = 0.29 nM/81 nM= 1/279 (Sánchez and Hytell, 1999)]. Cependant, de récentes données obtenues *in vivo* laissent à penser que la sélectivité des IRSSs pour le transporteur de la 5-HT est moins évidente qu'il n'y paraît. En effet, chez la souris Swiss, l'utilisation d'un inhibiteur de la synthèse de la sérotonine, la parachlorophénylalanine, suggère que la paroxétine, reconnue comme la molécule la plus puissante pour inhiber le transporteur de la 5-HT, ait un profil sérotoninergique à faibles doses et noradrénergique à fortes doses dans le FST chez la souris (Redrobe et al., 1998a).

Notre étude a donc eu pour but de comparer la sélectivité de deux IRSSs, la paroxétine et le citalopram, vis à vis des transporteurs de la 5-HT et de la NA, par une approche *in vivo*, en utilisant la microdialyse intracérébrale chez la souris éveillée. En gardant les conditions expérimentales utilisées dans l'étude de comportement (Redrobe et al., 1998a), nous avons étudié les effets de l'administration d'une dose unique de paroxétine ou de citalopram (1, 4 ou 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de 5-HT et de NA et nous les avons comparés aux résultats obtenus avec la venlafaxine (1, 4 et 8 mg/kg) un composé de référence inhibant aussi bien la recapture de la 5-HT que celle de la NA (Millan et al., 2001). Enfin, nous avons évalué les effets d'un antagoniste des autorécepteurs α_2 noradrénergiques, l'idazoxan (1 mg/kg s.c) lors d'une co-administration avec de la paroxétine (4 mg/kg i.p) sur les concentrations extracellulaires corticales de 5-HT et de NA.

Effects of acute treatment with paroxetine, citalopram and venlafaxine in vivo on noradrenaline and serotonin outflow: a microdialysis study in Swiss mice

D.J.P. David^{1,2}, M. Bourin², G. Jegu¹, C. Przybylski¹, P. Jolliet² and A. M. Gardier¹

1- EA 3256, Lab. Neuropharmacologie, Fac. Pharmacie, Univ. Paris-Sud,
F92296 Châtenay-Malabry, France

2- EA 3256 "Neurobiologie de l'anxiété et de la dépression", Fac. de Médecine Nantes,
F44035 Nantes, France

Corresponding author: Pr A.M. Gardier
Tel: 33.(0)1.46.83.54.16
Fax: 33.(0)1.46.83.53.55

E-Mail: alain.gardier@cep.u-psud.fr

Abstract

1 This study investigated whether a single administration of a range of doses (1, 4 and 8 mg/kg, i.p.) of paroxetine, citalopram or venlafaxine may simultaneously increase extracellular levels of 5-HT ([5-HT]_{ext}) and noradrenaline ([NA]_{ext}) by using *in vivo* microdialysis in the medial prefrontal cortex (mPFCx) of awake, freely moving Swiss mice.

2 *In vivo*, paroxetine induced similar increases in cortical [5-HT]_{ext} at the three doses tested, and induced a statistically significant increase in cortical [NA]_{ext} at 4 and 8 mg/kg. At these doses, paroxetine equipotently blocked both neuronal 5-HT and NA transporters in mice. Citalopram increased neither [5-HT]_{ext} nor [NA]_{ext} at the lowest dose, but increased both neurotransmitter levels at 4 and 8 mg/kg. At these doses, citalopram induced greater increases in cortical [5-HT]_{ext} than in [NA]_{ext}. Venlafaxine increased [5-HT]_{ext} and [NA]_{ext} to $\approx 400\%$ and $\approx 140\%$ of the respective basal values at 8 mg/kg.

3 Citalopram and paroxetine have the highest *potency* to increase cortical [5-HT]_{ext} and [NA]_{ext}, respectively. In addition, the rank of order of *efficacy* of these antidepressant drugs to increase [5-HT]_{ext} *in vivo* in the mPFCx of mice was as follows: venlafaxine > citalopram > paroxetine, while the efficacy to increase cortical [NA]_{ext} in mice of paroxetine and citalopram is similar, and greater than that of venlafaxine.

4 Idazoxan, an α_2 -adrenoceptor antagonist (1 mg/kg s.c.) given 60 min after a single dose of paroxetine (4 mg/kg) potentiated the effect on cortical [NA]_{ext}; suggesting that α_2 -adrenoceptors, possibly located in the locus coeruleus, could limit SSRI's effects on cortical [NA]_{ext} by inhibiting NA release in mice.

Keywords: antidepressants, medial prefrontal frontal cortex, microdialysis, noradrenaline, serotonin

Abbreviations : 5-HT; 5-hydroxytryptamine (serotonin); mPFCx, medial prefrontal cortex; NA, noradrenaline; SSRIs, selective serotonin reuptake inhibitors

Introduction

Decreases in the functional activity of central serotonergic and catecholaminergic systems are often associated in major depressive episodes (Blier and De Montigny, 1994). Applying an appropriate strategy with drugs targeting both neurotransmitter systems may improve the efficacy of the antidepressant treatment. In recent years, new antidepressant drugs, with less adverse effects than imipramine derivatives, have been developed that selectively block either the serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) transporter, i.e. selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs), or the noradrenaline (NA) transporter (e.g. reboxetine), or block both, i.e., mixed serotonin/noradrenaline reuptake inhibitors (SNRIs - venlafaxine, duloxetine) (Vetulani and Nalepa, 2000; Artigas, 1995). SSRIs, such as paroxetine and citalopram, are effective in treating depressed patients (Delgado *et al.*, 1992; Deakin and Dursun, 2002) but it appears that SNRIs such as venlafaxine, a compound which increased both [5-HT]_{ext} and [NA]_{ext} in rat frontal cortex (Dawson *et al.*, 1999; Millan *et al.*, 2001) should be a higher therapeutic success than SSRI in depressed patients (Einarson *et al.*, 1999).

The data obtained *in vitro*, in rat brain synaptosomal preparations (Bolden-Watson and Richelson, 1993; Barker *et al.*, 1994) indicate that paroxetine has been classified as the most potent SSRI based on its very high affinity for the 5-HT transporter [K_D 5-HT = 0.29 nM]. Citalopram is the most selective SSRI, being about 100 fold weaker in blocking the NA transporter than paroxetine *in vitro* [K_D 5-HT/ K_D NA for citalopram = 1.8 nM/6 100 nM = 1/3388; K_D 5-HT/ K_D NA for paroxetine = 0.29 nM/81 nM = 1/279 (Sánchez and Hytell, 1999)]. However, the 5-HT/NA selectivity ratios measured *in vitro*, vary considerably between SSRIs (Sánchez and Hytell, 1999). Animal studies are necessary to determine their pharmacological properties *in vivo* [potency (calculated ED₅₀ values) and efficacy (maximal response in a preclinical test)]. Recent preclinical studies indicate that the selectivity of SSRIs for 5-HT over NA might be less apparent *in vivo*. Indeed, in the mouse forced swimming test (FST) in Swiss mice, an animal model of depression which predicts the efficacy of antidepressant drugs in humans, paroxetine, citalopram and venlafaxine dose-dependently increased the mobility time, (Redrobe *et al.*, 1998a, 1998c). Moreover, in this test we demonstrated that paroxetine, as well as venlafaxine, displayed noradrenergic-like behavioural activity at a clinically relevant dose as low as 8 mg/kg in mice (Redrobe *et al.*, 1998b, 1998c). Intracerebral *in vivo* microdialysis studies have already been performed to measure extracellular levels of NA ([NA]_{ext}) in rats following administration of a single dose of SSRI systemically. One of the main advantages of this technique is, to allow the simultaneous

measurement of extracellular levels of 5-HT ([5-HT]ext) and [NA]ext at nerve terminal regions in the brain. However, discrepancies regarding the effects of acute SSRI treatment on [NA]ext have been reported in the literature (Table 1). Thus, Hajós-Korcsok and co-workers (2000), showed in awake, freely moving rats that a single paroxetine dose of 5 mg/kg did not elevate [NA]ext in the hippocampus, while [5-HT]ext was increased. Sertraline did not alter noradrenaline release in rat cortex and hippocampus, when administered acutely (Thomas et al., 1998). Recently Bymaster et al., (2002) found that, with the exception of fluoxetine, SSRIs (citalopram, paroxetine and sertraline) did not increase [NA]ext in the rat frontal cortex. Consistent with these microdialysis results, an electrophysiological study found that paroxetine had no effect on the firing of noradrenaline neurones (Szabo et al., 1999). In contrast, fluoxetine (10 mg/kg, s.c.) augmented both [NA]ext and [5-HT]ext (by 90% and 110%, respectively) in the rat frontal cortex (Gobert et al., 1997). In addition, Millan et al., (1999 and 2000) recently showed that citalopram increased [NA]ext in rat frontal cortex, although an increase in [NA]ext was also found in saline-treated rats. Thus, the heterogeneity of these *in vivo* microdialysis results obtained in rats and the absence of microdialysis data in mice lead to investigate the selectivity of both SSRIs, paroxetine and citalopram *in vivo* by using intracerebral microdialysis in mice, to measure simultaneously cortical [5-HT]ext and [NA]ext. We used an experimental protocol similar to that used by Redrobe et al., (1998b) in the behavioral test (FST): awake, freely moving Swiss mice received a single dose of either paroxetine and citalopram (1, 4 or 8 mg/kg) with the purpose of establishing the same relationship between the present results and those obtained in a previous behavioural experiment (the FST). The effects of SSRIs on dialysate 5-HT or NA were compared to those of venlafaxine, a reference compound acting on both systems administered at similar doses (1, 4 or 8 mg/kg).

The α_2 -adrenoreceptors regulate NA release and it has been shown that combining an antidepressant drug (reboxetine) with an α_2 -adrenoceptor antagonist might potentiate its effects on brain [NA]ext in rats (Sacchetti et al., 1999). We thus evaluated the effect of a systemic administration of idazoxan, an α_2 -adrenoreceptor antagonist, on paroxetine-induced increase in cortical [NA]ext in mice.

Methods

Animals

Male Swiss mice, 4-6 weeks old, weighing 20-24 g, were housed in our animal care facility in groups of 3-6 and kept under standard conditions (room temperature of 22-23°C, 12:12 light-dark cycle, free access to food and water). Mice were tested between 10.00 a.m. and 4.00 p.m. during the light phase. Only mice with probes confined to the medial prefrontal cortex (mPFCx) were used for subsequent analysis of microdialysis data. Procedures involving animals and their care were conducted in conformity with the institutional guidelines that are in compliance with national and international laws and policies (Council directive # 87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, permissions # 005037 to A.M.G.).

Treatment

Extracellular 5-HT and NA levels were measured in the mPFCx of awake, freely moving mice treated with (1, 4 or 8 mg/kg) of paroxetine, citalopram or venlafaxine intraperitoneally (i.p.). Control mice received saline (NaCl 0.9 %) treatment given by the same route of administration. For the interaction study, idazoxan (1 mg/kg, s.c.) was administered 60 min after paroxetine challenge (4 mg/kg, i.p.).

For each drug administration, the effects on [5-HT]_{ext} and [NA]_{ext} were simultaneously measured in the same animal by using microdialysis probe implanted in the right and the left mPFCx, respectively.

Drugs and reagents

Paroxetine HCl (Glaxo SmithKline, United Kingdom), citalopram HBr (Lundbeck, Denmark), venlafaxine HCl (Wyeth, USA) were dissolved in saline in a volume of 25 ml/kg, whereas idazoxan (RBI, USA) was dissolved in saline in a volume of 12.5 ml/kg.

Reagents used for analysis of dialysate levels of NA were: sodium acetate trihydrate and citric acid monohydrate (Merck, Germany), 1-octanesulfonic acid sodium salt hydrate (Acros Organics, USA), disodium ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) (Sigma, USA), dibutylamine (Fluka, Germany), methyl alcohol (SDS, France), noradrenaline bitartrate (Sigma, USA), perchloric acid and ascorbic acid (Merck, Germany).

Intracortical in vivo microdialysis studies in awake, freely moving mice

Concentric dialysis probes were made of cuprophane fibers and set up as described previously (Malagié et al., 2001). Animals were anaesthetised with chloral hydrate (400 mg/kg, i.p.). They were placed in a stereotaxic frame and were implanted with 2 probes according to a mouse brain atlas (Franklin and Paxinos, 1997): coordinates from bregma (in mm) of the left and right mPFCx: A=+2.0, L=±1.2, V=-1.6. Animals were allowed to recover from the surgery overnight. The following day, approximately 20 h after the surgery, the probes were continuously perfused with an artificial cerebro-spinal fluid (aCSF) (composition in mM: NaCl 147, KCl 3.5, CaCl₂ 1.26, MgCl₂ 1.2, NaH₂PO₄ 1.0, NaHCO₃ 25.0, pH 7.4±0.2) at a flow rate of 1.5 µl/min using a CMA/100 pump (Carnegie Medicin, Stockholm, Sweden). Four fractions were collected every 15 min to measure basal values (B0 at t0) before systemic administration of either saline, paroxetine, citalopram or venlafaxine. For extracellular NA levels measurements, 2 µl of an antioxidant mixture (100µM perchloric acid 70-72%, 50 µM L(+) ascorbic acid and 270 µM EDTA) was added in Eppendorf tubes to protect NA from degradation. After collections, samples were immediately frozen at -80°C, then analyzed with two different High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) methods, one for 5-HT as previously described (Malagié et al., 2000), and another one for NA adapted from Malagié et al., (2001) as indicated below.

Analysis of NA in dialysates

The HPLC system consisted of a programmable solvent module 116, an isocratic pump (Beckman), in combination with a pulse damper, an automatic injector system (Carnegie Medicin, Stockholm, Sweden) and a silica-based reverse-phase column (Nucleosil, spherical particles of 5 µm, packed in column of 15 cm with internal diameter of 4.6 mm, Macherey-Nagel, Hoerd, France) coupled to a coulometric detector Coulochem (ESA, Bedford, MA, USA). The potentials was set up at 0 mV for the guard cell, and at -10mV (E1), +350 mV (E2) for the analytical cell. The mobile phase consisted of 100 mM sodium acetate trihydrate, 40 mM citric acid monohydrate, 7.4 mM 1-octanesulfonic acid sodium salt hydrate, 270 µM disodium EDTA, dihydrate ACS Reagent with 0.17 % dibutylamine and 7% methanol HPLC Grade. The pH of the mobile phase was 4.55 ± 0.05 u.pH. The column was maintained at room temperature (≈22°C) and the flow rate of the mobile phase was 1.5 ml/min.

As desipramine is considered the most selective noradrenergic reuptake inhibitor as yet available (K_i= 0.83 nM, Sánchez and Hytell, 1999), we set up an experiment to validate the

specificity of our HPLC assay for NA levels. We thus measured the effects of an acute desipramine administration on cortical [NA]_{ext} levels in mice. In agreement with earlier studies performed in rats (Mateo *et al.*, 1998; Seo *et al.*, 1999), a preliminary experiment indicated that desipramine (15 mg/kg, s.c.) increased [NA]_{ext} in the mPFCx (mean $\pm$ S.E.M. for Area Under the Curve – AUC – values calculated for the amount of NA outflow collected in the mPFCx during the 0-120 min period post-drug administration and expressed as a percentage of basal values = 163.7 ± 6.6 %, n=11) in Swiss mice.

Data presentation and statistical analysis

Statistical analyses were performed by using the computer software StatView 4.02 (Abacus Concepts, Inc, Berkley, CA, USA). Basal values of extracellular 5-HT and NA levels (mean $\pm$ S.E.M.) were calculated from the four first samples collected. All subsequent samples, as well as the AUC values calculated as the amount of 5-HT or NA outflow collected during the 0-120 min post-treatment period from the medial prefrontal cortex, were expressed as percentage of baseline. Statistical analysis was carried out using a one-way ANOVA on AUC values, with the various treatments (NaCl 0.9%, paroxetine, citalopram or venlafaxine) at the three doses tested (1, 4, 8 mg/kg) as main factor, followed by Fisher Protected Least Significance Difference (PLSD) post hoc test.

In addition, the effects of antidepressant drugs on dialysate 5-HT and NA levels were calculated to yield a theoretical maximum effect (efficacy) as described by Tallarida and Murray (1987). The ED₅₀ values (doses of antidepressant drugs that elicit a half-maximal increase in basal neurotransmitter levels) and 95% confidence intervals were calculated by using the computer software Prism 2.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, U.S.A.). For this purpose, we used the two fractions in which we found a maximal effect in each mouse following antidepressant drug administration. The *in vivo* potency of these antidepressant drugs was calculated according to the method of Tallarida and Murray (1987). The statistical differences of Emax 5-HT or Emax NA between antidepressants were determined by a Sidak post hoc test following a one-way ANOVA. The comparison between Emax 5-HT and Emax NA for a particular antidepressant drug (i.e., paroxetine and citalopram) was determined by the Mann-Whitney U test. Statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

Effects of antidepressant drugs on extracellular 5-HT and NA levels in the medial prefrontal cortex of Swiss mice

Basal extracellular levels of 5-HT and NA (in fmol.20 μ L) in the medial prefrontal cortex (mean experiments, n = 60 animals) were 3.6 ± 0.2 and 2.4 ± 0.2 respectively.

A dose-response experiment was undertaken to determine the effects of a single administration of paroxetine, citalopram and venlafaxine on [5-HT]ext and [NA]ext in the mPFCx of Swiss mice. Thus, both SSRIs (i.e., paroxetine, citalopram) and the SNRI (venlafaxine), induced a statistically significant increase in cortical [5-HT]ext [$F(9,76) = 11.84$, $P = 0.001$]. The maximal increase in AUC values for [5-HT]ext was to 177.1 ± 16.6 % ($P < 0.05$) of the respective basal values (100%) for the lowest paroxetine dose (1 mg/kg) (Figures 1A and 1D). Citalopram significantly increased the cortical [5-HT]ext at the intermediate and the highest doses studied (4 and 8 mg/kg, respectively): the maximal increase in AUC values was to 243.6 ± 41.0 % ($P < 0.001$) of the respective basal values (100%) induced by the 8 mg/kg dose (Figures 2C and 2D). Venlafaxine significantly increased cortical [5-HT]ext only at the highest dose (8 mg/kg): the maximal increase in AUC values was to 410.5 ± 47.1 % of the respective basal values (100%; $P < 0.001$) (Figures 3C and 3D). This increase was greater than those measured for the two SSRIs studied.

The SSRIs as well as the SNRI induced statistically significant increases in [NA]ext in the mPFCx of Swiss mice ($F(9,76) = 5.13$, $P=0.001$). At the lowest dose tested, paroxetine (1 mg/kg) increased cortical [5-HT]ext, but not [NA]ext. The 4 and 8 mg/kg paroxetine doses significantly increased AUC [NA]ext values ($P<0.01$; $P<0.001$) (Figures 1B, 1C and 1D). The maximal effect in AUC values was to 158.1 ± 20.7 % of the respective basal values (100%) for the 4 mg/kg dose. Citalopram induced a dose-dependent increase in cortical [NA]ext and the maximal effect in AUC values was to 144.4 ± 15.19 % of the respective basal values (100%; $P < 0.01$) for the 8 mg/kg dose (Figures 2C and 2D). Venlafaxine did not alter cortical [NA]ext at 1 and 4 mg/kg, but increased it at the highest dose tested: the increase in AUC values was to 141.5 ± 13.6 % of the respective basal values (100%; $P < 0.01$) (Figures 3C and 3D).

In vivo effects of various doses of antidepressant drugs (paroxetine, citalopram, venlafaxine) on [5-HT]ext and [NA]ext in the mPFCx of mice were compared by dose-response curves by calculating pharmacological parameters such as ED_{50} values (potency) as well as the theoretical maximal responses (efficacy) of mice to antidepressant drugs in the intracerebral microdialysis test.

Potency of antidepressant drugs in vivo

The ED_{50} values and 95 % confidence intervals (in parentheses) are given in Table 2. The increase in cortical [5-HT]ext induced by a single administration of paroxetine was already

maximal at the lowest dose studied (1 mg/kg), so its potency to block the 5-HT transporter could not be determined in vivo in mice. Among the two other antidepressant drugs studied, citalopram was more potent than venlafaxine in increasing cortical [5-HT]ext in vivo (ED_{50} value = 4.20 mg/kg with a 95 % confidence interval 3.80 to 4.60, and 6.65 mg/kg with a 95 % confidence interval 6.50 to 6.80, respectively). Among the three antidepressant drugs tested, paroxetine, having the lowest calculated ED_{50} value (1.8 mg/kg with a 95 % confidence interval 1.70 to 1.90) was more potent than citalopram and venlafaxine in augmenting cortical [NA]ext in vivo in mice. Citalopram blocked 5-HT and NA transporters in vivo in mice with a comparable potency (calculated ED_{50} values and 95 % confidence intervals were 4.20 (3.80 – 4.60) mg/kg and 3.90 (3.30 – 4.50) mg/kg, respectively). Venlafaxine did not alter cortical [NA]ext at 1 and 4 mg/kg, so its potency to block the NA transporter could not be determined in vivo in mice.

Efficacy of antidepressant drugs in vivo

The E_{max} (% maximal increase $\pm$ SEM) are given in table 2. The SNRI venlafaxine displayed a greater efficacy in increasing cortical [5-HT]ext compared to the two SSRIs studied, paroxetine ($P < 0.01$) and citalopram ($P < 0.001$). Citalopram gave a more efficient response than paroxetine on [5-HT]ext ($P < 0.001$). Thus, the rank order of the efficacy of the antidepressant effects on cortical [5-HT]ext in mice was as follows: venlafaxine > citalopram > paroxetine. By contrast, paroxetine and citalopram elicited a comparable efficacy on cortical [NA]ext as they both induced similar maximal increases of this parameter. Furthermore, paroxetine had a similar efficacy on both cortical [5-HT]ext and [NA]ext, while citalopram had a higher efficacy in increasing cortical [5-HT]ext than [NA]ext ($P < 0.002$).

Role of α_2 -adrenoceptor in the paroxetine-induced changes in extracellular NA levels

Administration of a single paroxetine dose (4 mg/kg) increased [NA]ext in the mPFCx of Swiss mice: the increase in the AUC values was $142 \pm 11.90\%$ of the respective basal value (100 %). To test for the selectivity of this effect, another group of mice received a single dose of paroxetine (4 mg/kg) first, then an α_2 adrenoceptor antagonist, idazoxan (1 mg/kg given 1 hour later, s.c.). Idazoxan induced a statistically significant increase in [NA]ext: the AUC value increased to $215.6 \pm 33.0\%$ of the respective basal value (100 %) ($P < 0.05$ compared to the paroxetine-treated group) (Figure 5).

Discussion

In the present *in vivo* study, we found that a single administration of SSRIs (paroxetine, citalopram) and a SNRI (venlafaxine) induced increases in extracellular levels of 5-HT and NA in the dialysates from the mPFCx of awake, freely moving mice. Depending on the antidepressant drugs studied, these increases occurred either at 1, 4 or 8 mg/kg given systemically. In our experimental conditions, citalopram and paroxetine have the highest potency to increase cortical [5-HT]_{ext} and [NA]_{ext}, respectively, thus to block 5-HT transporter and/or the NA transporter *in vivo*. The rank order of efficacy of these antidepressant drugs to increase [5-HT]_{ext} in the mPFCx of mice was as follows: venlafaxine > citalopram > paroxetine. Furthermore, paroxetine was as efficient as citalopram in increasing cortical [NA]_{ext}, and the efficacy of the two SSRIs studied on dialysate NA was greater than that of the SNRI, venlafaxine (paroxetine = citalopram > venlafaxine). Furthermore, the increase in cortical [NA]_{ext} induced by a single dose of paroxetine was potentiated by an α_2 -adrenoceptor antagonist, idazoxan. Thus, α_2 -adrenoceptors, possibly located in the locus coeruleus, can selectively modulate paroxetine's effect on cortical NA release in mice.

The frontal cortex plays a crucial role in processes involved in the control of mood, cognition and motor behaviour, functions that are compromised in depression (Millan et al., 2000). A perturbation of corticolimbic serotonergic and noradrenergic transmissions is implicated in the etiology of depression and antidepressant drugs modify frontocortical monoaminergic transmission (Tanda et al., 1994; Gobert et al., 1997). Preclinical studies have clearly shown that the 5-HT and NA systems interact extensively in the brain, and it would be difficult to investigate how a given molecule affects one system without considering its influence on others (Blier, 2001). By using *in vivo* microdialysis in the medial prefrontal cortex of awake mice, we tested whether SSRIs, such as, paroxetine and citalopram may act at both noradrenergic and serotonergic systems in the brain. As it would be expected from their ability to potently block the 5-HT transporter, we demonstrated that paroxetine and citalopram enhanced dialysate levels of 5-HT in the mPFCx. Similar results have been obtained in the medial prefrontal cortex by others in rats (Arborelius et al., 1996; Millan et al., 2001, Bymaster et al., 2002) and by our group in mice (Malagié et al., 2001 and 2002) following administration of a single dose of SSRI. In addition, we found that both SSRIs simultaneously elevated [NA]_{ext} in the same brain area.

In vitro data indicate that citalopram is the most selective SSRI for inhibiting the neuronal 5-HT transporter whereas paroxetine is the most potent (Sánchez and Hytell, 1999). Our experiment allowed us to characterise in vivo, both SSRIs, analysing their potency and their efficacy in blocking 5-HT and NA transporters. In the dose range tested (i.e., 1, 4 and 8 mg/kg), citalopram displayed a similar potency to increase cortical [5-HT]ext and [NA]ext, while the potency of paroxetine on the 5-HT transporter could not be determined. However, paroxetine displayed a high potency to increase cortical [NA]ext. Thus, when measuring AUC values, we clearly demonstrated that, even if paroxetine and citalopram belong to the same class of antidepressant drugs, their pharmacological profiles were different in vivo following a single acute administration. Thus, our data barely correlates with in vitro data. The clinical relevance of these in vivo results obtained in mice is currently unknown. Our study is the first which demonstrates an influence of a single administration of SSRI, not only on dialysate levels of 5-HT, but also on NA levels in the mPFCx using microdialysis in awake, freely moving mice. Indeed, the influence of SSRI on extracellular NA levels in the mPFCx was mainly studied in rats. However, some discrepancies on their effects on the brain noradrenergic system exist (see Table 1).

In our study, we compared the effects of the two SSRIs with those of venlafaxine because this SNRI was marketed as a dual 5-HT and NA reuptake inhibitor (Artigas, 1995). Moreover, Millan and colleagues (2001) indicated that basal 5-HT and NA levels increase from the lower dose of venlafaxine in the rat frontal cortex (0.63 mg/kg). However, venlafaxine was inactive at 1 and 4 mg/kg, and did not increase [5-HT]ext and [NA]ext. Only the 8 mg/kg dose has a significant effect on dialysate levels of these neurotransmitters, the peak accumulation of 5-HT (410%) in the mPFCx being considerably greater than that of NA levels (141%). The potency and selectivity of venlafaxine for 5-HT/NA system has been questioned (Beïque et al., 1998). An in vitro study has shown that the affinity of venlafaxine for the 5-HT transporter is greater than its affinity for the NA transporter (Gur et al., 1999). Our results are in agreement with those of other microdialysis studies performed in the rat frontal cortex, in which [5-HT]ext and [NA]ext was increased only at the dose of 10 mg/kg and higher (Gur et al., 1999; Hatanaka et al., 2000). We also demonstrated in a behavioural study using the mouse FST that venlafaxine at low doses displayed an activity indicative of in vivo inhibition of 5-HT reuptake, while at higher doses both 5-HT and NA reuptake inhibitions were involved (Redrobe et al., 1998c).

Our study clearly demonstrated that SSRIs, i.e., paroxetine and citalopram, can not only increase 5-HT, but also NA in vivo. This latter effect may occur through different

mechanisms, i.e., either directly or indirectly. The first hypothesis may involve increases in cortical [NA]_{ext} via the direct blockade of NA transporter by paroxetine and citalopram. There are several lines of evidence suggesting that SSRIs can directly inhibit NA transporters, thus being devoid of selectivity for the brain serotonergic system *in vivo*. Thus, the blockade of catecholamine reuptake by SSRIs has already been suggested (Stanford, 1996; Hughes and Stanford, 1996; Owens et al., 2000; Shinkai et al., 2002). Indeed, Shinkai et al., (2002) demonstrated that paroxetine competitively inhibited the functional activity of the NA transporter by acting on a desipramine-binding site. Similarly, noradrenaline efflux was increased during local infusion of either citalopram or fluoxetine (5 or 50 μ M for 3 hours) in the rat frontal cortex (Hughes and Stanford, 1998). This effect was abolished by a selective noradrenergic neurotoxin suggesting that SSRI can directly bind to NA transporters located on noradrenergic neurones (Hughes and Stanford, 1998). Since SSRIs were administered systemically in the present study, they may have blocked NA transporters either in the medial prefrontal cortex (where the dialysis probe was implanted), or elsewhere in the brain. Further experiments studying the effects of a local infusion of these antidepressant drugs into the cortex (at noradrenergic nerve terminals) or the locus coeruleus (the main source of noradrenergic cell bodies innervating the mPFCx) may help to clarify this issue. The NA transporter blockade seems to occur mainly in the locus coeruleus (LC). Indeed, local administration of citalopram by reverse dialysis in the LC increased [NA]_{ext} in the LC, thus leading to the subsequent inhibition of LC neurones via $\alpha(2)$ -adrenoceptors in rats (Mateo et al., 2000). The decreased firing rate of noradrenergic neurones leads to decreased release of NA in the cortex.

The indirect hypothesis suggests that an increase in [5-HT]_{ext}, resulting from the systemic administration of a SSRI, could secondly increase NA release in various nerve terminal areas. It implies that activation of 5-HT heteroreceptors located on noradrenergic nerve terminals may occur in the present study. Mateo et al. (2000) concluded that their results described above are dependent on the presence of endogenous 5-HT in the LC since a pretreatment with p-chlorophenylalanine (PCPA), a 5-HT synthesis inhibitor, prevented the effects of a local administration of citalopram in rats. We have not investigated this hypothesis in mice yet, but one author excluded it as an explanation for the results of similar *in vivo* experiments (Stanford, 1996).

The effects of antidepressants on serotonergic and noradrenergic neurones are not independent, because there is a close anatomical and functional relationship between the two pathways (Nutt, 2002). In the nerve terminal brain regions, through an unclear mechanism,

SSRIs produces an overall facilitation of noradrenergic transmission (Hughes and Stanford, 1996). Bymaster's group (2002) has shown that the increase in [NA]ext measured in the prefrontal cortex following administration of fluoxetine in the awake freely moving rat, was not due to a non-selective blockade of NA uptake, but to an interaction with 5-HT_{2C} receptors, blocking the 5-HT inhibitory control on NA release in the locus coeruleus. Several studies have demonstrated that a systemic administration of 5-HT_{1A} receptor agonists increases NA release in the rat frontal cortex through activation of postsynaptic 5-HT_{1A} receptors (Hajos-Korcsok et al., 1999).

Of the three antidepressant drugs tested, paroxetine is the only one that increased cortical [NA]ext at the lowest dose. Consequently, we decided to test for the noradrenergic selectivity of this SSRI by using idazoxan, a drug known to increase NA levels by blocking α_2 -adrenergic autoreceptors. Our results agree with other studies showing that α_2 -adrenoceptor antagonist can potentiate SSRI-induced increases in [NA]ext (Mateo et al., 2000; Millan et al., 2001).

In conclusion, our data confirm that SSRIs lack selectivity in vivo for the blockade of one of the two transporters studied because they can simultaneously increase cortical [5-HT]ext and [NA]ext. Differences in pharmacological properties of these antidepressant drugs, i.e., their potency and efficacy in increasing dialysate 5-HT and NA clearly exist in vivo. In the mPFCx of Swiss mice, following its acute administration, citalopram was the most potent SSRI to increase cortical [5-HT]ext, while paroxetine was more potent than citalopram and venlafaxine in increasing [NA]ext. In the range of doses tested, a dose of one of the three compounds studied either (i)- had no effects on dialysate 5-HT and NA (citalopram at 1 mg/kg ; venlafaxine at 1 and 4 mg/kg), or (ii)- selectively blocked a transporter (paroxetine for the 5-HT transporter at 1 mg/kg), or (iii)- in most of the cases, exhibited non selective effects (paroxetine and citalopram at 4 and 8 mg/kg ; venlafaxine at 8 mg/kg). Furthermore, activation of α_2 -adrenoceptors limits the effects of paroxetine on dialysate levels of noradrenaline at noradrenergic nerve terminals since the α_2 -adrenoceptor antagonist idazoxan potentiated the effect of this SSRI in mice. Our results suggest that paroxetine and citalopram, currently classified as SSRIs, can act as mixed 5-HT/NA reuptake inhibitors in vivo. For example, paroxetine can block both 5-HT and NA transporters in vivo at doses $\geq$ 4 mg/kg in mice, at least in some brain regions. This idea has recently been supported by a clinical study in which NA and 5-HT transporter functions were assayed by using human transporter transfected cells in the presence of serum collected from patients with major depressive

disorder treated with paroxetine (Gilmor et al., 2002). The clinical significance of this action of SSRIs on the brain noradrenaline transporter is currently unknown, but it may contribute to their broad therapeutic efficacy in the treatment of depression, or anxiety disorders. These results are especially important because several clinical studies have revealed that using drugs that block both transporters may represent a more effective antidepressant treatment for severe or refractory depression than a single selective treatment (Nelson, 1998 ; Thase et al., 2001).

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by SmithKline Beecham Laboratories. The Department of Neuropharmacology is an 'Équipe d'accueil' (EA 3544 - 2002-2005) from the 'Ministère de la Jeunesse, de l'Éducation Nationale et de la Recherche' (MJENR - France). The authors are grateful to Bruno Guiard, Jean Philippe Guilloux and Bríd Á. Nic Dhonnchadha from the two labs in Châtenay-Malabry and Nantes for critical reading of the manuscript.

References

- ARBORELIUS, L., NOMIKOS, G.G., HERTEL, P., SALMI, P., GRILLNER, P., HOOK, B.B., HACKSELL, U. & SVENSSON, T.H. (1996). The 5-HT_{1A} receptor antagonist (S)-UH-301 augments the increase in extracellular concentrations of 5-HT in the frontal cortex produced by both acute and chronic treatment with citalopram. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **353**, 630-640.
- ARTIGAS, F. (1995). Selective Serotonin/Noradrenaline Reuptake Inhibitors (SNRIs). *CNS Drugs*, **4**, 79-89.
- BARKER, E.L., KIMMEL, H.L. & BLAKELY, R.D. (1994). Chimeric human and rat serotonin transporters reveal domains involved in recognition of transporter ligands. *Mol. Pharmacol.*, **46**, 799-807.
- BEÏQUE, J.C., LAVOIE, N., De MONTIGNY, C. & DEBONNEL, G. (1998). Affinities of venlafaxine and various reuptake inhibitors for the serotonin and norepinephrine transporters. *Eur. J. Pharmacol.*, **349**, 129-132.
- BEYER, C.E., BOIKESS, S., LUO, B. & DAWSON, L.A. (2002). Comparison of the effects of antidepressants on norepinephrine and serotonin concentrations in the rat frontal cortex: an in-vivo microdialysis study. *J. Psychopharmacol.*, **16**, 297-304.
- BLIER, P. & DE MONTIGNY, C. (1994). Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol. Sci.*, **15**, 220-226.
- BOLDEN-WATSON, C. & RICHELSON, E. (1993). Blockade by newly developed antidepressants of biogenic uptake into rat brain synaptosomes. *Life Sci.*, **52**, 1023-1029.
- BYMASTER, F.P., ZHANG, W., CARTER, P.A., SHAW, J., CHERNET, E., PHEBUS, L., WONG, D.T. & PERRY, K.W. (2002). Fluoxetine, but not other selective serotonin reuptake inhibitors, increases norepinephrine and dopamine extracellular levels in prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, **160**, 353-361.

- DAWSON, L.A., NGUYEN, H.Q. & GEIGER, A. (1999). Effects of venlafaxine on extracellular concentrations of 5-HT and noradrenaline in the rat frontal cortex: augmentation via 5-HT_{1A} receptor antagonism. *Neuropharmacology*, **38**, 1153-1163.
- DEAKIN, B. & DURSUN, S. (2002). Optimizing antidepressant treatment: efficacy and tolerability. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, **Suppl 1**, S13-24.
- DELGADO, P.L., PRICE, L.H., HENINGER, G.R. & CHARNEY, D.S. (1992). Neurochemistry of affective disorders. In: *Handbook of affective disorders* (Paykel E. S., Ed.), pp 219-253. Churchill Livingstone, New York.
- EINARSON, T.R., ARIKIAN, S.R., CASCIANO, J. & DOYLE, J.J. (1999). Comparison of extended-release venlafaxine, selective serotonin reuptake inhibitors, and tricyclic antidepressants in the treatment of depression: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Ther*, **21**, 296-308.
- FRANKLIN, K.B. & PAXINOS, G. (1996). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, Toronto/San Diego.
- GILMOR, M.L., OWENS, M.J. & NEMEROFF, C.B. (2002). Inhibition of norepinephrine uptake in patients with major depression treated with paroxetine. *Am J Psychiatry*, **159**, 1702-1710.
- GOBERT, A., RIVET, J.M., CISTARELLI, L., MELON, C. & MILLAN, M.J. (1997). Alpha2-adrenoreceptor blockade markedly potentiates duloxetine- and fluoxetine-induced increases in noradrenaline, dopamine and serotonin levels in the frontal cortex of freely moving rats. *J. Neurochem.*, **69**, 2616-2619.
- GUR, E., DREMENCOV, E., LERER, B. & NEWMAN, M.E. (1999). Venlafaxine : acute and chronic effects on 5-hydroxytryptamine levels in rat brain in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, **372**, 17-24.

- HÁJÓS-KORCSOK, E., McQUADE, R. & SHARP, T. (1999). Influence of 5-HT_{1A} receptors on central noradrenergic system activity: microdialysis studies using (±)-MDL73005EF and its enantiomers. *Neuropharmacology*, **38**, 299-306.
- HÁJÓS-KORCSOK, E., McTAVISH S.F. & SHARP, T. (2000). Effect of a selective 5-hydroxytryptamine reuptake inhibitor on brain extracellular noradrenaline: microdialysis studies using paroxetine. *Eur. J. Pharmacol.*, **407**, 101-107.
- HATANAKA, K., YATSUGI, S. & YAMAGUCHI, T. (2000). Effect of acute treatment with YM992 on extracellular norepinephrine levels in the rat frontal cortex. *Eur. J. Pharmacol.*, **395**, 31-36.
- HUGHES, Z.A. & STANFORD, S.C. (1998). Evidence from microdialysis and synaptosomal studies of rat cortex for noradrenaline uptake sites with different sensitivities to SSRIs. *Br. J. Pharmacol.*, **124**, 1141-1148.
- HUGHES, Z.A. & STANFORD, S.C. (1996). Increased noradrenaline efflux induced by local infusion of fluoxetine in the rat frontal cortex. *Eur. J. Pharmacol.*, **317**, 83-90.
- KOCH, S., PERRY, K.W., NELSON, D.L., CONWAY, R.G., THRELKELD, P.G. & BYMASTER, F.P. (2002). R-fluoxetine increases extracellular DA, NE, as well as 5-HT in rat prefrontal cortex and hypothalamus: an in vivo microdialysis and receptor binding study. *Neuropsychopharmacology*, **27**, 949-959.
- MALAGIE, I., DESLANDES A. & GARDIER, A.M. (2000). Effects of acute and chronic tianeptine administration on serotonin outflow in rats: comparison with paroxetine by using in vivo microdialysis *Eur. J. Pharmacol.*, **403**, 55-65.
- MALAGIE, I., TRILLAT, A.C., BOURIN, M., JACQUOT, C., HEN, R. & GARDIER, A.M. (2001). 5-HT_{1B} autoreceptors limit the effects of selective serotonin re-uptake inhibitors in mouse hippocampus and frontal cortex. *J. Neurochem.*, **76**, 865-871.

- MATEO, Y., PINEDA, J., UDEGO, L. & MEANA, J.J. (1998). Somatodendritic α 2-adrenoreceptors in the locus coeruleus are involved in the in vivo modulation of cortical noradrenaline release by the antidepressant desipramine. *J. Neurochem.*, **71**, 790-798.
- MATEO, Y., RUIZ-ORTEGA, J.A., UDEGO, L. & MEANA, J.J. (2000). Inhibition of 5-hydroxytryptamine reuptake by the antidepressant citalopram in the locus coeruleus modulates the rat brain noradrenergic transmission in vivo. *Neuropharmacology*, **39**, 2036-2043.
- MILLAN, M.J., GOBERT, A., GIRARDON, S. & DEKEYNE, A. (1999). Citalopram elicits a discriminative stimulus in rats at dose selectively increasing extracellular levels of serotonin vs. dopamine and noradrenaline. *Eur. J. Pharmacol.*, **364**, 147-150.
- MILLAN, M.J., LEJEUNE, F. & GOBERT, A. (2000). Reciprocal autoreceptor and heteroreceptor control of serotonergic, dopaminergic and noradrenergic transmission in the frontal cortex: relevance to the actions of antidepressant agents. *J. Psychopharmacol.*, **14**, 114-138.
- MILLAN, M.J., GOBERT, A., LEJEUNE, F., NEWMAN-TANCREDI, A., RIVET, J.M., AUCLAIR, A. & PEGLION, J.L. (2001). S33005, a novel ligand at both serotonin and norepinephrine transporters : I. Receptor binding, electrophysiological, and neurochemical profile in comparison with venlafaxine, reboxetine, citalopram, and clomipramine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **298**, 565-580.
- NELSON, J.C. (1998). Augmentation strategies with serotonergic-noradrenergic combinations. *J. Clin. Psychiatry*, **59**, 65-68.
- NUTT, D.J. (2002). The neuropharmacology of serotonin and noradrenaline in depression. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, **17**, S1-S12.
- OWENS, M.J., KNIGHT, D.L. & NEMEROFF, C.B. (2000). Paroxetine binding to the rat norepinephrine transporter in vivo. *Biol. Psychiatry*, **47**, 842-845.

- REDROBE, J.P., BOURIN, M. (1998a) Dose-dependant influence of buspirone on the activities of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test. *Psychopharmacology*, **138**, 198-206.
- REDROBE, J.P., BOURIN, M., COLOMBEL, M.C. & BAKER, G.B. (1998b). Psychopharmacological profile of the selective serotonin reuptake inhibitor, paroxetine: implication of noradrenergic and serotonergic mechanisms. *J. Psychopharmacol.*, **12**, 155-161.
- REDROBE, J.P., BOURIN, M., COLOMBEL, M.C. & BAKER, G.B. (1998c). Dose-dependent noradrenergic and serotonergic properties of venlafaxine in animal models indicative of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, **138**, 1-8.
- SACCHETTI, G., BERNINI, M., BIANCHETTI, A., PARINI, S., IVERNIZZI, R.W., & SAMANIN, R. (1999). Studies on acute and chronic effects of reboxetine on extracellular noradrenaline and other monoamines in the rat brain. *Br. J. Pharmacol.*, **128**, 1332-1338.
- SÁNCHEZ, C. & HYTTEL, J. (1999). Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and on receptor binding. *Cell. Mol. Neurobiol.*, **19**, 467-489.
- SEO, D.O., SHIN, C.Y., LEE, C.J., DAILEY, J.W., REITH, M.E.A., JOB, P.C. & KO, H.H. (1999). Effect of alterations in extracellular norepinephrine on adrenoceptors: a microdialysis study in freely moving rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **365**, 39-46.
- SHACHAR, D., KLEIN, E., TABAK, A. & FINDBERG, J.P. (1997). Effect of single and repeated administration of fluvoxamine on noradrenaline release in rat brain. *Eur. J. Pharmacol.* **332**, 237-243.
- SHINKAI, K., YOSHIMURA, R., TOYOHARA, Y., YANAGIHARA, N. & NAKAMURA, J. (2002). Inhibition mechanism of paroxetine, a selective serotonin reuptake inhibitor, on norepinephrine transporter activity. *Int J. Neuropsychopharmacol.*, **5**, S67.

- STANFORD, S.C. (1996). Prozac: panacea or puzzle? *Trends Pharmacological Sci.*, **17**, 150-154.
- SZABO, S.T., de MONTIGNY, C. & BLIER, P. (1999). Modulation of noradrenergic neuronal firing by selective serotonin reuptake blockers. *Br. J. Pharmacol.*, **126**, 568-571.
- TALLARIDA, R.J. & MURRAY, R.B. (1987). *Manual of Pharmacological Calculations with Computer Programs*, Springer-Verlag, New York, U.S.A.
- TANDA, G., CARBONI, E., FRAU, R. & DI CHIARA, G. (1994). Increase of extracellular dopamine in the prefrontal cortex : a trait of drugs with antidepressant potential ? *Psychopharmacology*, **115**, 285-288.
- THASE, M.E., ENTSUAH, A.R. & RUDOLPH, R.L. (2001). Remission rates during treatment with venlafaxine or selective serotonin reuptake inhibitors. *Br. J. Psychiatry*, **178**, 234-241.
- THOMAS, D.N., NUTT, D.J. & HOLMAN, R.B. (1998). Sertraline, a selective serotonin reuptake inhibitor modulates extracellular noradrenaline in the rat frontal cortex. *J. Psychopharmacol.*, **12**, 366-370.
- VETULANI, J. & NALEPA, I. (2000). Antidepressants: past, present and future. *Eur. J. Pharmacol.*, **405**, 351-363.

Table 1: *In vivo* microdialysis in rat Frontal Cortex: effects of a single administration of Selective Serotonin Reuptake Inhibitor or Serotonin/Noradrenaline Reuptake inhibitor on serotonin and noradrenaline outflow

Antidepressants	Dose (mg/kg)	5-HT	NA	References
fluoxetine	10	↑↑	↑	Gobert et al., 1997
	30	ND	↑	Hatanaka et al., 2000
	10 s.c.	↑↑	↑↑	Bymaster et al., 2002
	30 s.c.	0	0	Beyer et al., 2002
	20 i.p.	↑↑	↑↑	Koch et al., 2002
paroxetine	5 s.c.	↑↑	0	Hajos-Korsok et al., 2000 (in the hippocampus)
	10	↑↑	↑ (NaCl ↑ B0)	Millan et al., 2000
	3	↑↑	0	Bymaster et al., 2002
	30 s.c.	0	↑↑	Beyer et al., 2002
citalopram	2.5	↑↑	↑ but ClNa too (St, Nacc, FCx)	Millan et al., 1999
	30	ND	0	Hatanaka et al., 1999
	10	↑↑	0	Bymaster et al., 2002
venlafaxine (SNRI)	10	ND	↑↑	Hatanaka et al., 1999
	10	↑↑	↑↑	Millan et al., 2001
	3-50	0	↑↑	Dawson et al., 1999
	3 s.c.	0	↑↑	Beyer et al., 2002
sertraline	10 i.p.	ND	0	Thomas et al., 1998
fluvoxamine	12 i.p	↑↑	↑	Shachar et al., 1997

Table 2: Comparison-effect relationship for the acute paroxetine, citalopram and venlafaxine administration in the medial prefrontal cortex of Swiss mice

	Potency		Efficacy	
	ED₅₀ (dialysate 5-HT) (mg/kg)	ED₅₀ (dialysate NA) (mg/kg)	E_{max} (dialysate 5-HT) (% of maximal increase)	E_{max} (dialysate NA) (% of maximal increase)
paroxetine	N.D.	1.80 (1.70 to 1.90)	231.4 ± 15.41 ***; +++	183.10 ± 19.60
citalopram	4.20 (3.80 to 4.60)	3.90 (3.30 to 4.50)	462.5 ± 43.80 ++; @@@	245.0 ± 45.15
venlafaxine	6.65 (6.50 to 6.80)	N.D.	634.45 ± 59.59	N.D.

The *potency* was calculated as the ED50 values to induce increases in extracellular levels of 5-HT and NA with a 95% confidence interval (in parenthesis).

The *efficacy* was calculated as the maximal effects based on the AUC values of the antidepressant drugs on dialysate 5-HT and NA.

E_{max} (mean ± S.E. M. ; dialysate 5-HT): F(2,37)= 25.83, P<0.001

***P<0.001 when compared to citalopram

++P<0.01 and +++P<0.001 when compared to venlafaxine.

E_{max} (dialysate): NA F(2,42) 0.303, P=0.74

Comparison between E_{max} 5-HT and E_{max} NA for paroxetine: F(1,29)= 1.96, P=0.72

Comparison between E_{max} 5-HT and E_{max} NA for citalopram: F(1,28)= 12.1, P<0.002; the

Mann-Whitney U Test = 34.0; @@@P<0.001 when compared to E_{max} NA

N.D. not determined

Legends Tables

Table 1: Results from different microdialysis studies on the effect of various antidepressants on extracellular 5-HT and NA levels in rat Frontal cortex. 0 indicates an absence of effect on extracellular 5-HT or NA levels. ↑ indicates a moderate increase on extracellular 5-HT or NA levels. ↑↑ indicates a significant effect on extracellular 5-HT or NA levels, ND indicates that the measurement of this parameter was not performed by the authors.

Table 2: Dose-response curves allow us to determine a theoretical maximal effect. For each compound, values represent the potency ($EC_{50} \pm$ the 95% confidence intervals) and the efficacy (% of maximal increase $\pm$ SEM) in 5-HT and NA dialysates of paroxetine, citalopram and venlafaxine. N.D. indicates that the values could not be determined by the computer software Prism 2.0.

Legends

Figure 1: Effect of a single administration of paroxetine (Prx) (1A, B, C) (1, 4, 8 mg/kg) on extracellular 5-HT [5-HT]ext and NA levels [NA]ext in the medial prefrontal cortex of awake, freely moving naive Swiss mice. Data are means $\pm$ SEM (bars) values of extracellular 5-HT (◆, ♪ symbols) and NA (▣, ▤ symbols) levels expressed as percentages of baseline (B0) in Swiss mice following exposure to saline (♪ for 5-HT, ▤ for NA) or antidepressant drugs (◆ for 5-HT, ▣ for NA) respectively (n= 5-10 determination for each group). The arrows indicate drug injection. In the medial prefrontal cortex (1D) area under the curve (AUC, mean $\pm$ SEM) values were calculated for the amount of neurotransmitter 5-HT and NA outflow collected during 0-120 min post treatment for paroxetine. AUCs are expressed as a percentage of basal values for all antidepressants. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 relative to saline-treated control group.

Figure 2: Effect of a single administration of citalopram (Cital) (2A, 2B, 2C) (1, 4, 8 mg/kg) on extracellular 5-HT [5-HT]ext and NA levels [NA]ext in the medial prefrontal cortex of awake, freely moving naive Swiss mice. Data are means $\pm$ SEM (bars) values of extracellular 5-HT (◆, ♪ symbols) and NA (▣, ▤ symbols) levels expressed as percentages of baseline (B0) in Swiss mice following exposure to saline (♪ for 5-HT, ▤ for NA) or antidepressant drugs (◆ for 5-HT, ▣ for NA) respectively (n= 5-10 determination for each group). The arrows indicate drug injection. In the medial prefrontal cortex (2D) area under the curve (AUC, mean $\pm$ SEM) values were calculated for the amount of neurotransmitter 5-HT and NA outflow collected during 0-120 min post treatment for citalopram. AUCs are expressed as a percentage of basal values for all antidepressants. *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 relative to saline-treated control group.

Figure 3: Effect of a single administration of venlafaxine (Venla) (3A, 3B, 3C) (1, 4, 8 mg/kg) on extracellular 5-HT [5-HT]ext and NA levels [NA]ext in the medial prefrontal cortex of awake, freely moving naive Swiss mice. Data are means $\pm$ SEM (bars) values of extracellular 5-HT (◆, ♪ symbols) and NA (▣, ▤ symbols) levels expressed as percentages of baseline (B0) in Swiss mice following exposure to saline (♪ for 5-HT, ▤ for NA) or antidepressant drugs (◆ for 5-HT, ▣ for NA) respectively (n= 5-10 determination for each group). The arrows indicate drug injection. In the medial prefrontal cortex (3D) area under the curve (AUC, mean $\pm$ SEM) values were calculated for the amount of neurotransmitter 5-HT and NA outflow collected during 0-120 min post treatment for venlafaxine. AUCs are

expressed as a percentage of basal values for all antidepressants. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ relative to saline-treated control group.

Figure 4: In the medial prefrontal cortex, effect of a dose range of paroxetine, citalopram or venlafaxine on 5-HT or NA outflows represented by the area under the curve (AUC, mean $\pm$ SEM).

Figure 5: Effect of idazoxan on paroxetine-induced increase in extracellular NA levels in the medial prefrontal cortex (A). The first arrow represents injection of paroxetine (Prx) (4 mg/kg i.p.), and the second represents injection of saline (NaCl 0.9%) or idazoxan (1 mg/kg s.c.). Data are means $\pm$ SEM (bars) of extracellular NA levels expressed as percentage of baseline following treatment with Prx 4 mg/kg/NaCl 0.9% (■, $n=11$), Prx 4 mg/kg /idazoxan 1 mg/kg (◆, $n=10$) respectively. The means of Prx 4 mg/kg /NaCl 0.9% and Prx 4 mg/kg / idazoxan 1 mg/kg group have SEMs below the resolution of the graph. In the medial prefrontal cortex (B) area under the curve (AUC, mean $\pm$ SEM) values were calculated for the amount of neurotransmitter NA outflow collected during 0-180min post treatment. AUCs are expressed as a percentage of basal values for Prx/NaCl and Prx/idazoxan group. * $p < 0.05$ relative to Prx/NaCl group.

Figure 1: Effect of paroxetine on extracellular serotonin and noradrenaline levels in the medial prefrontal cortex of Swiss

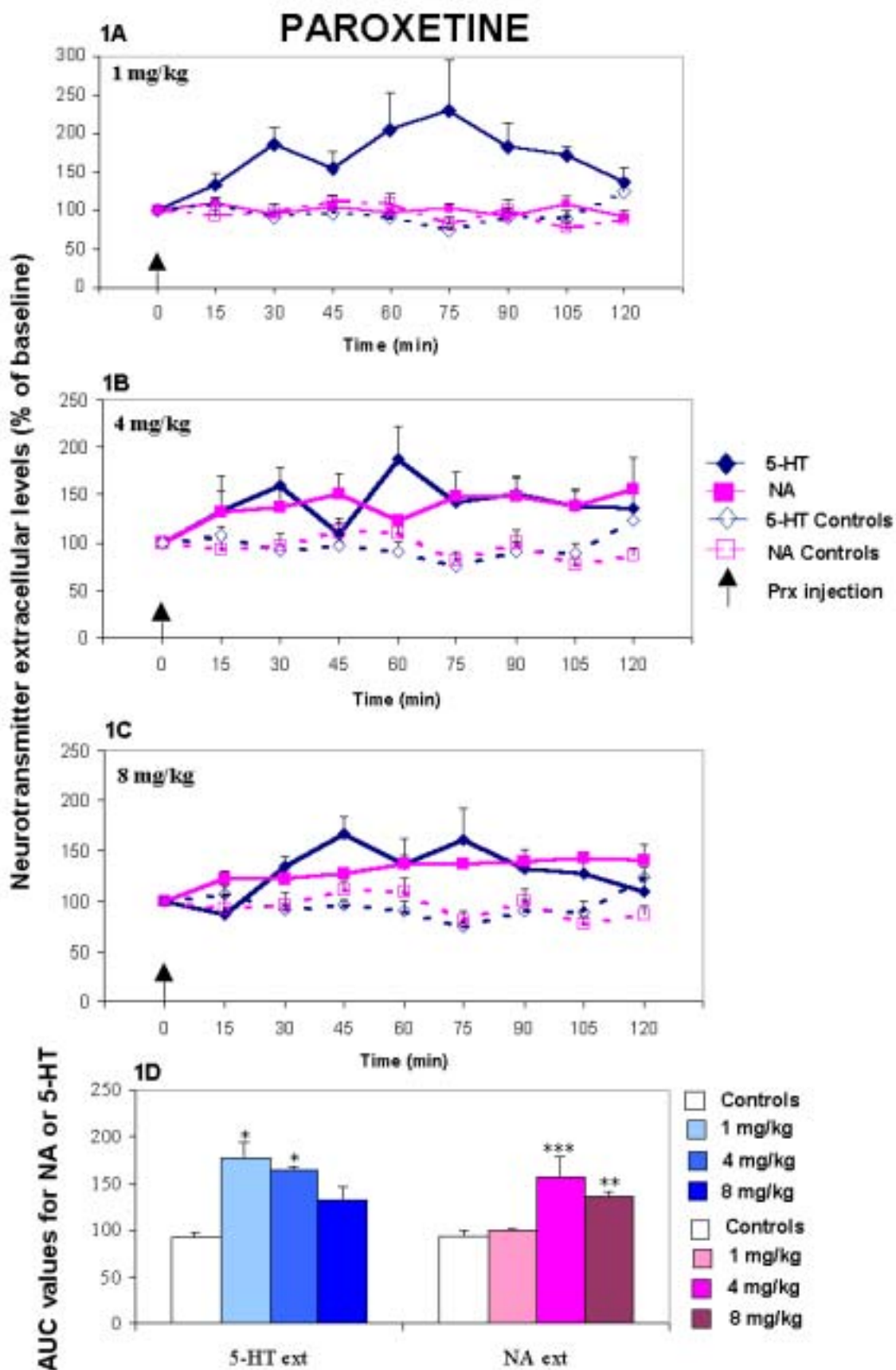


Figure 2: Effect of citalopram on extracellular serotonin and noradrenaline levels in the medial prefrontal cortex of Swiss mice

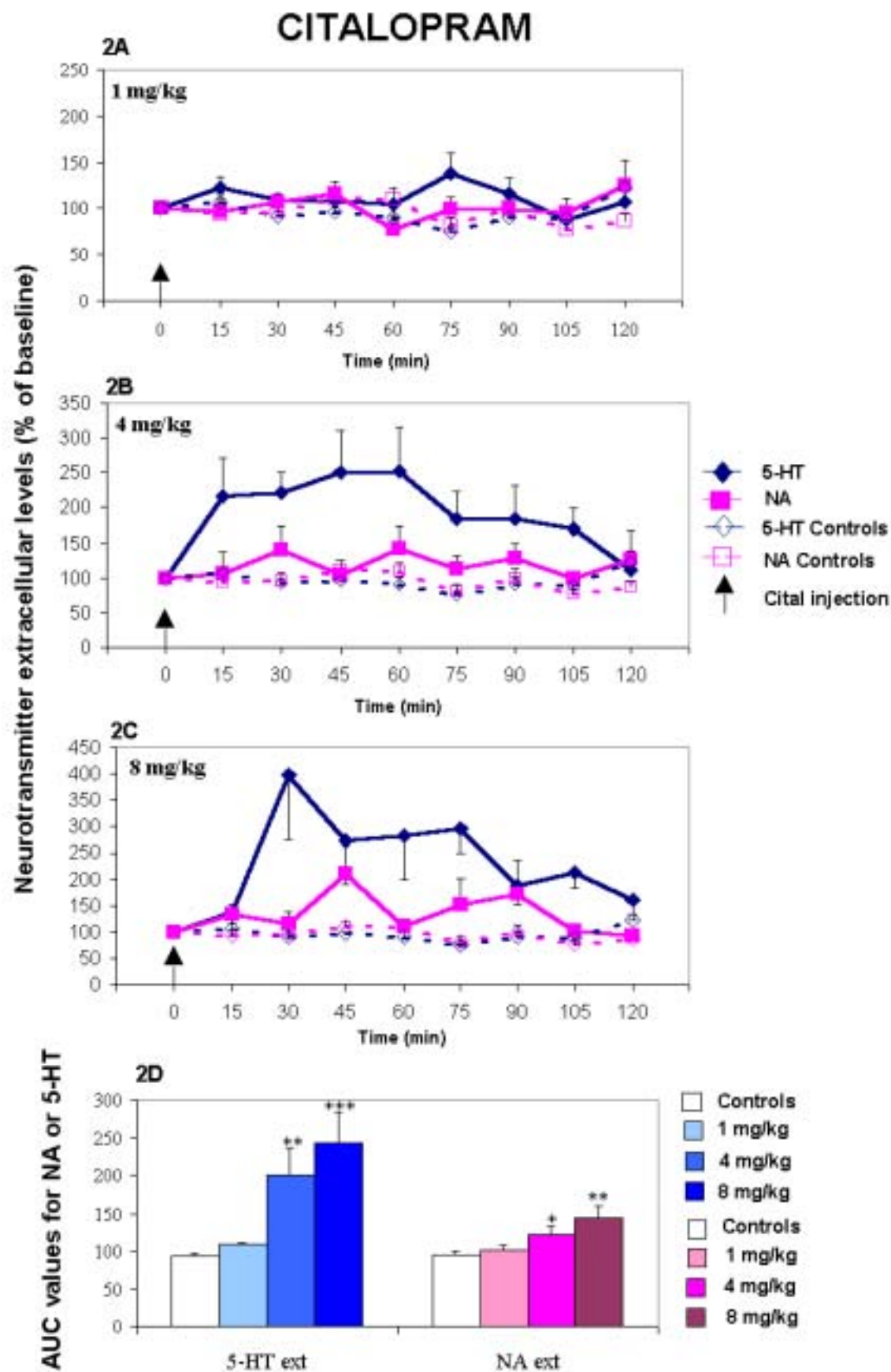


Figure 3: Effect of venlafaxine on extracellular serotonin and noradrenaline levels in the medial prefrontal cortex of Swiss mice

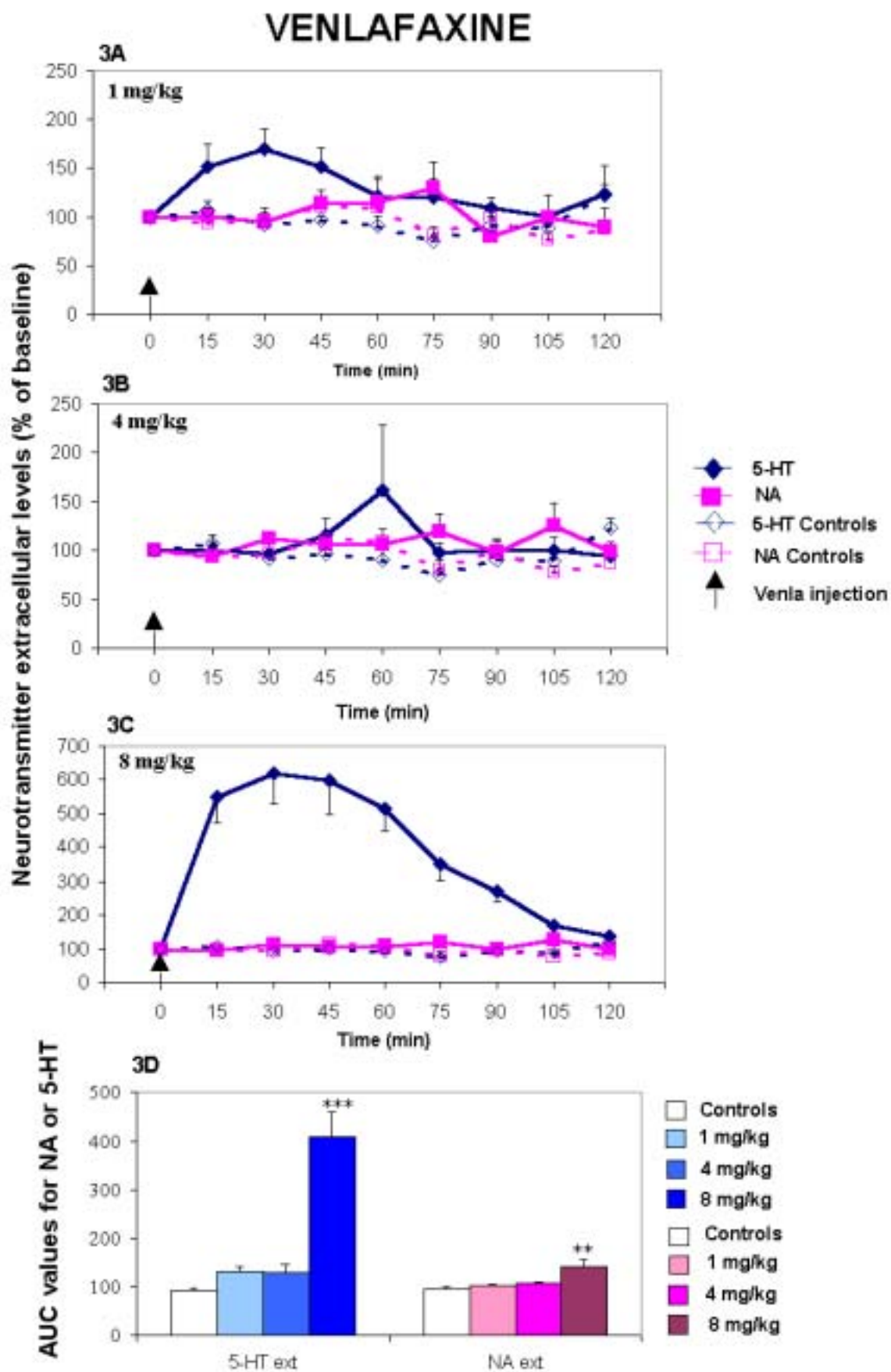


Figure 4: Dose-response relationship of acute administration of paroxetine, citalopram and venlafaxine on cortical extracellular levels serotonin and noradrenaline in mice

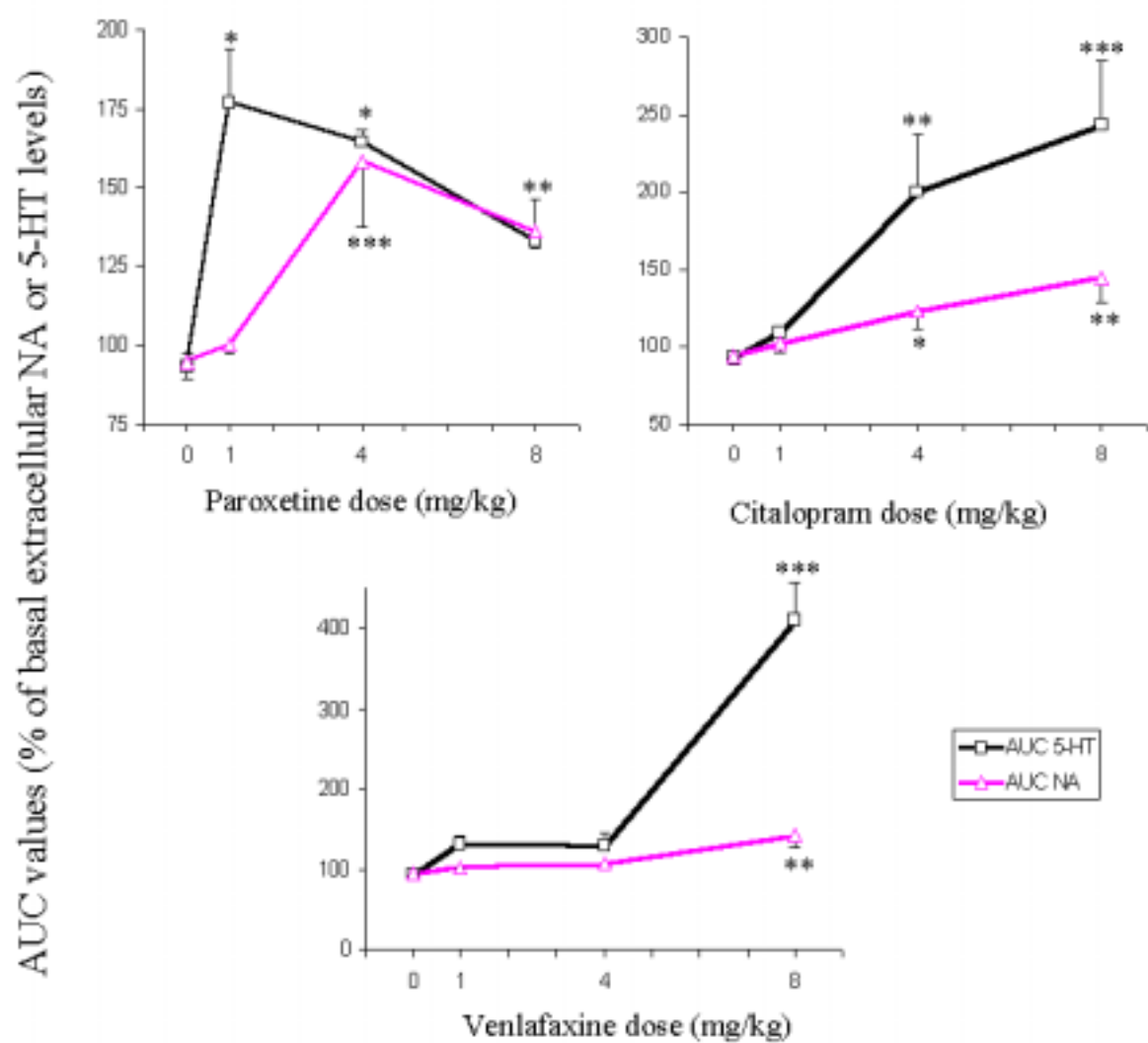
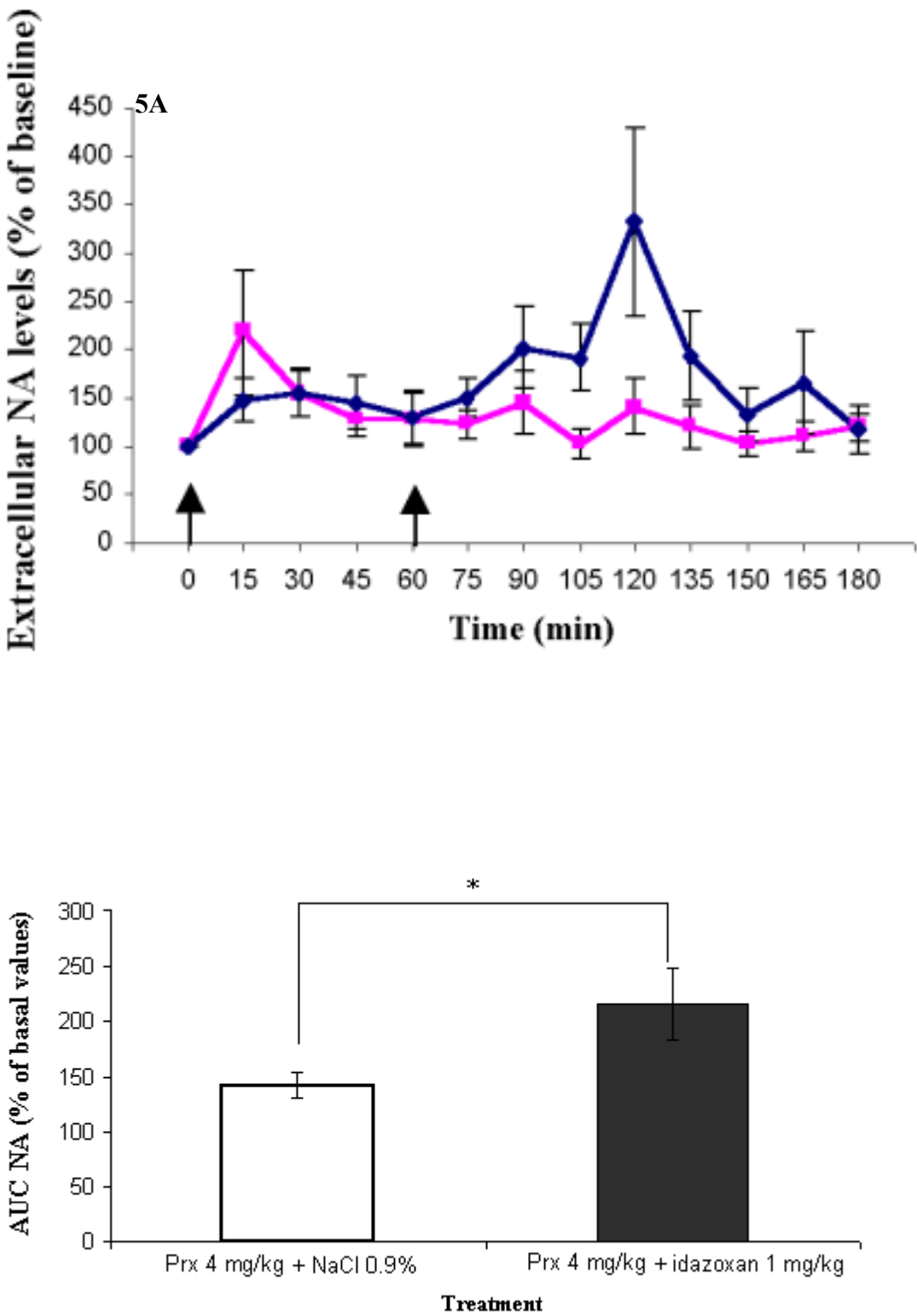


Figure 5: Effects of alpha2 receptor antagonist, idazoxan, on paroxetine-induced increase in extracellular noradrenaline levels in the medial prefrontal cortex of Swiss mice



Synthèse des résultats l'étude 6

Nos résultats indiquent, qu'*in vivo*, en analysant les aires sous la courbe (ASC) des concentrations de 5-HT et de NA accumulées dans le milieu extracellulaire corticale sur une période de 120 minutes post-traitement, la paroxétine, à faible dose, augmente les [5-HT]_{ext} dans le cortex préfrontal de la souris Swiss, tandis qu'à forte dose, elle bloque aussi bien le transporteur de la NA que celui de la 5-HT. Le citalopram qui lui exerce une action quantitativement comparable sur le transporteur de la 5-HT et de la NA à faible dose, devient plus sélectif du transporteur de la 5-HT à 4 et 8 mg/kg. Quant à la venlafaxine, elle exerce son action exclusivement à la plus forte dose testée en augmentant les concentrations extracellulaires de 5-HT beaucoup plus que celles de NA dans le cortex préfrontal. Les effets des différents antidépresseurs testés sur les [5-HT]_{ext} et de [NA]_{ext}, nous ont permis de déterminer leur puissance (ED₅₀) et leur efficacité pour les transporteurs de la 5-HT et de la NA. Des trois antidépresseurs testés, la venlafaxine, en augmentant les concentrations extracellulaires de 5-HT de plus de 620%, est apparue avoir une plus grande efficacité pour bloquer le transporteur de la 5-HT que le citalopram et la paroxétine (231 et 462% respectivement) tandis que ces deux IRSS ont la plus grande efficacité pour bloquer le transporteur de la NA (respectivement 245 et 183% pour le citalopram et la paroxétine). Il ne fut pas possible déterminer une CE₅₀ pour l'action de la paroxétine sur le transporteur de la 5-HT car celle-ci est déjà maximale à la plus faible dose, et le reste aux doses de 4 et 8 mg/kg. La CE₅₀ (2,2 mg/kg) calculée pour l'action de cet antidépresseur sur le transporteur de la NA, nous a permis de conclure qu'il était, des trois antidépresseurs testés, le plus puissant pour inhiber ce transporteur.

L'idazoxan administré 60 min après la paroxétine, a potentialisé l'augmentation des concentrations extracellulaires de NA induite par cet IRSS, confirmant le rôle important des récepteurs α_2 dans la médiation de ses effets noradrénergiques.

Étude 7 : corrélation entre le modèle comportemental et l'approche neurobiologique

Comparaison des effets de l'administration chronique de paroxétine et de citalopram par une double approche *in vivo* : microdialyse intracérébrale et étude comportementale chez la souris Swiss éveillée

7^{ème} Congrès annuel de la Société Française de Pharmacologie, résumé publié dans Fundamental & Clinical Pharmacology, 2003, O92, 17, 242

Effects of chronic paroxetine and citalopram treatment by dual in vivo approaches: an intracerebral microdialysis and a behavioural studies in awake Swiss mice.

Denis Joseph Paul DAVID, Michel BOURIN, Gaëlle JEGO, Cédric PRZYBYLSKI, Pascale JOLLIET, Alain M. GARDIER

Objectif de l'étude 7

Une récente étude a mesuré l'inhibition de la capture de la [^3H]5-HT et de la [^3H]NA en appliquant du sérum de patients atteints d'épisode dépressif majeur et traités par des doses croissantes de paroxétine (20, 40 et 60 mg/j) sur des cellules HEK-293 en culture surexprimant le SERT ou le NET humains (Gilmor et al., 2002). Les résultats de cette expérience indiquent que la paroxétine se lie non seulement sur le transporteur sérotoninergique mais aussi sur le transporteur noradrénergique car lorsque la concentration sérique de paroxétine est de 100 ng/ml l'inhibition du NET est de 27%, tandis qu'elle est de 43% dès que les concentrations sériques atteignent 200 ng/ml. Cette étude permet de conclure que la paroxétine, classée *in vitro* comme IRSS peut agir *in vivo* sur les deux transporteurs de neurotransmetteurs.

En clinique, le bénéfice thérapeutique des antidépresseurs se manifeste seulement après 2 à 3 semaines de traitement. Par une double approche séparée *in vivo*, en utilisant la microdialyse intracérébrale et le FST, nous avons voulu étudier les effets d'un traitement chronique par de la paroxétine et du citalopram chez la souris Swiss sur les concentrations extracellulaires corticales de sérotonine et de noradrénaline et d'un point de vue comportemental sur la baisse du temps d'immobilité, caractéristique de l'effet « antidépresseur-like », mesurée dans le FST. Pour cela, pendant 14 jours le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) ou l'antidépresseur (paroxétine ou citalopram, 1 mg/kg/jour) ont été délivrés par le biais de mini-pompes osmotiques implantées dans le péritoine chez la Souris. Au 14^{ème} jour, les mini-pompes ont été retirées et concernant l'étude de microdialyse, les sondes de dialyses ont été implantées dans le cortex frontal. Au 15^{ème} jour, les doses tests de paroxétine ou de citalopram (1, 4 et 8 mg/kg pour l'étude neurobiochimique, et uniquement à la dose de 8 mg/kg pour l'étude comportementale) ont été administrées 1h après la collecte des quatre premiers dialysats (mesure des [5-HT]ext et des [NA]ext) pour l'étude de microdialyse ou 30 min avant la réalisation du FST (figure 20).

PROTOCOLE EXPERIMENTAL CHRONIQUE

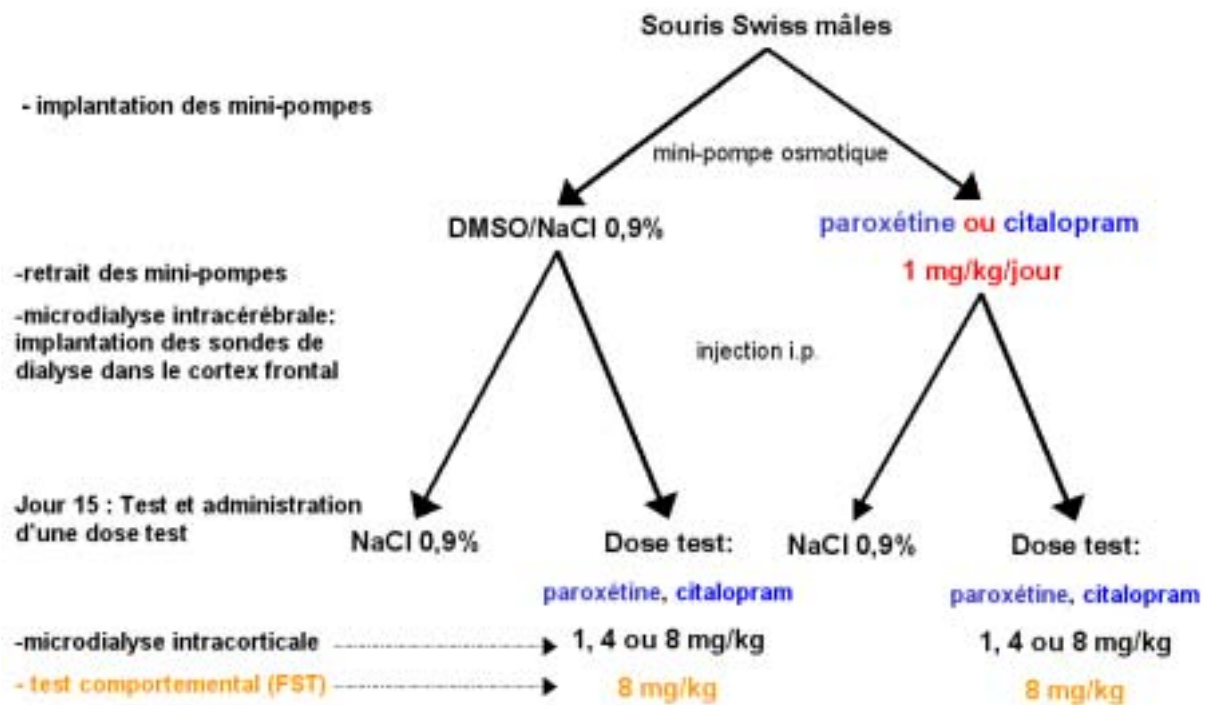


Figure 20 – Schéma du protocole expérimental permettant de comparer les effets de l'administration chronique de paroxétine ou de citalopram sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline (microdialyse intracérébrale) ou sur la baisse du temps d'immobilité (test de la nage forcée)

Résultats de l'étude 7

Effet de l'administration chronique d'un IRSS, la paroxétine ou le citalopram sur les concentrations extracellulaires de sérotonine

Dans les expériences de microdialyse, après 14 jours de traitement par le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v), l'administration d'une dose unique de paroxétine (1 ou 4 mg/kg, i.p.) chez les souris Swiss provoque une augmentation statistiquement significative des [5-HT]ext dans le cortex médian préfrontal ($P < 0,05$). Après un traitement chronique de paroxétine (1 mg/kg) pendant 14 jours, l'administration d'une dose test de paroxétine aux doses de 4 et 8 mg/kg augmente elle aussi les [5-HT]ext lors d'un challenge ($P < 0,05$; $P < 0,01$ respectivement) (figure 21). De plus, l'ASC mesurée chez les souris ayant été traitées chroniquement avec la paroxétine et ayant reçu 8 mg/kg de cet IRSS ($ASC = 203,4\% \pm 13,9$) est statistiquement plus importante que celle mesurée chez les souris ayant reçu le même challenge, mais traitées chroniquement avec le véhicule ($ASC = 133,0\% \pm 12,9$) ($P < 0,01$).

L'administration de citalopram aux doses de 4 mg/kg et 8 mg/kg ($P < 0,01$; $P < 0,001$), après 14 jours de traitement par le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) augmente de manière statistiquement significative les [5-HT]ext corticales (figure 22). Après un traitement chronique par du citalopram (1 mg/kg) pendant 14 jours, quelle que soit la dose challenge administrée, i.e., 1, 4 et 8 mg/kg, une augmentation significative des [5-HT]ext est observée. De plus, l'administration de la dose challenge de citalopram la plus faible testée (1 mg/kg), provoque une augmentation significativement plus importante de l'ASC ($ASC = 198,4\% \pm 47,3$) lorsque les souris ont été traitées pendant 14 jours avec l'antidépresseur comparées à celles ayant reçu le véhicule ($ASC = 109,6\% \pm 2,1$) ($P < 0,05$).

Effet de l'administration chronique d'un IRSS, la paroxétine ou le citalopram sur les concentrations extracellulaires de noradrénaline

Un challenge de paroxétine aux doses de 4 et 8 mg/kg augmente significativement les [NA]ext corticales après traitement par le véhicule pendant 14 jours tandis que ces mêmes doses tests ne provoquent aucun effet sur les [NA]ext. L'ASC des [NA]ext correspondant aux échantillons recueillis après l'administration d'un challenge de paroxétine à la dose de 4 et 8 mg/kg à des souris ayant reçu le véhicule (à 4 mg/kg l'ASC = $158,1\% \pm 20,6$; à 8 mg/kg

l'ASC = $136,2\% \pm 5,2$) est significativement plus importante que celle mesurée pour les mêmes doses administrées à des souris ayant reçu un traitement chronique d'antidépresseur, l'ASC est de $112,9\% \pm 3,2$ à 4 mg/kg ; $110,6\% \pm 4,9$ à 8 mg/kg ($P < 0,001$) (figure 23).

L'administration d'une dose test de citalopram (4 et 8 mg/kg, i.p.) augmente de manière significative les [NA]ext aussi bien après 14 jours de traitement par le véhicule qu'après 14 jours de traitement par cet IRSS (1 mg/kg) ($P < 0,05$; $P < 0,01$). Par conséquent les ASC ne sont pas statistiquement différentes entre les deux groupes de souris (figure 24).

Effet de l'administration chronique d'un IRSS, la paroxétine ou le citalopram sur le temps d'immobilité dans le test de la nage forcée

L'administration d'une seule dose test d'un IRSS (paroxétine ou citalopram à 8 mg/kg) exerce un effet « antidépresseur-like » après 14 jours de traitement par le véhicule puisque l'on observe une baisse du temps d'immobilité statistiquement significative respectivement de 16 s et 23 s pour la paroxétine ($P < 0,001$) et le citalopram ($P < 0,001$) (figure 25). De même, après 14 jours de traitement chronique avec la paroxétine ou le citalopram (1 mg/kg), l'administration d'une dose test de l'IRSS respectif diminue statistiquement l'effet anti-immobilité de 26 s ($P < 0,001$) pour la paroxétine et de 15 s pour le citalopram ($P < 0,005$). Cependant, lorsque l'on compare l'effet de la dose test de paroxétine dans le groupe traitement chronique avec cet antidépresseur par rapport à l'effet dans le groupe traitement chronique avec le véhicule, on observe une potentialisation de l'effet « antidépresseur-like » ($P < 0,05$). Cette potentialisation de l'effet anti-immobilité observée après le traitement chronique avec la paroxétine, n'est pas reproduite pour le citalopram. Il en résulte donc une différence d'effet statistiquement significative lorsque l'on compare les groupes d'animaux ayant reçu un des deux antidépresseurs IRSS (1 mg/kg/j pendant 14 jours) ($P < 0,05$) de façon chronique.

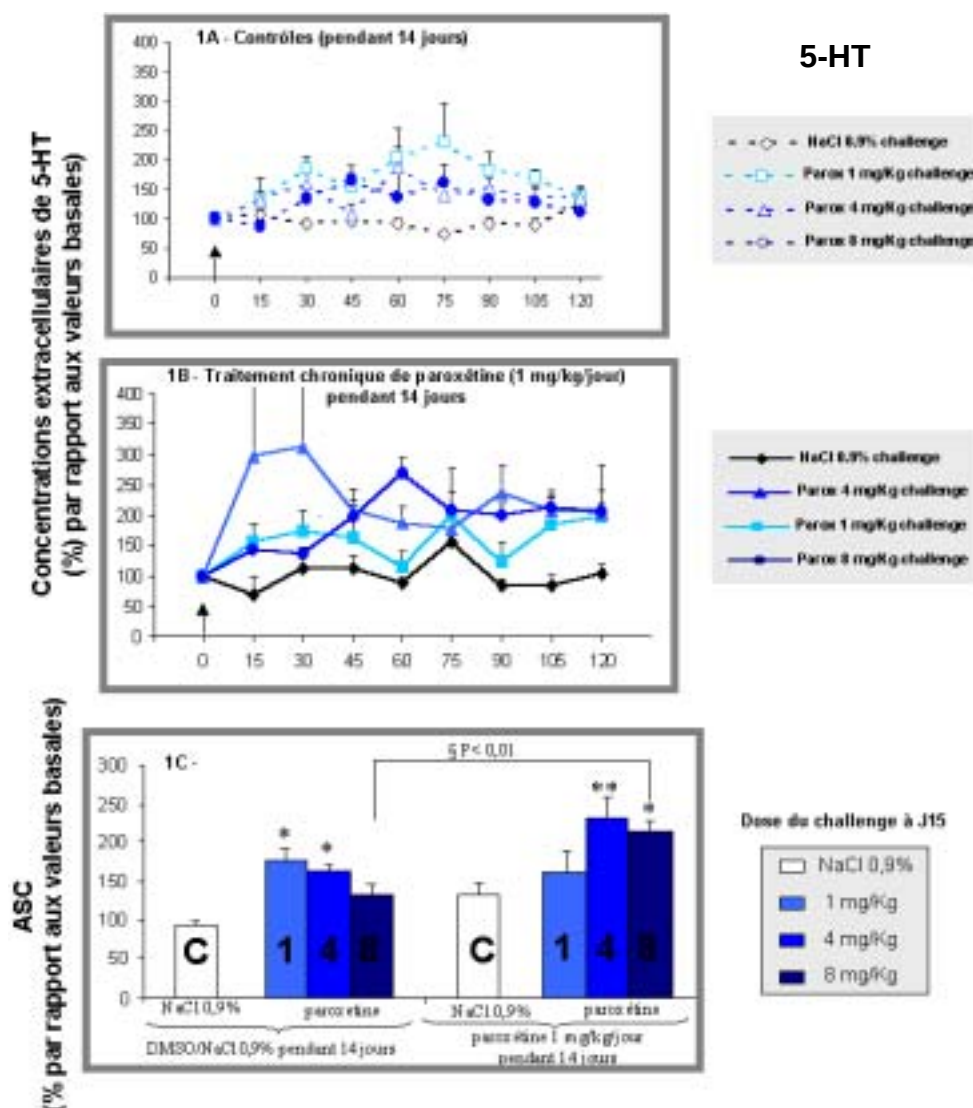


Figure 21 – Effets d’une dose test de paroxétine (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de sérotonine chez des souris ayant reçu de la paroxétine (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours)

Les données sont les moyennes $\pm$ écart standard à la moyenne (E.S.M.) des concentrations extracellulaires de 5-HT exprimées en pourcentages de variations de la concentration basale (à t_0) chez les souris Swiss pour 5 à 10 souris/groupe (fig 1A et 1B). L’administration de la dose test est représentée par une flèche. Dans le cortex médian préfrontal (fig 1C), les valeurs calculées des aires sous la courbe (ASC; moyenne $\pm$ E.S.M.) représentent la somme des concentrations extracellulaires de 5-HT collectées pendant une durée de 120 min suivant le traitement avec le challenge et sont exprimées en pourcentage des valeurs basales. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, par comparaison au groupe NaCl 0,9 % correspondant ; § $P < 0,01$ par comparaison au groupe traité pendant 14 jours par le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v).

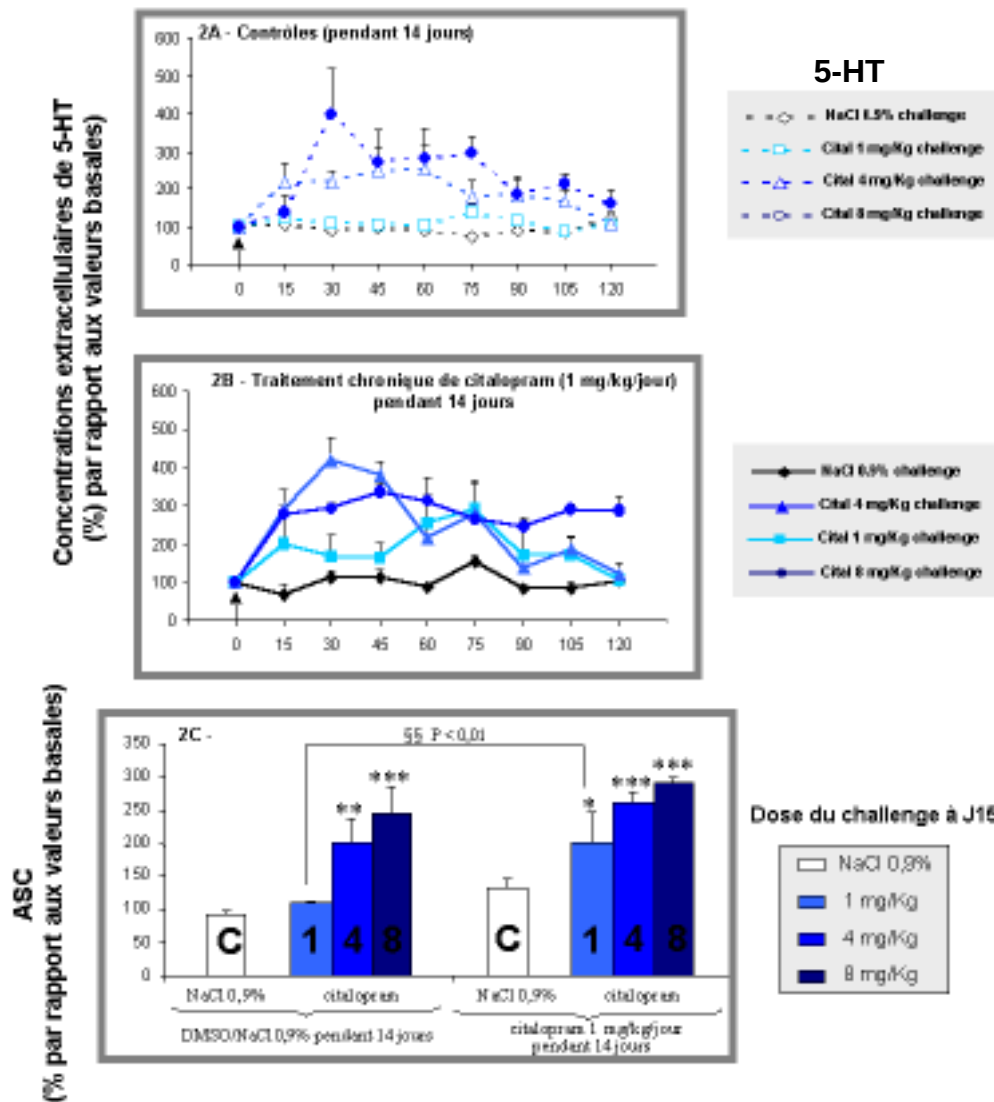


Figure 22 – Effets d’une dose test de citalopram (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de sérotonine chez des souris ayant reçu du citalopram (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours)

Les données sont les moyennes $\pm$ écart standard à la moyenne (E.S.M.) des concentrations extracellulaires de 5-HT exprimées en pourcentages de variations de la concentration basale (à t_0) chez les souris Swiss pour 5 à 10 souris/groupe (fig. 2A et 2B). L’administration de la dose test est représentée par une flèche. Dans le cortex médian préfrontal (fig 2C), les valeurs calculées des aires sous la courbe (ASC; moyenne $\pm$ E.S.M.) représentent la somme des concentrations extracellulaires de 5-HT collectées pendant une durée de 120 min suivant le traitement avec le challenge et sont exprimées en pourcentage des valeurs basales. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ par comparaison au groupe NaCl 0,9 % correspondant ; §§ $P < 0,01$ par comparaison au groupe traité pendant 14 jours par le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v).

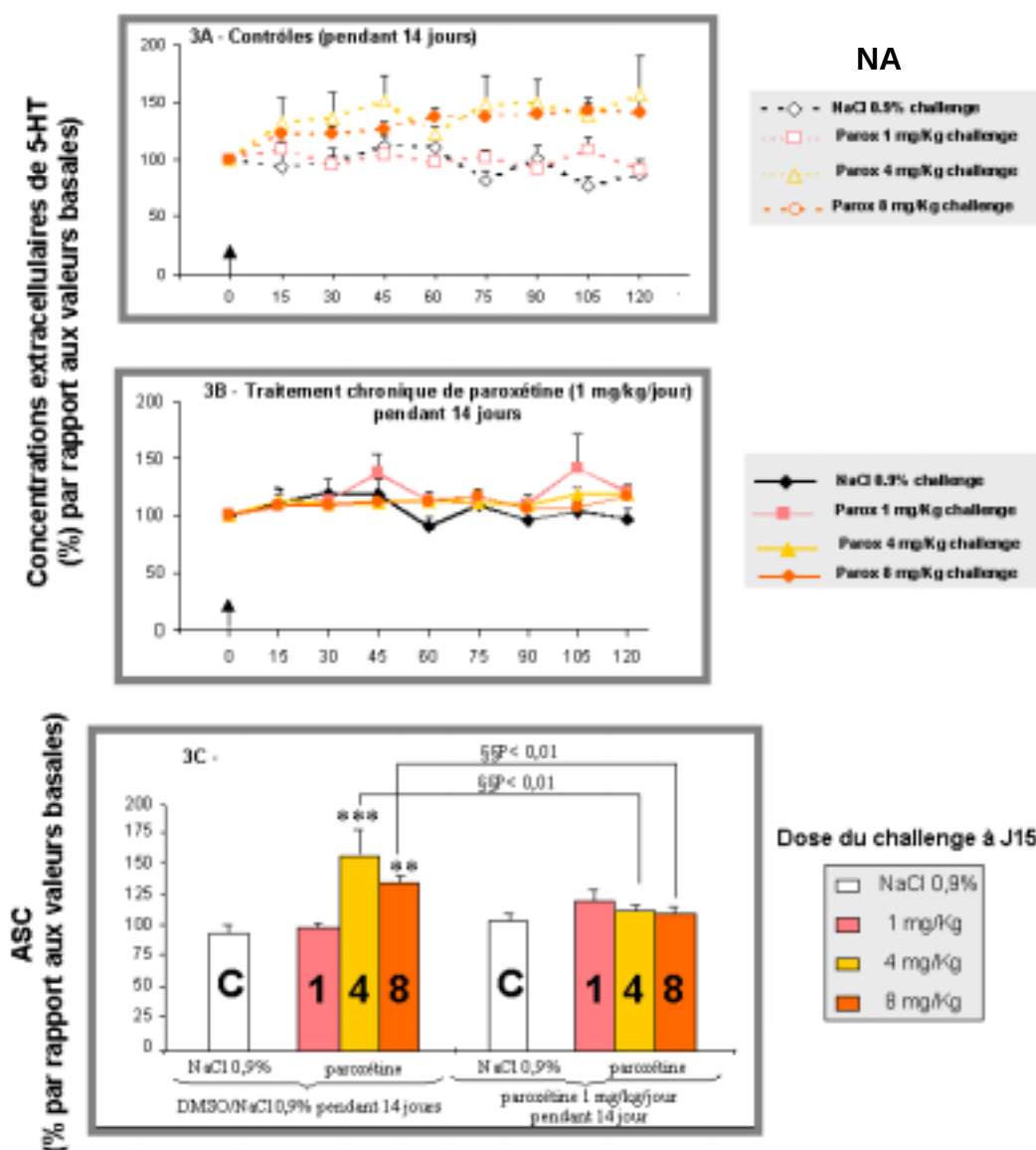


Figure 23 – Effets d’une dose test de paroxétine (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de noradrénaline chez des souris ayant reçu de la paroxétine (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours)

Les données sont les moyennes $\pm$ écart standard à la moyenne (E.S.M.) des concentrations extracellulaires de 5-HT exprimées en pourcentages de variations de la concentration basale (à t_0) chez les souris Swiss pour 5 à 10 souris/groupe (fig. 3A et 3B). L’administration de la dose test est représentée par une flèche. Dans le cortex médian préfrontal (fig 3C), les valeurs calculées des aires sous la courbe (ASC; moyenne $\pm$ E.S.M.) représentent la somme des concentrations extracellulaires de 5-HT collectées pendant une durée de 120 min suivant le traitement avec la dose test et sont exprimées en pourcentage des valeurs basales. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ par comparaison au groupe NaCl 0,9 % correspondant ; §§ $P < 0.01$ par comparaison au groupe traité pendant 14 jours par le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v).

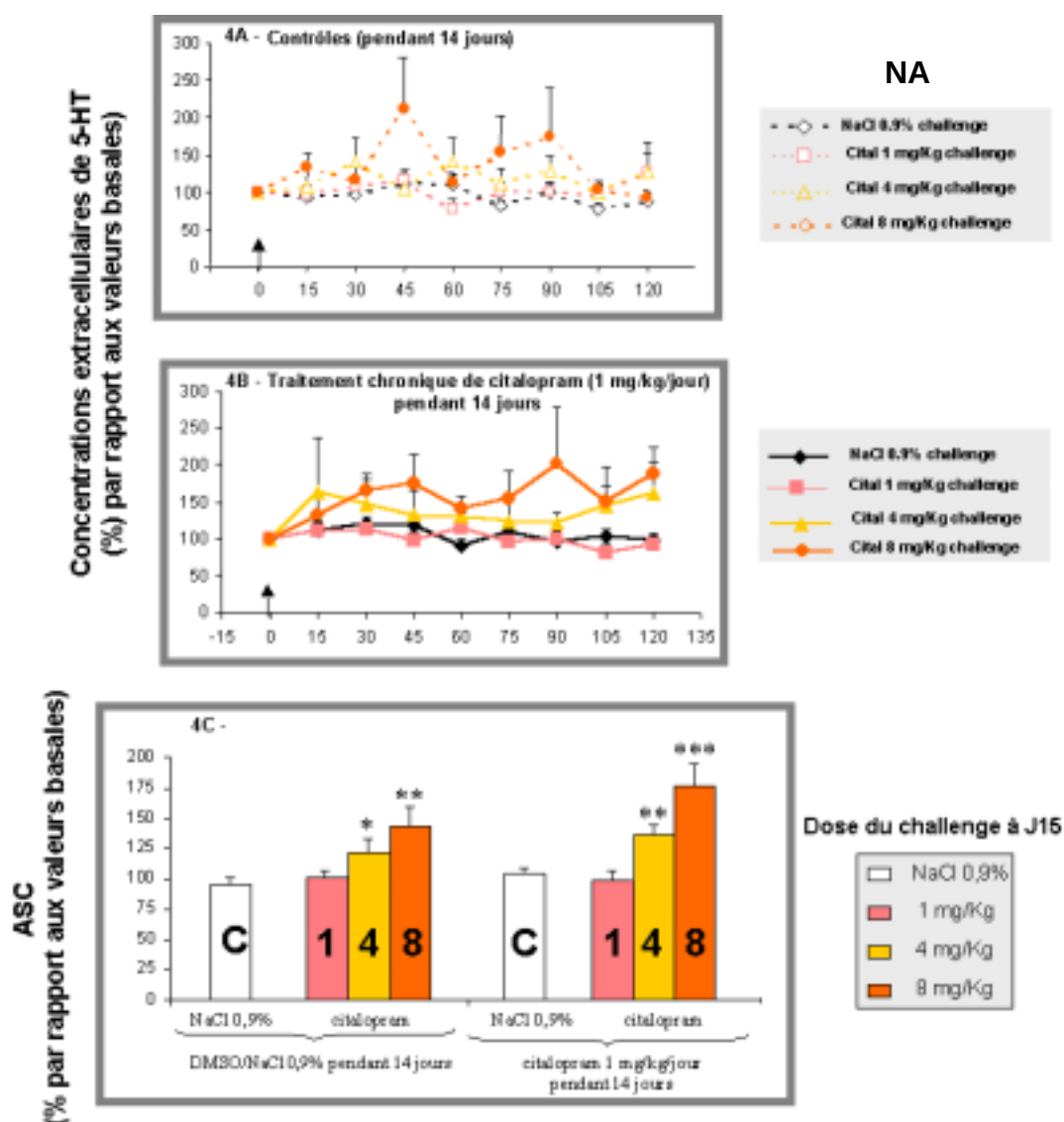


Figure 24 – Effets d’une dose test du citalopram (1, 4, 8 mg/kg) sur les concentrations extracellulaires corticales de noradrénaline chez des souris ayant reçu du citalopram (1 mg/kg/jour) ou le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v) (pendant 14 jours)

Les données sont les moyennes $\pm$ écart standard à la moyenne (E.S.M.) des concentrations extracellulaires de 5-HT exprimées en pourcentages de variations de la concentration basale (à t_0) chez les souris Swiss pour 5 à 10 souris/groupe (fig. 4A et 4B). L’administration de la dose test est représentée par une flèche. Dans le cortex médian préfrontal (fig 4C), les valeurs calculées des aires sous la courbe (ASC; moyenne $\pm$ E.S.M.) représentent la somme des concentrations extracellulaires de 5-HT collectées pendant une durée de 120 min suivant le traitement et sont exprimées en pourcentage des valeurs basales. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$ par comparaison au groupe NaCl 0,9 % correspondant.

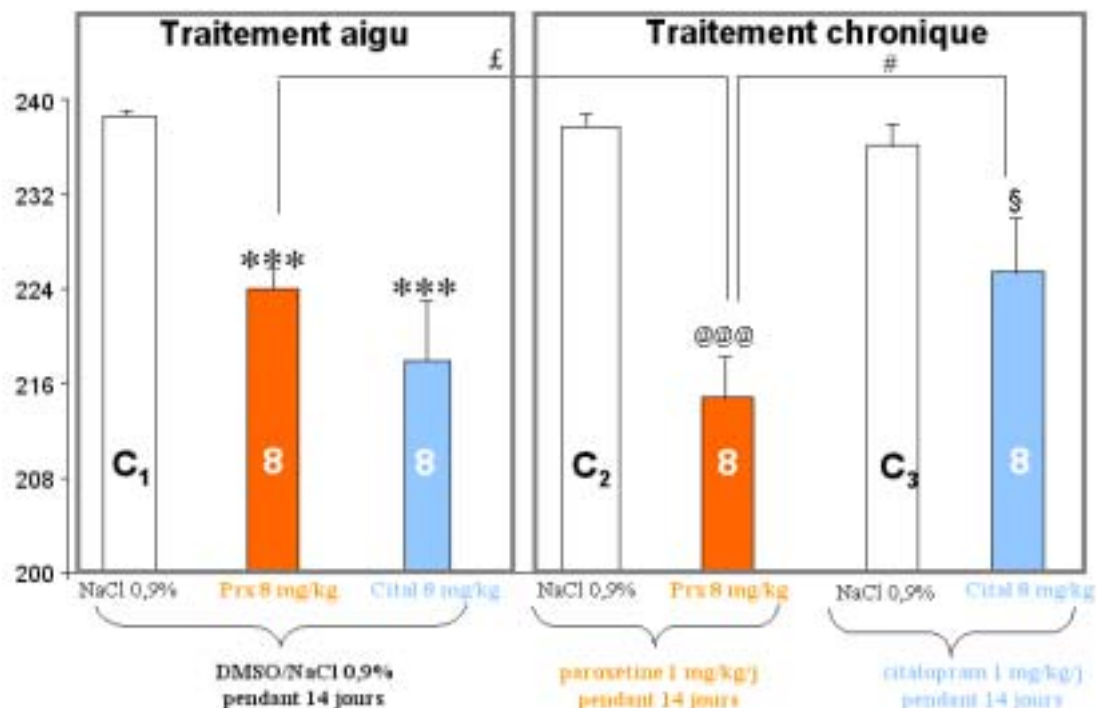


Figure 25 – Effets d’une dose test de paroxétine ou de citalopram (8 mg/kg) sur le temps d’immobilité mesuré dans le test de la nage forcée chez des souris traitées de façon chronique pendant 14 jours soit avec leur antidépresseur respectif [paroxétine (1 mg/kg/jour) ou citalopram (1 mg/kg/jour)] soit avec le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%, 20/80 v/v).

Les données sont les moyennes $\pm$ écart standard à la moyenne (E.S.M.) des temps d’immobilité (10 souris/groupe). *** $P < 0,001$ par comparaison avec le groupe NaCl 0,9 % correspondant (C_1) ; @@@ $P < 0,01$ par comparaison avec le groupe NaCl 0,9 % correspondant (C_2) ; § $P < 0,05$ par comparaison avec le groupe NaCl 0,9 % correspondant (C_3) ; # $P < 0,01$ en comparant Prx 8 et Cital 8 mg/kg dans les groupes « chroniques » ; £ $P < 0,05$ en comparant au groupe traité pendant 14 jours par le véhicule (DMSO:NaCl 0,9%).

Tableau 34 - Comparaison de l'efficacité de la paroxétine et du citalopram sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline corticales chez la souris Swiss après un traitement chronique (1 mg/kg/j pendant 14 jours)

	Efficacité	
	E_{max} (dialysat 5-HT) (% d'augmentation max)	E_{max} (dialysat NA) (%d'augmentation max)
paroxétine	290,7 ± 22,4 ***; @; + ●	154,4 ± 15,3 X
citalopram	433,3 ± 28,7 £££ X	217,19 ± 30,9 X

● : résultats idem à l'administration unique (étude 6)

X : 🦋 par rapport à l'administration unique (étude 6)

L'*efficacité* a été calculée à partir de l'effet maximal des antidépresseurs sur les dialysats 5-HT et NA.

E_{max} (moyenne ± E.S.M. ; dialysat 5-HT): F(1,28)= 17,26, P<0,001 (U de Mann-Whitney = 32,0) ; ***P<0,001 par rapport au citalopram

E_{max} (moyenne ± E.S.M. ; dialysat NA): F(1,24) 0,05, P=0,048 (U de Mann-Whitney = 42,5) ; @P<0,05 par rapport au citalopram

Comparaison entre E_{max} 5-HT et E_{max} NA pour paroxétine: F(1,29)= 25,3, P<0,001 ; U de Mann-Whitney = 18,0 ; @P<0,05

Comparaison entre E_{max} 5-HT et E_{max} NA pour citalopram: F(1,21)= 25,7, P<0,001 ; U de Mann-Whitney = 12,0 ; £££P<0,01

Synthèse des résultats de l'étude 7

L'étude de microdialyse chez la souris éveillée libre de ses mouvements nous permet de conclure que les IRSSs ont un effet noradrénergique cortical. Un traitement chronique avec le citalopram augmente les [NA]_{ext} alors que l'on perd l'effet du challenge de paroxétine sur cette monoamine après un traitement chronique avec la paroxétine (1 mg/kg). Cependant, l'étude comportementale nous donne des résultats différents. En effet, bien que les concentrations extracellulaires corticales de noradrénaline restent stables (i.e., pas de différence avec le groupe contrôle) après un traitement chronique avec de la paroxétine (1 mg/kg pendant 14 jours), l'effet antidépresseur-like d'une administration « challenge » de paroxétine (8 mg/kg) est augmenté. Un traitement chronique avec le citalopram (1 mg/kg pendant 14 jours) augmente les [NA]_{ext} corticales et l'effet anti-immobilité d'une dose challenge de citalopram (8 mg/kg) est atténué chez la souris. Elle confirme aussi les résultats obtenus lors d'une précédente étude comportementale dans le FST suggérant que la paroxétine à faible dose ait un profil sérotoninergique (< 8 mg/kg) tandis qu'à forte dose (> 8 mg/kg), son profil pharmacologique est mixte (Redrobe et al., 1998a). Dans nos conditions expérimentales chez la souris Swiss, il semble que la taille de l'effet « antidépresseur-like » soit plus importante avec la paroxétine qu'avec le citalopram.

DISCUSSION GÉNÉRALE

L'objectif principal de ma thèse a été de travailler *in vivo* chez la Souris sur deux types d'approches, l'une comportementale (FST, TST), l'autre neurobiochimique (microdialyse intracérébrale), afin de rechercher un lien entre les variations de temps d'immobilité (FST, TST) et les concentrations extracellulaires corticales de sérotonine ou de noradrénaline (dialysat) suite à l'administration d'une dose unique ou répétée d'antidépresseurs inhibant la recapture de la sérotonine (IRSS).

Il est souvent reproché au FST chez la souris, contrairement au FST chez le Rat, son absence de reproductibilité pour détecter l'activité anti-immobilité des IRSSs (Cryan et al., 2002). Ceci est important car cette classe d'antidépresseurs est la plus prescrite dans le traitement des épisodes dépressifs majeurs. L'absence de réponse d'une molécule dans un modèle animal provient le plus souvent d'un manque de sensibilité du test engendrant alors une taille de l'effet trop faible pour mettre en évidence une différence statistiquement significative. Il est aussi reproché au FST (mais surtout au TST) un manque de sensibilité nécessitant l'utilisation de groupes de taille très importante (15 à 20 animaux par groupe) pour la détection d'une activité antidépressive (Renard et al., 2003) : la réponse n'apparaît souvent alors que pour des doses élevées d'antidépresseurs administrés.

Tout d'abord, en ce qui concerne l'exploration comportementale, l'objectif était de diminuer la variabilité de la réponse des souris à ces tests et donc de sensibiliser les modèles. J'ai tenté d'identifier les principaux paramètres, propres à l'animal, susceptibles de participer à cette variabilité de réponse. Mon choix s'est porté sur trois d'entre eux, l'âge des souris (4 ou 40 semaines), leur genre et leur fond génétique (Swiss, NMRI, DBA/2, C57BL/6J Rj). Ces facteurs de variabilité sont souvent négligés et la comparaison des résultats est souvent impossible puisque la méthodologie diffère. L'intérêt d'étudier ces facteurs est grand puisque chez l'Homme, il est largement démontré que selon l'âge, le sexe ou le génotype, la réponse aux antidépresseurs n'est pas la même (Mittmann et al., 1997 ; Altshuler, 2002 ; Yoshida et al., 2002). Il est très important de souligner que le FST comme le TST sont des **tests prédictifs** de l'activité « antidépressive-like » d'une molécule qui n'est administrée qu'une seule fois. Depuis leur mise au point dans les années 70, on a confirmé pour de nombreuses molécules qu'une réponse positive des souris (baisse du temps d'immobilité) à ce test est très souvent corrélée à la réponse thérapeutique observée chez l'Homme (Bai et al., 2001). Mais la validation du FST par Porsolt et du TST par Stéru chez la Souris obéit à des conditions

expérimentales bien définies par ces auteurs et celles-ci doivent être rigoureusement respectées (température du bain : 23-25 C°; durée du test : 6 min, temps d'adaptation pour le FST : 2 min). Il est particulièrement important d'utiliser des **souris naïves**, n'ayant jamais reçu de médicament et de ne les utiliser qu'une seule fois : **il ne faut pas réaliser de pré-test** dans ces modèles animaux prédictifs de l'activité « antidépressive-like » chez la Souris. De plus, une analyse de l'activité locomotrice des souris ayant reçu une dose unique d'antidépresseur est le plus souvent recommandée. Dans nos différentes études comportementales au cours desquelles nous souhaitons sensibiliser la réponse dans le FST et le TST, nous nous sommes attachés à respecter strictement les conditions expérimentales des tests de Porsolt et du TST. Depuis les vingt dernières années, de nombreuses modifications de celles-ci ont été apportées afin de les sensibiliser. Par exemple les conditions initiales proposées par Porsolt et al., (1977) ont été remaniées dans certaines études comme le raccourcissement de la période d'habituation passant de 120 s à 20 s et une mesure de la durée du temps d'immobilité pendant 180 s au lieu des 240 s recommandées (Nikulina et al., 1991). D'autres modifications ont été rapportées comme une augmentation conséquente du volume d'eau (Alcaro et al., 2002) ou l'automatisation du test en introduisant une roue permettant de comptabiliser automatiquement l'activité de l'animal, i.e. le temps de nage (Nikulina et al., 1991). Les laboratoires emploient couramment leur propre version des tests comportementaux et adaptent leur protocole. Ces variations non validées peuvent expliquer des différences de résultats entre des études utilisant la même souche. Par exemple, pour l'équipe de Crabbe et al., (1982), les souris de la souche C57BL/6 présentent une augmentation de l'activité locomotrice après l'ingestion de faibles doses d'alcool, tandis qu'une autre étude ne démontrait aucun effet stimulant de ce produit (Dudek et Philipps, 1990). Le fond génétique instable des souris KO 5-HT_{1B} a d'ailleurs conduit à la publication d'un article indiquant une sur-consommation d'alcool par ces souris mutées (Crabbe et al., 1996), puis à son invalidation par la même équipe qui n'a pas réussi à retrouver ces résultats (Crabbe et al., 1999).

Lors de nos études expérimentales réalisées dans le FST, nous nous sommes tout d'abord attachés à comprendre le rôle de l'âge chez la souris dans la réponse aux antidépresseurs. Ce facteur de variabilité nécessite d'être étudié chez l'animal âgé puisque, contrairement à l'Homme adulte, le sujet considéré âgé (à partir de 60-70 ans selon les études) répond différemment selon la classe d'antidépresseurs. Dans cette population de patients, Joubert et al., (2000) ont démontré que le citalopram est aussi efficace et aussi bien toléré que les ADTs. D'une manière générale, il semble que les IRSSs soient mieux tolérés que les autres classes

d'antidépresseurs (Preskorn, 1993). Cependant, il a été suggéré que les tricycliques restent la classe d'antidépresseur la plus prescrite (Gareri et al., 2000) et de récentes études cliniques réalisées chez le patient âgé dépressif indiquent que les antidépresseurs ADT sont plus efficaces que les IRSSs (Oslin et al., 2000). La méta-analyse de Mittmann et al., (1997) montre qu'il existe des résultats contradictoires quant aux effets des IRSSs chez des sujets âgés de 60 ans et plus. Nos résultats ont montré que des inhibiteurs de la recapture de la NA comme l'imipramine, la maprotiline et la venlafaxine ont une activité antidépressive plus importante que les IRSSs dans le groupe des souris âgées de 40 semaines. Nos données pré-cliniques sont confortées par une précédente étude utilisant le FST et mettant en évidence une réponse différente aux antidépresseurs selon l'âge des animaux (Bourin et al., 1998). Lors de cette étude, les ADTs (imipramine, désipramine) et le bupropion, contrairement aux IRSSs (citalopram et la paroxétine) développent une activité « antidépressive-like » dans le test de la nage forcée dans tous les groupes de souris traitées (4, 12, 24 et 40 semaines).

Dans le FST, l'activité antidépressive des IRSSs serait médiée par les récepteurs 5-HT₁ (récepteurs 5-HT_{1B} post-synaptiques et auto-récepteurs 5-HT_{1A} pré-synaptiques) (Redrobe et al., 1996). Nous avons montré dans notre étude que les IRSSs ne diminuaient pas ou très peu l'effet anti-immobilité induit par les antidépresseurs chez des souris âgées de 40 semaines suggérant ainsi une possible altération des sous-type de récepteurs 5-HT₁. Gozlan et coll., (1990) ont montré qu'une baisse de la densité des récepteurs 5-HT_{1B} chez le rat intervient avec l'âge, tandis que la densité des récepteurs 5-HT_{1A} ne semble pas affectée. Nos résultats mettent l'accent sur le rôle prépondérant des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} dans le FST puisqu'un pré-traitement de buspirone (0,06 mg/kg) co-administrée avec une dose sub-active d'antidépresseur (imipramine, maprotiline, venlafaxine, fluvoxamine) chez les souris âgées de 4 semaines entraîne un effet antidépresseur-like dans le FST, sauf pour la sertraline. Le fait que la buspirone potentialise les effets de la fluvoxamine (8 mg/kg) (réduction du temps d'immobilité) pourrait s'expliquer par l'action des IRSSs, médiée par les auto-récepteurs 5-HT_{1A} (Redrobe et Bourin., 1998).

Les résultats de l'interaction entre un pré-traitement d'anpirtoline (1 mg/kg) et d'antidépresseur chez les souris de 40 semaines dans le FST suggèrent l'existence d'une altération des récepteurs 5-HT_{1B} chez les souris âgées (absence de diminution du temps d'immobilité), les récepteurs 5-HT_{1A} étant moins touchés. En effet, chez les souris âgées de 40 semaines, la fluvoxamine, administrée seule, n'exerce pas d'effet anti-immobilité dans le FST, mais les effets d'une dose sub-active de fluvoxamine (8 mg/kg) sont potentialisés par une dose sub-active de buspirone (0,06 mg/kg), tandis qu'aucune dose sub-active

d'antidépresseur (particulièrement la fluvoxamine) n'a été potentialisée par l'anpirtoline (1 mg/kg). De plus, notre hypothèse est renforcée par le fait qu'il existe une différence statistiquement significative entre les souris de 4 et 40 semaines après un pré-traitement avec l'anpirtoline suivi d'une administration de maprotiline et de fluvoxamine.

Après avoir mis en évidence « l'âge » comme facteur de variabilité quant à la réponse dans le FST, nous nous sommes ensuite attachés à examiner le facteur « genre ». Ce facteur de variabilité est souvent négligé puisqu'il est difficile dans un élevage de souris d'obtenir un nombre suffisant d'animaux du même âge et du même sexe. Sauf exception, lorsque les animaux proviennent de centres d'élevage, les études en psychopharmacologie utilisent le plus souvent les animaux mâles, s'abstenant ainsi d'un biais expérimental dû au cycle menstruel. La différence de genre a été rapportée dans les modèles animaux de dépression (Alonso et al., 1991 ; Kennett et al., 1986 ; Steenbergen et al., 1989). Par exemple, dans le test de la nage forcée chez le Rat, le temps d'immobilité est significativement plus important chez les animaux mâles que chez les animaux femelles. Cette variabilité observée chez l'animal existe bien évidemment chez l'Homme puisqu'il existe d'importantes différences dans la présentation de la symptomatologie de la dépression entre les femmes et les hommes (Burt et Stein, 2002). Il semble en effet qu'aussi bien les symptômes dépressifs que la réponse au traitement soient différents entre hommes et femmes. On note par exemple chez la femme des symptômes dépressifs plus atypiques que chez l'homme : hypersomnie, hyperphagie, inertie des membres, absence de sensibilité (Angst et Dobler-Mikola, 1984). Les différences de sexes ne s'étendent pas seulement aux symptômes de la dépression, mais aussi à son traitement. Les femmes semblent plus sensibles aux IRSSs qu'aux IMAOs ou aux ADTs, au contraire des hommes qui répondent beaucoup mieux au ADTs (Kornstein et al., 2000 ; Altshuler, 2002). Ces différences entre hommes et femmes ont été attribuées à des différences biologiques : cycle menstruel, période postpartum et ménopause.

Quasiment toutes les études comparant l'efficacité d'un médicament dans les modèles animaux de dépression, ont été réalisées chez le Rat. Il nous semblait donc intéressant d'étudier la réponse de souris mâles et femelles à deux classes d'antidépresseurs, un ADT et un IRSS dans le FST et le TST. Contrairement à notre attente, la première partie de l'étude n'a pas mis en évidence de différences aussi bien dans l'activité basale que dans la réponse à l'administration d'un antidépresseur, entre les souris mâles et les souris femelles. La différence d'activité basale entre des souris mâles et femelles a été rapportée dans le TST, mais cette différence semble « souche-dépendante » (Liu et Gershenfels, 2001). En effet, les souris femelles des souches A/J, C57BL6J, NMRI ont une activité basale plus importante que

les souris mâles, mais le genre chez les souris de la souche 129S6/SvEV ne semble pas être un facteur primordial. Même si nous n'avons pas observé de différences quant à l'activité basale des souris que ce soit dans le FST ou le TST, nous pensions que le cycle menstruel influencerait tout du moins sur la réponse aux antidépresseurs. La capacité des hormones gonadotropes à modifier les paramètres pharmacocinétiques (métabolisme et distribution) est bien connue (Kelly et al., 1999). En effet, lors de l'œstrus chez la rate, caractérisé par un pic d'œstrogène et de progestérone, les concentrations extracellulaires de 5-HT décroissent (Gundlah et al., 1998). Différentes études dans le FST chez le Rat, montrent que les rates ont une activité basale supérieure aux rats et que cette activité varie au cours des différentes phases du cycle menstruel (Barros et Ferigolo, 1998 ; Alonso et al., 1991). Barros et Ferigolo, (1998) ont aussi démontré que le faible temps d'immobilité basal chez les rates pouvait poser un problème quant à la mise en évidence d'une activité antidépressive. Cependant, Alonso et al. (1991), ont montré que le temps d'immobilité était similaire dans les différents stades de l'oestrus chez la femelle Ratte. Même si nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives entre les deux genres, il semble se dessiner au sein de chaque groupe des différences de sensibilité envers les deux classes d'antidépresseurs testées. Dans le FST plus que dans le TST, les souris mâles répondraient mieux aux ADTs puisque la taille de l'effet « antidépresseur-like » atteint quasiment 30% avec l'imipramine contre tout juste 22% pour la paroxétine. En revanche, chez les souris femelles, on note une baisse du temps d'immobilité plus importante avec l'IRSS puisqu'après l'administration de paroxétine, la baisse du temps d'immobilité est d'environ 35% contre à peine 20% après l'administration d'imipramine. Dans le TST, le fait que les souris mâles répondent à une dose d'antidépresseur plus faible que les souris femelles pourrait s'expliquer par une différence de force musculaire, qui dans ce test, intervient de manière prépondérante par rapport au FST.

Du fait de la multiplicité des centres d'élevage d'animaux, il n'existe pas de consensus sur l'utilisation d'une souche plutôt qu'une autre dans un modèle comportemental animal. Pourtant la souche est un facteur de variabilité assurément non négligeable puisque reconnu comme influençant les comportements de la souris. L'effet d'un médicament dans le FST ou le TST dépendant justement de la réponse de la souris, le choix d'une souche appropriée à une classe de médicament a un intérêt majeur dans les modèles animaux de dépression puisqu'il pourrait éviter les faux négatifs. Chez l'Homme, comme chez l'animal, l'effet phénotypique dépend du fond génétique (« background »). Les études cliniques montrent que la même classe de médicaments ne développera pas forcément la même efficacité selon l'âge, le genre

ou l'éthnie du patient. Par exemple, la présence du variant *l* retrouvé dans le cas du polymorphisme 5-HTTLPR du transporteur de la 5-HT est plus importante dans la population caucasienne que dans la population japonaise (Yoshida et al., 2002). Or, les personnes porteuses du variant *l* répondent mieux au IRSSs que celles porteuses du variant *s* (Yu et al., 2002 ; Smeraldi et al., 1998). Beaucoup de gènes ont de multiples expressions phénotypiques et influencent le comportement animal. Des différences de comportements ont été rapportés chez l'animal suite à l'administration de molécules variées, incluant notamment les opiacées (Rady et al., 1999), les anxiolytiques (Griebel et al., 2000) et bien d'autres médicaments encore. Le facteur « souche » reste cependant peu étudié dans les modèles animaux de dépression, notamment dans le FST ou le TST. Dans ces deux modèles animaux, la différence inter-souche est largement rapportée dans la littérature (Lucki et al., 2001 ; Bai et al., 2001 ; Vaugois et al., 1997 ; Stéru et al., 1985, Van der Heyden et al., 1987) mais ces études utilisent peu de molécules, généralement une voire deux classes d'antidépresseurs (la désipramine et la fluoxétine dans l'étude de Lucki et al., 2001). De plus ces études n'utilisant pas le test d'activité locomotrice spontanée, un éventuel effet hyperlocomoteur des molécules testées ne peut être écarté apportant un doute sur leur activité réelle « antidépressive-like ».

Dans le FST, nous n'avons pas mis en évidence de différence d'activité basale entre les souches de souris, mais le TST permet de distinguer deux groupes : l'un comprenant la souche C57/BL6 Rj caractérisé par une forte immobilité basale et l'autre comprenant les souches Swiss, NMRI et DBA/2. Nos deux études réalisées dans le FST et le TST mettent en évidence un effet souche quant à la réponse aux antidépresseurs dans les deux tests. Cette étude nous a permis d'exclure ou de sélectionner des souches pour leur absence ou leur sensibilité aux antidépresseurs. Par exemple la souche DBA/2 ne semble pas être une souche très intéressante à utiliser dans le FST et le TST puisque, soit ces souris n'ont pas répondu aux différentes classes d'antidépresseurs (FST), soit elles répondent, mais leur comportement reste critiquable puisqu'elles s'agrippent au crochet. *A contrario*, la souche de souris Swiss est sensible à toutes les classes d'antidépresseurs étudiées dans le TST et répond aux inhibiteurs de recapture de la 5-HT et/ou de la NA. Les tailles d'effet observées avec cette souche sont plus importantes, permettant de plus amples investigations sur le mécanisme d'action des molécules. La souche de souris NMRI est considérée comme la souche de référence en psychopharmacologie. Pourtant, dans le TST, cette souche n'est sensible qu'aux molécules inhibant principalement la recapture de la 5-HT et dans le FST, seule la paroxétine a exercé un effet « antidépresseur-like ». Nous concluons donc que, des deux souches non-cosanguines étudiées, la souche Swiss est la plus sensible aux antidépresseurs. La souche de souris

C57BL/6J Rj étant la seule souche qui ait répondu au bupropion dans le FST, son utilisation semble intéressante pour mettre en évidence une activité dopaminergique.

En explorant les concentrations en monoamines des quatre souches étudiées au cours du FST, nous avons confirmé les résultats obtenus dans notre laboratoire (Renard et al., 2003) indiquant que la dopamine pourrait être un facteur limitant quant à la mise en évidence de l'activité « antidépressive-like » des antidépresseurs, puisque des souris de la souche DB/A2 ayant de fortes concentrations cérébrales en DA, ne répondent pas à cette classe de médicaments (IRSS, ADT, IRN) (article 3).

Que ce soit le FST ou le TST, les deux tests soumettent les souris à une situation aversive, suggérant de ce fait que les résultats obtenus devraient être similaires dans les deux tests. Les deux études ont en commun de révéler une différence de réponse aux antidépresseurs suivant les souches. Cependant, elles mettent en évidence des divergences que ce soit en terme de réponse ou de taille d'effet. Lorsque, par exemple, l'activité antidépressive existe, l'amplitude de la réponse ou « la taille de l'effet » est beaucoup plus importante dans le TST. L'hypothermie induite par le FST aurait pu être un facteur expliquant une différence de réponse, mais nous avons montré que la baisse du temps d'immobilité dans le FST n'était pas liée à l'hypothermie, concluant par la même occasion que l'effet observé dans le FST est bien dû aux molécules administrées (article 2). De même, en 1979, Porsolt et al., avaient conclu à cette dissociation entre l'hypothermie provoquée par le FST chez le Rat et l'effet anti-immobilité de l'imipramine. Les résultats obtenus au cours de ces deux études suggèrent que ces deux modèles animaux de dépression pourraient être complémentaires pour le screening de nouvelles molécules à visée antidépressive. Dans le TST, le comportement de la souche C57BL/6J Rj est sujet à caution puisque ces souris tentent de s'agripper aux crochets. Dans le FST, ces souris sont sensibles aux inhibiteurs de la recapture de la dopamine. Le FST, dans ce cas, paraît être une meilleure alternative. Inversement, le TST semble plus adéquat que le FST lors de l'utilisation de la souche 129/Sv, car ces souris présentent alors des difficultés à nager (Dalvi et Lucki, 1999).

Les principales conclusions de ces études sont que **la Souris mâle de fond génétique Swiss âgée de 4 semaines** est celle qui est la mieux adaptée à nos conditions expérimentales pour détecter une baisse du temps d'immobilité suite à l'administration d'une dose unique d'IRSS.

En ce qui concerne l'exploration neurobiochimique, la technique de microdialyse intracérébrale a été utilisée chez la Souris éveillée, libre de ses mouvements afin de se

démarquer de l'effet de l'anesthésique, et de tenter d'établir un rapprochement entre les variations de concentrations extracellulaires de neurotransmetteurs (5-HT et NA) et la réponse aux tests comportementaux (dans le FST essentiellement). L'approche neurobiochimique a été réalisée en deux temps puisque nous avons tout d'abord étudié les effets de l'administration d'une dose unique d'un antidépresseur, puis ceux de leur administration chronique. Cette approche pharmacologique a été complétée par une approche génétique, puisque nous avons comparé les effets des IRSSs chez des souris contrôles WT et des souris KO 5-HT_{1B}.

En ce qui concerne l'administration d'une dose unique d'IRSS chez des Souris Swiss mâles WT âgées de 4 semaines, nous avons étudié les effets de la paroxétine, du citalopram et de la venlafaxine simultanément sur les [5-HT]ext et [NA]ext corticales (voir ci-dessous figure 26 issue de la figure 4 de l'article soumis à Br. J. Pharmacol.). Nous avons observé que les deux IRSSs augmentent les [NA]ext corticales *in vivo*, mais que pour chacun d'eux, les réponses noradrénergique *versus* sérotoninergique dépendent de la dose administrée. Ainsi, à la dose de 1 mg/kg, la paroxétine est la seule molécule qui exerce un effet sélectif sur la [5-HT]ext corticale. Quand les doses augmentent, on perd cette sélectivité puisque à 4 mg/kg, comme à 8 mg/kg, la paroxétine augmente la [5-HT]ext et la [NA]ext corticales avec la même intensité. Le citalopram n'a pas d'effet à 1 mg/kg et n'est pas sélectif puisque, à 4 et 8 mg/kg, il augmente les concentrations des deux neurotransmetteurs, même s'il augmente plus la [5-HT]ext corticale que la [NA]ext corticale. La venlafaxine n'est active qu'à 8 mg/kg, dose à laquelle elle augmente beaucoup plus la [5-HT]ext corticale que la [NA]ext corticale chez la souris Swiss. Nous montrons que, *in vivo*, le citalopram et la paroxétine sont les plus puissants IRSSs pour augmenter, respectivement, la [5-HT]ext et la [NA]ext corticales. Leurs efficacités respectives sont venlafaxine > citalopram > paroxétine sur la [5-HT]ext et paroxétine = citalopram > venlafaxine sur la [NA]ext.

Ce travail original réalisé chez la Souris conforte les résultats de quelques études réalisées chez le Rat (Millan et al., 1999 ; 2000 ; Bymaster et al., 2001 ; Gobert et al., 1997). Nous confirmons par la même occasion les résultats obtenus lors d'une étude comportementale effectuée dans notre laboratoire suggérant que la paroxétine exerce une activité noradrénergique (Redrobe et al., 1998a).

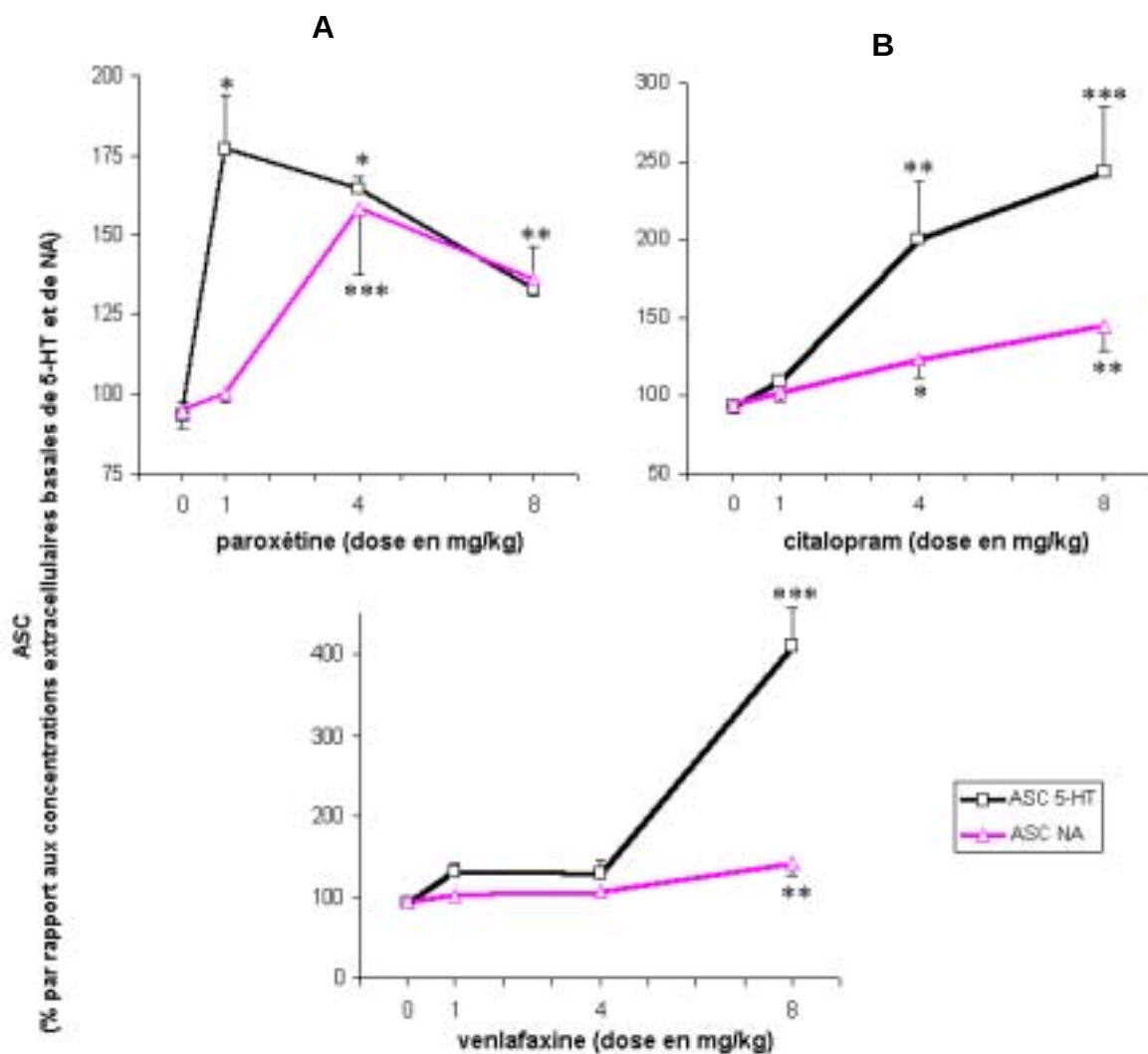


Figure 26 - Relation dose-réponse de l'administration d'une dose unique de paroxétine (A), de citalopram (B) et de venlafax

ine (C) sur les concentrations extracellulaires sérotoninergiques et noradrénergiques corticales chez la souris Swiss

D'après la Fig 4 de l'article soumis au Br. J. Pharmacol

En ce qui concerne l'administration chronique, nous avons tout d'abord mis au point un protocole d'administration d'IRSS et l'avons appliqué chez des Souris 129/Sv contrôles WT et mutées KO 5-HT_{1B}. Lors de la phase de mise au point, nous avons constaté l'importance des paramètres suivants :

- le mode d'administration quotidien (mg/kg/jour) : afin de réaliser une imprégnation stable constante du produit, nous avons choisi d'implanter des mini-pompes ALZET® dans le péritoine. Nous avons pensé que ceci permettrait, en assurant des concentrations plasmatiques et cérébrales constantes, d'obtenir peut-être des effets neurobiochimiques centraux persistants et plus stables, donc plus faciles à mettre en évidence. Nous avons essayé d'éviter les à-coups de concentrations plasmatiques d'IRSS qui ont lieu lors de l'administration bi-quotidienne de médicament ayant une courte demi-vie d'élimination.
- Le temps au bout duquel on évalue l'efficacité de la molécule chez l'animal après l'arrêt du traitement (« wash-out period ») : il est évident que, contrairement aux études cliniques, il est plus facile de mesurer un effet neurobiochimique chez un animal lorsque le système de neurotransmetteur n'est pas activé, c'est-à-dire lorsque l'antidépresseur est absent de l'organisme. Tout système activé répond mal à une stimulation exogène (par exemple en microdialyse, une perfusion locale de KCl, 120 mM pendant 15 min). Le choix du meilleur temps d'étude post-traitement pour réaliser la séance de microdialyse dépend des propriétés pharmacocinétiques de l'IRSS. Ainsi pour la paroxétine, une étude préalable à la réalisation de l'expérience « chronique » (article 5) a suggéré qu'il faille attendre une vingtaine d'heures (5 à 6 demi-vies) pour que celle-ci ait disparu de l'organisme (du cerveau) chez la Souris (voir tableau 2 de l'article 5 à paraître dans J. Neurochem.). A J15, la paroxétine ayant été éliminée du cerveau n'est plus mesurable (indiqué par N.D. dans la tableau 2 du J. Neurochem. 2003), la dose « challenge » peut avoir un effet.
- La nature et la dose du « challenge » administré : nous avons choisi d'étudier la réactivité du transporteur de la sérotonine à J15 en administrant une dose unique de paroxétine chez les animaux ayant reçu ou pas cet antidépresseur de façon chronique (1 mg/kg/jour pendant 14 jours). Nous avons également étudié l'éventuelle désensibilisation des autorécepteurs 5-HT_{1B} et 5-HT_{1A} en

administrant une dose unique de GR 127935 (antagoniste des récepteurs 5-HT_{1B}) ou de WAY 100635 (antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A}) chez des souris ayant reçu ou non cet antidépresseur de façon chronique. Les résultats de ces études pharmacologiques ont été confortés par ceux obtenus chez les animaux génétiquement modifiés (souris KO 5-HT_{1B}).

La principale conclusion de ce travail a été de montrer qu'il est possible de différencier, grâce à la technique de microdialyse, les effets d'un IRSS dans deux régions cérébrales différentes, le cortex médian préfrontal et l'hippocampe ventral qui sont toutes deux riches en terminaisons neuronales sérotoninergiques, mais qui sont innervées par des fibres ayant une origine distincte :

- le noyau du raphé dorsal exercent par l'intermédiaire des autorécepteurs 5-HT_{1A} somatodendritiques un rétrocontrôle négatif *fort* sur la libération corticale de 5-HT (Adell et al., 2002 ; McQuade et Sharp, 1997). Cette libération est peu régulée par les autorécepteurs 5-HT_{1B} situés sur les terminaisons neuronales sérotoninergiques.
- le noyau du raphé médian exercent par l'intermédiaire des autorécepteurs 5-HT_{1A} somatodendritiques un rétrocontrôle négatif *faible* sur la libération hippocampique de 5-HT (Adell et al., 2001 ; McQuade et Sharp, 1997). Cette libération est régulée fortement par les autorécepteurs 5-HT_{1B} terminaux.

Dans deux études récemment publiées, les concentrations plasmatiques de paroxétine ont été mesurées chez l'Homme (Gilmor et al., 2002) et chez le Rat (Owens et al., 2002) après traitement chronique. Chez des patients atteints d'épisodes dépressifs majeurs et traités par des doses croissantes de paroxétine pendant 7 semaines (10 mg/jour pendant 1 semaine ; 20 mg/jour pendant 2 semaines ; 40 mg/jour pendant 2 semaines ; 60 mg/jour pendant 2 semaines), les concentrations plasmatiques de cet IRSS ont été mesurées (Gilmor et al., 2002). Lorsque ces concentrations sont inférieures à 100 ng/ml, soit environ 270 nmol/l, on observe aussi bien une inhibition du transporteur de la NA (27% d'inhibition) que du transporteur de la 5-HT (83% d'inhibition). Cette concentration plasmatique de paroxétine mesurée chez l'Homme, correspond à une prise journalière d'environ 30 mg/jour. Dès que celles-ci atteignent 200 ng/ml (soit 540 nmol/l), l'inhibition du transporteur noradrénergique atteint 43% et celle du transporteur sérotoninergique atteint 90%, ce qui correspond à une prise journalière de plus de 40 mg/jour.

Une expérience réalisée chez le Rat a étudié les effets de la paroxétine sur le transporteur noradrénergique (Owens et al., 2002). Cette étude montre que lorsque des rats sont traités par des doses fortes de paroxétine (6,5 ; 10 ou 15 mg/kg) pendant une courte période (une semaine), on observe des concentrations sériques de paroxétine comprises entre 100 et 500 ng/ml et une inhibition du transporteur noradrénergique de 21% (Owens et al., 2000). Les doses utilisées en chronique au cours des ces deux expérimentations réalisées à partir de sérum humain (Gilmor et al., 2002) ou de sérum de rat (Owens et al., 2000) montrent que la paroxétine exerce une activité sur le transporteur noradrénergique. Cependant, ces doses sont au moins sept fois plus importantes que celles que nous avons utilisées en chronique chez la souris. Nous avons mesuré après 14 jours de traitement avec de la paroxétine délivrée à 1 mg/kg/jour, des concentrations cérébrales de paroxétine de 37,9 ($\pm$ 5) nmol/l chez les souris contrôles WT et de 49 ($\pm$ 8,8) chez les souris KO 5-HT_{1B} (tableau 2 de l'article du J. Neurochem). En reproduisant ensuite ce protocole chez la souris nous avons souhaité observer les effets de la paroxétine sur les [5-HT]ext, mais aussi sur les [NA]ext corticales (article 7).

Chez la souris, le protocole d'administration chronique de paroxétine utilisé au cours de l'article 5 a été reproduit pour étudier les effets simultanés de l'administration d'une dose unique de paroxétine ou de citalopram après traitement chronique par un IRSS sur les [5-HT]ext et [NA]ext corticales. Nous avons utilisé des souris Swiss mâles WT âgées de 4 semaines. Pendant 14 jours, la paroxétine ou le citalopram ont été délivrés par une mini-pompe osmotique à la dose de 1mg/kg/j, et au 15^{ème} jour, 24 h après le retrait des mini-pompes (période de wash-out), nous avons administré la dose test de paroxétine ou de citalopram (1, 4 ou 8 mg/kg) afin d'étudier leurs effets simultanément sur les [5-HT]ext et [NA]ext corticales (figure 27). Les deux IRSSs augmentent les [5-HT]ext corticales, mais seul le citalopram augmente les [NA]ext corticales *in vivo*. A 4 mg/kg, comme à 8 mg/kg, le citalopram augmente les concentrations extracellulaires des deux neurotransmetteurs, et augmente plus la [5-HT]ext corticale que la [NA]ext corticale. En fait, seule la dose de 1 mg/kg de citalopram exerce un effet sélectif sur la [5-HT]ext corticale, tandis que lorsque les doses augmentent, on perd cette sélectivité d'effet avec l'apparition d'un effet noradrénergique. Après traitement chronique par de la paroxétine (1 mg/kg/j), l'administration d'un challenge de cet IRSS à 4 et 8 mg/kg entraîne une sélectivité d'effet puisque seules les concentrations extracellulaires de 5-HT sont augmentées.

Ainsi après un traitement chronique (1 mg/kg/j pendant 14 jours) avec le citalopram, l'effet d'une dose « challenge » de **citalopram** sur les [5-HT]ext et [NA]ext corticales, est maintenu tandis qu'après un traitement chronique (1 mg/kg/j pendant 14 jours) avec la

paroxétine, l'effet d'un « challenge » de **paroxétine** sur [5-HT]ext corticales est maintenu, mais l'effet du « challenge » sur les [NA]ext corticales a disparu. Après un traitement à dose unique de paroxétine ou de citalopram ou après un traitement chronique (et ce uniquement pour le citalopram) nous montrons que, dans nos conditions expérimentales *in vivo*, c'est-à-dire dans le cortex préfrontal chez la Souris, les deux IRSSs sont capables d'activer le système noradrénergique central. Notre étude permet ainsi de différencier, au sein d'une même classe de médicament, deux IRSSs par leur sélectivité respective pour les systèmes sérotoninergique et noradrénergique *in vivo*.

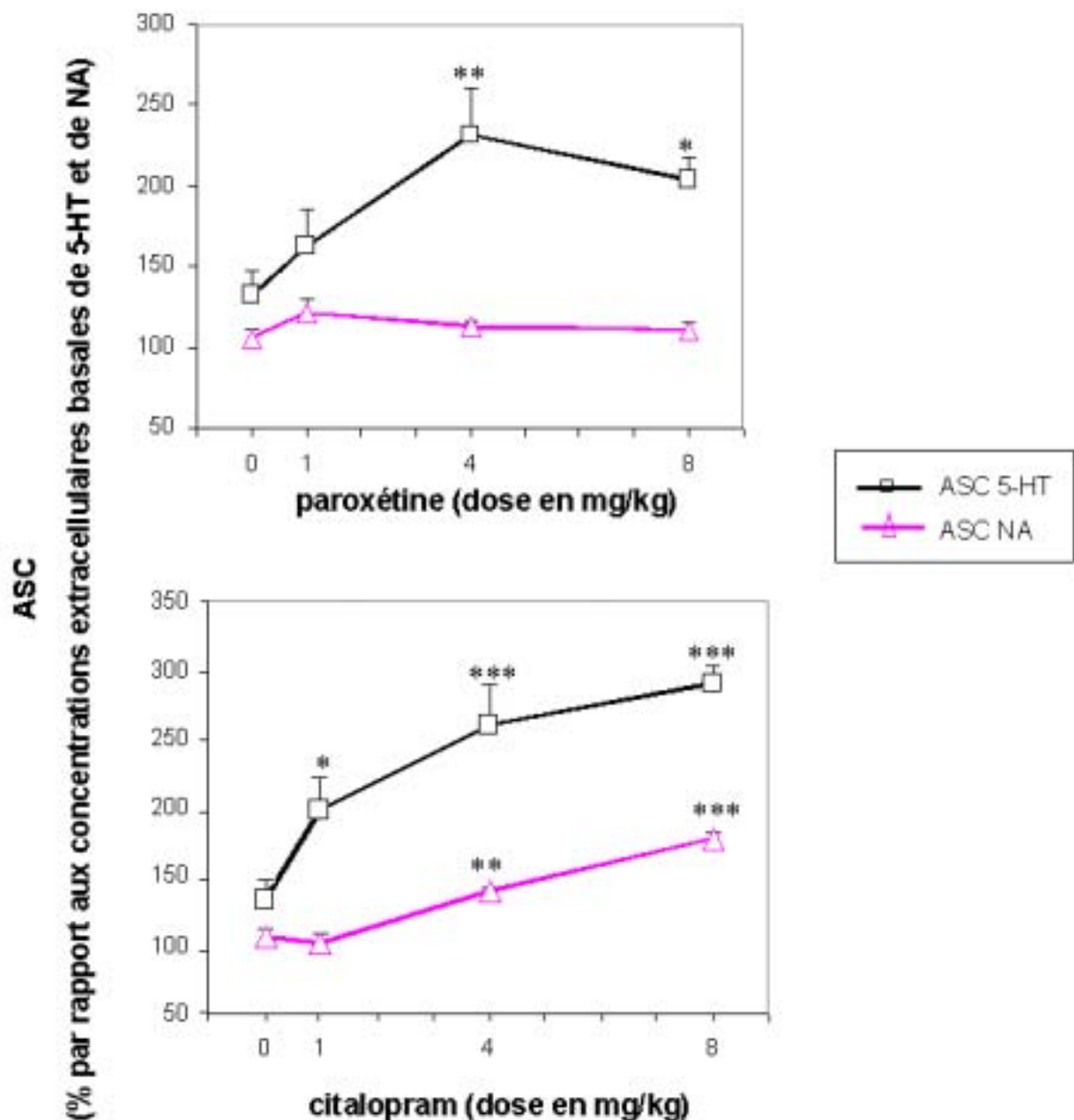
La réalisation du FST suite à l'administration chronique d'un médicament antidépresseur permettrait d'améliorer le rationnel théorique du test. Le FST réalisé chez le Rat a montré un effet anti-immobilité après traitement chronique quotidien d'antidépresseur pendant 16 jours (Rénérac et al., 2002a). L'originalité de notre étude repose sur le protocole d'administration de l'antidépresseur par le biais d'une mini-pompe enlevée avant de tester la nage chez la souris : ce protocole est utilisé ici pour la première fois. Nous avons souhaité reproduire rigoureusement le protocole d'administration chronique, déjà employé lors des études de microdialyse intracérébrale, afin d'étudier les effets de l'administration d'une dose « challenge » de paroxétine ou de citalopram (8 mg/kg) après 14 jours de traitement chronique avec l'antidépresseur approprié délivré à la dose de 1 mg/kg/jour. En utilisant la même dose que celle employée lors de l'étude de microdialyse (étude n°6), nous espérons pouvoir relier les résultats comportementaux à ceux de neurobiochimie. Notre étude nous permet de conclure qu'après un traitement chronique (1 mg/kg/j pendant 14 jours) de paroxétine, on **améliore** l'effet « antidépresseur-like » d'une dose « challenge » de **paroxétine** (8 mg/kg) *en présence de 5-HT corticale, mais en absence de [NA]ext* tandis qu'après un traitement chronique (1 mg/kg/j pendant 14 jours) de citalopram, on **atténue** l'effet « antidépresseur-like » d'une dose « challenge » de citalopram (8 mg/kg) *en présence des deux neurotransmetteurs (5-HT et NA corticales)*. Ainsi, il semble exister entre les deux études une opposition des résultats. Après un traitement chronique de citalopram, l'administration d'un challenge de 8 mg/kg de citalopram augmente les [NA]ext et [5-HT]ext corticales, mais la taille de l'effet dans le test comportemental est plus petite. Un « challenge » de paroxétine (8 mg/kg) après un traitement chronique de paroxétine permet une augmentation des [5-HT]ext corticales, mais pas celle des [NA]ext corticales et on observe une taille d'effet « antidépresseur-like » plus grande dans le FST. Ces résultats obtenus dans le FST chez la Souris sont compatibles avec ceux obtenus par Rénérac et al., (2002b) dans le FST chez le Rat. Nous émettons l'hypothèse que le système noradrénergique, en étant responsable d'une

B

interaction négative avec le système sérotoninergique, impliquant peut-être les autorécepteurs α_2 noradrénergiques, serait responsable de l'absence d'efficacité des molécules ayant une activité inhibitrice mixte c'est-à-dire aussi bien sur les transporteurs de la 5-HT et le transporteur de la NA. Bien sûr ces résultats doivent être confortés avec d'autres molécules administrées de façon chronique (duloxétine, venlafaxine).

L'extrapolation de nos résultats expérimentaux (différence noradrénergique entre paroxétine et citalopram) à des conséquences cliniques éventuelles semble délicate. La paroxétine et le citalopram ont prouvé leur efficacité dans le traitement des épisodes dépressifs majeurs mais il n'existe cependant aucune étude clinique comparant la paroxétine au citalopram dans cette pathologie. Les résultats de la venlafaxine (étude en cours) seront de ce point de vue très intéressants. La seule différence notable entre ces deux antidépresseurs appartenant à la même classe thérapeutique se situe dans leur indication thérapeutique : les

de
par
Fig
pa
pa
sér



CONCLUSION

Nous avons observé que les facteurs de variabilité comme l'âge et la souche jouaient un rôle prépondérant dans la réponse aux tests comportementaux, le FST et le TST. Le choix d'une souche appropriée semble un facteur non négligeable pour permettre la mise en évidence d'une activité antidépressive. Nous pouvons affirmer que les souris de **la souche Swiss** présentaient une réponse en terme d'amplitude (taille de l'effet) beaucoup plus importante que les autres souches évaluées dans ces tests.

Grâce à cette souche de souris en utilisant la même gamme de doses dans les tests comportementaux et neurobiochimiques, nous avons démontré qu'il n'existait pas une corrélation au sens mathématique, mais **une relation inverse** entre la baisse du temps d'immobilité observée dans le FST et l'augmentation des concentrations extracellulaires noradrénergiques provoquée en microdialyse par un IRSS (figures 28 et 29). Il existe cependant des limites à l'établissement de ce concept car les temps d'analyse sont différents dans les deux tests : le recueil des dialysats est effectué toutes les 15 min en microdialyse, tandis que l'activité de l'antidépresseur sur le temps d'immobilité est mesurée sur une période de 4 min. Comme il ne nous est pas possible de changer la durée du FST mis au point par Porsolt sans l'invalider, il nous paraît plus simple d'essayer de diminuer le temps de recueil des dialysats (< 5 min) en utilisant une technique d'analyse de la 5-HT plus fine que la CLHP, par exemple l'électrophorèse capillaire. Ceci est en cours de réalisation à la Faculté de Pharmacie-UPS (laboratoire de Chimie Analytique) (Dr Myriam Taverna).

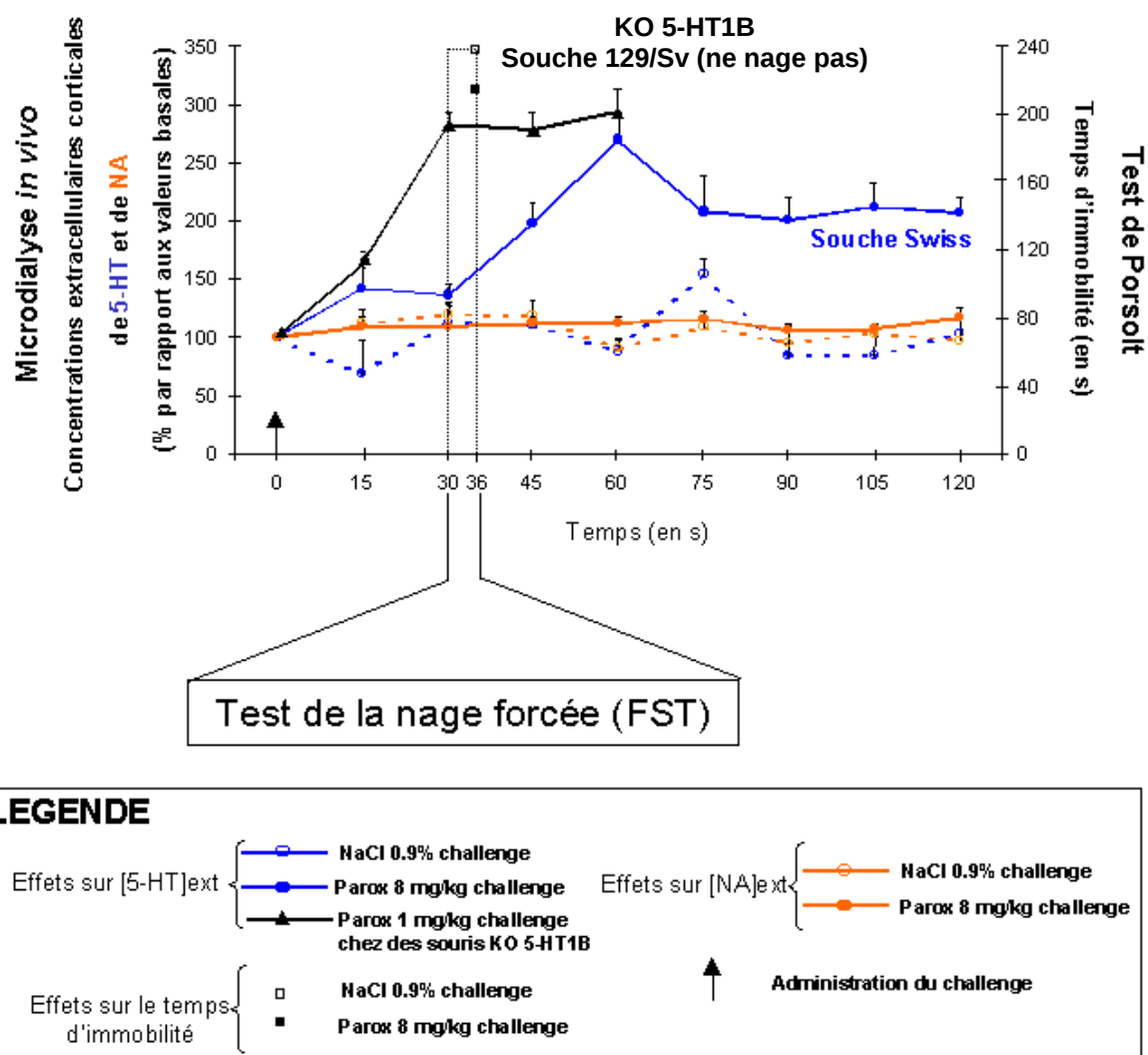
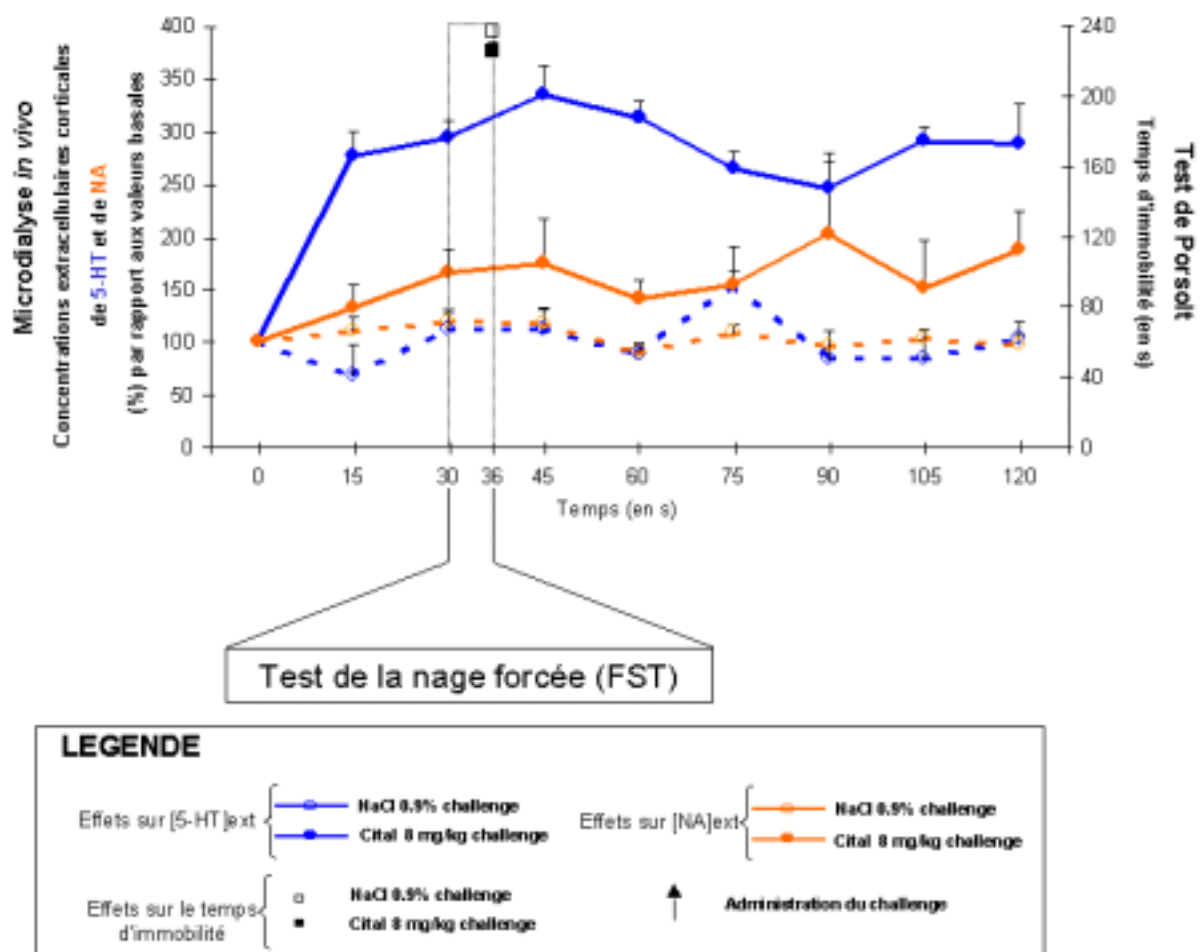


Figure 28 – Relation entre la baisse du temps d'immobilité (FST) et l'effet sur les concentrations extracellulaires de sérotonine et de noradrénaline (microdialyse) mesurées dans le cortex médian préfrontal suite à l'administration d'une dose challenge de paroxétine (8 mg/kg) après 14 jours de traitement avec de la paroxétine à 1 mg/kg/j chez la souris Swiss



) mesurées dans le cortex médian préfrontal suite à l'administration d'une dose challenge de citalopram (8 mg/kg) après 14 jours de traitement avec du citalopram à 1 mg/kg/j chez la souris Swiss

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADELL A., CELADA P., ABELLAN M.T., ARTIGAS F. Origin and functional role of the extracellular serotonin in the midbrain raphe nuclei. *Brain Res. Brain Res.*, 2002, 39, 154-180

ADELL A., CELADA P., ARTIGAS F. The role of 5-HT_{1B} receptors in the regulation of serotonin cell firing and release in the rat brain. *J. Neurochem.*, 2001, 79, 172-182

ADHAM N., ROMANIENKO P., HARTIG P., WEINSHANK R.L., BRANCHEK T. The rat 5-hydroxytryptamine_{1B} receptor is the species homologue of the human 5-hydroxytryptamine_{1D β} receptor. *Mol. Pharmacol.*, 1992, 41, 1-7

AGHAJANIAN G.K. Electrophysiology of serotonin receptor subtypes and signal transduction pathways. In : *Psychopharmacology : The fourth generation of progress*. Eds. F.R. BLOOM, D.J. KUPFER, New York, Raven., 1995, p1451-1459

AHLQUIST R.P. A study of the adrenoceptor. *Am. J. Physiol.*, 1948, 153, 58-600

ALBERT P.R., ZHOU QY., VAN TOL H.H.M., CIVELLI O. Cloning, functional expression and messenger RNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor gene. *J. Biol. Chem.*, 1990, 265, 5825-5832

ALCARO A., CABIB S., VENTURA R., PUGLISI-ALLEGRA S. Genotype- and experience-dependent susceptibility to depressive-like responses in the forced swimming test. *Psychopharmacology*, 2002, 164, 138-143

ALLAIN H., BENTUÉ FERRER D. Central neurotransmission in elderly. In: *molecular Basis of aging*. Ed. par MACIERA-COECHO A., Boca Raton, CRC Press, 1995, p511-525

ALONSO S.J., CASTELLANO M.A., AFONSO D., RODRIGUEZ M. Sex differences in behavioural despair : relationship between behavioural despair and open field activity. *Physiol. Behav.*, 1991, 49, 69-72

ALTSHULER L.L. The use of SSRIs in depressive disorders specific to women. *J. Clin. Psychiatry*, 2002, 63, 3-8

ANGST J., DOBLER-MIKOLA A. Do the diagnostic criteria determine the sex ratio in depression? *J. Affect. Disord.*, 1984, 7, 189-198

ANISMAN H., SUISSA A., SKLAR L.S. Escape induced by uncontrollable stress: antagonism by dopamine and norepinephrine agonists. *Behav. Neur. Biol.*, 1980, 28, 34-47

ANSEAU M. Hormonal disturbances in depression. In: *Depression: Neurobiological, Psychopathological and Therapeutics advances*. Ed. par HONIG A., VAN PRAAG H.M. Chichester, Wiley, 1997, p235-250

ARORA R.C., MELTZER H.Y. Serotonergic measures in the brains of suicide victims: 5-HT₂ binding sites in the frontal cortex of suicide victims and control subjects. *Am. J. Psychiatry*, 1989, 146, 730-736

ARTIGAS F. Limitations to enhancing the speed of onset of antidepressants - are rapid action antidepressants possible? *Hum. Psychopharmacol.*, 2001, 16, 29-36

ARTIGAS F. Selective Serotonin/Noradrenaline Reuptake Inhibitors (SNRIs). *CNS drugs*, 1995, 4, 79-89

ARTIGAS F., NUTT D.J., SHELTON R. Mechanism of actions of antidepressants. *Psychopharmacol. Bull.*, 2002, 2, 123-132

ARTIGAS F., ROMERO L., DE MONTIGNY C., BLIER P. Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends Neurosci.*, 1996, 19, 378-383

ARTIGAS F., PEREZ V., ALVAREZ E. Pindolol induces a rapid improvement of depressed patients treated with serotonin reuptake inhibitors. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1994, 51, 248-251

ASE A.R., SENECA J., READER T.A., HEN R., DESCARRIES L. Decreased G-protein coupling of serotonin 5-HT(1A) receptors in the brain of 5-HT(1B) knockout mouse. *Neuropharmacology*, 2002, 42, 941-949

ASE A.R., READER T.A., HEN R., RIAD M., DESCARRIES L. Regional changes in density of serotonin transporter in the brain of 5-HT1A and 5-HT1B knockout mice, and of serotonin innervation in the 5-HT1B knockout. *J. Neurochem.* 2001, 78, 619-630

APPARSUNDARAM S., SCHROETER S., GIOVANETTI E., BLAKELY R.D. Acute regulation of norepinephrine transport: II. PKC-modulated surface expression of human norepinephrine transporter proteins. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1998, 287, 744-751

ASTON-JONES G., AKAOKA H., CHARLETY P., CHOUVET G. Serotonin selectively attenuates glutamate-evoked activation of noradrenergic locus coeruleus neurons. *J. Neurosci.*, 1991, 11, 760-769

AUSTIN M.C., BRADLEY C.C., MANN J.J., BLAKELY R.D. Expression of serotonin transporter messenger RNA in the human brain. *J. Neurochem.*, 1994, 62, 2362-2377

BABY S., NGUYEN M., TRAN D., RAFFAE.B. Substance P antagonists: the next breakthrough in treating depression? *J.Clin. Pharm.*, 1999, 56, 178-183

BAI F., LI X., CLAY M., LINDSTROM T., SKOLNICK P. Intra- and interstrain differences in models of « behavioral despair ». *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2001, 70, 187-192

BANKI CM, BISSETTE G, ARATO M, O'CONNOR L, NEMEROFF CB. CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depression and schizophrenia. *Am. J. Psychiatry*, 1987, 144, 873-877

BARDEN N., REUL J.M., HOLSBOER F. Do antidepressants stabilize mood through actions on the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system? *Trends Neurosci.*, 1995, 18, 6-11

BARKER E.L., PERLMAN M.A., ADKINS E.M., HOULIHAN W.J., PRISTUPA Z.B., NIZNIK H.B., BLAKELY R.D. High affinity recognition of serotonin transporter antagonists

defined by species-scanning mutagenesis. An aromatic residue in transmembrane domain I dictates species-selective recognition of citalopram and mazindol. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 19459-19468

BARKER E.L., BLAKELY R.D. Identification of a single amino acid, phenylalanine 586, that is responsible for high affinity interactions of tricyclic antidepressants with the human serotonin transporter. *Mol. Pharmacol.*, 1996, 50, 957-965

BARKER E.L., MOORE K.R., RAKHSHAN F., BLAKELY R.D. Transmembrane domain I contributes to the permeation pathway for serotonin and ions in the serotonin transporter. *J. Neurosci.*, 1999, 19, 4705-4017

BARNES N.M., SHARP T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Pharmacology* 1999, 38, 1083-1152

BARROS H.M., FERIGOLO M. Ethopharmacology of imipramine in the FST/gender differences. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1998, 23, 279-86

BAUMAN A.L., APPARSUNDARAM S., RAMAMOORTHY S., WADZINSKI B.E., VAUGHAN R.A., BLAKELY R.D. Cocaine and antidepressant-sensitive biogenic amine transporters exist in regulated complexes with protein phosphatase 2A. *J. Neurosci.*, 2000, 20, 7571-7578

BEL N., ARTIGAS F. Chronic treatment with fluvoxamine increase extracellular serotonin in frontal cortex but not in raphe nuclei. *Synapse*, 1993, 15, 243-245

BELLIVIER F., LEROUX M., HENRY C., RAYAH F., ROUILLON F., LAPLANCHE J.L., LEBOYER M. Serotonin transporter gene polymorphism influences age at onset in patients with bipolar affective disorder. *Neurosci. Lett.*, 2002, 334, 17-20

BELZUNG C., SCEARCE-LEVIE K., BARREAU S., HEN R. Absence of cocaine-induced place conditioning in serotonin 1B receptor knock-out mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2000, 66, 221-225

BENGEL D., JOHRENO., ANDREWS A.M., HEILS A., MOSSNER R., SANVITTO G.L., SAAVEDRA J.M., LESCH K.P., MURPHY D.L. Cellular localization and expression of the serotonin transporter in mouse brain. *Brain Res.*, 1997, 778, 338-345

BENGEL D., MURPHY D.L., ANDREWS A.M., WICHEMS C.H., FELTNER D., HEILS A., MOSSNER R., WESTPHAL H., LESCH K.P. Altered brain serotonin homeostasis and locomotor insensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine ("Ecstasy") in serotonin transporter-deficient mice. *Mol. Pharmacol.*, 1998, 53, 649-655

BERMAN R.M., ANAND A., CAPPIELLO A., MILLER H.L., HU X.S., OREN D.A., CHARNEY D.S. The use of pindolol with fluoxetine in the treatment of major depression: final results from a double-blind, placebo-controlled trial. *Biol. Psychiatry*, 1999, 45, 1170-1177

BERMAN R.M., DARNELL A.M., MILLER H.L., ANAND A., CHARNEY D.S. Effect of pindolol in hastening response to fluoxetine in the treatment of major depression: a double-blind, placebo-controlled trial. *Am. J. Psychiatry*, 1997, 154, 37-43

BERVOETS K., RIVET J.M., MILLAN M.J. 5-HT_{1A} receptors and the tail-flick response. IV. Spinally localized 5-HT_{1A} receptors postsynaptic to serotonergic neurones mediate spontaneous tail-flicks in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1993, 264, 95-104

BESKOW J., GOTTFRIES C.G., ROOS B.E., WINBLAD B. Determination of monoamine and monoamine metabolites in the human brain: post mortem studies in a group of suicides and in a control group. *Acta. Psychiatr. Scand.*, 1976, 53, 7-20

BESSON A., PRIVAT A.M., ESCHALIER A., FIALIP J. Dopaminergic and opiodergic mediation of tricyclic antidepressants in the learned helplessness paradigm. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1999, 64, 541-548

BIALA G. Antidepressant-like properties of some serotonin receptor ligands and calcium channel antagonists measured with the forced swimming test in mice. *Pol. J. Pharmacol.*, 1998, 50, 117-124

BIDMON HJ, SCHLEICHER A, WICKE K, GROSS G, ZILLES K. Localisation of mRNA for h5-HT1B and h5-HT1D receptors in human dorsal raphe. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 2001, 363, 364-368

BILL D.J., KNIGHT M., FORSTER E.A., FLETCHER A. Direct evidence for an important species difference in the mechanism of 8-OH-DPAT-induced hypothermia. *Br. J. Pharmacol.*, 1991, 103, 1857–1864

BJÖRKLUND M., SIRVIO J., PUOLIVALI J., SALLINEN J., JAKALA P., SCHEININ M., KOBILKA B.K., RIEKKINEN P. Jr. Alpha2C-adrenoceptor-overexpressing mice are impaired in executing nonspatial and spatial escape strategies. *Mol. Pharmacol.*, 1998, 54, 569-576

BLAKELY R.D. Physiological genomics of antidepressant targets: keeping the periphery in mind. *J. Neurosci.*, 2001, 212, 8319-8323

BLAKELY R.D., BERSON H.E., FREMEEAU R.T. Jr., CARON M.G., PEEK M.M., PRINCE H.K., BRADLEY C.C. Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. *Nature*, 1991, 354, 66-70

BLAKELY R.D., DE FELICE L.J., HARTZELL H.C. Molecular physiology of norepinephrine and serotonin transporters. *J. Exp. Biol.*, 1994, 196, 263-281

BLIER P. The pharmacology of putative early-onset antidepressant strategies. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 2003, 13, 57-66.

BLIER P. Crosstalk between the norepinephrine and serotonin systems and its role in the antidepressant response. *J. Psychiatry Neurosci.*, 2001, 26, S3-S10

BLIER P., BERGERON R. Effectiveness of pindolol with selected antidepressant drugs in the treatment of major depression. *J. Clin. Psychopharmacol.*, 1995, 15, 217-222

BLIER P., DE MONTIGNY C. Current advances and trends in the treatment of depression. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1994, 15, 220-226

BLIER P., SERRANO A., SCATTON B. Differential responsiveness of the rat dorsal and median raphe 5-HT systems to 5-HT, receptor agonists and *p*-chloroamphetamine. *Synapse.*, 1990, 5, 120-133

BOBKER D.H. A slow excitatory postsynaptic potential mediated by 5-HT₂ receptors in nucleus prepositus hypoglossi. *J. Neurosci.*, 1994, 14, 2428-2434

BOBKER D.H., WILLIAMS J.T. Serotonin agonists inhibit synaptic potentials in the rat locus ceruleus in vitro via 5-hydroxytryptamine_{1A} and 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1989, 250, 37-43

BOESS F.G., MARTIN I.L. Molecular biology of 5-HT receptors. *Neuropharmacology.*, 1994, 33, 275-317

BOISSIER J.R., SIMON P. Action de la caféine sur la motilité spontanée de la souris. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1965, 158, 212-221

BOHN L.M., XU F., GAINETDINOV R.R., CARON M.G. Potentiated Opioid Analgesia in Norepinephrine Transporter Knock-Out Mice. *J. Neurosci.*, 2000, 20, 9040-9045

BORSINI F. Role of the serotonergic system in the forced swimming test. *Neurosci. Behav. Rev.*, 1995, 19, 377-395

BORSINI F., CESANA R., KELLY J., LEONARD B.E., MCNAMARA M., RICHARDS J., SEIDEN L. BIMT 17: a putative antidepressant with a fast onset of action? *Psychopharmacology*, 1997, 134, 378-386

BORSINI F., MELI A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*, 1988, 94, 147-160

BOURIN M. Is it possible to predict the activity of a new antidepressant in animals with simple psychopharmacological tests? *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 1990, 4, 49-64

BOURIN M., DAVID D.J., JOLLIET P., GARDIER A. Mechanism of action of antidepressants and therapeutic perspectives. *Thérapie*, 2002, 57, 385-396

BOURIN M., COLOMBEL M.C., REDROBE J.P., NIZART J., HASCOËT M., BAKER G.B. Evaluation of efficacies of different classes of antidepressants in the forced swimming test in mice at different ages. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 1998, 22, 343-351

BOURIN M., PONCELET M., CHERMAT R., SIMON P. The value of reserpine test in psychopharmacology. *Arzneim. Forsch.*, 1983, 33, 1173-1176.

BOUWKNECHT J.A., HIJZEN T.H., VAN DER GUGTEN J., DIRKS A., MAES R.A., HEN R., GEYER M.A., OLIVIER B. Startle responses, heart rate, and temperature in 5-HT_{1B} receptor knockout mice. *Neuroreport*, 2000, 11, 4097-4102

BOUWKNECHT J.A., VAN DER GUGTEN J., HIJZEN T.H., MAES R.A., HEN R., OLIVIER B. Corticosterone responses in 5-HT_{1B} receptor knockout mice to stress or 5-HT_{1A} receptor activation are normal. *Psychopharmacology*, 2001, 153, 484-490

BOSCHERT U., AMARA D.A., SEGU L., HEN R. The mouse 5-hydroxytryptamine_{1B} receptor is localized predominantly on axon terminals. *Neuroscience*, 1994, 58, 167-82

BOURNE H.R., BUNNEY W.E. Jr, COLBURN R.W., DAVIS J.M., DAVIS J.N., SHAW D.M., COPPEN A.J. Noradrenaline, 5-hydroxytryptamine, and 5-hydroxyindoleacetic acid in hindbrains of suicidal patients. *Lancet*, 1968, 2, 805-808

BOUTREL B., FRANC B., HEN R., HAMON M., ADRIEN J. Key role of 5-HT_{1B} receptors in the regulation of paradoxical sleep as evidenced in 5-HT_{1B} knock-out mice. *J. Neurosci.*, 1999, 19, 3204-3212

BOYCE S., SMITH D., CARLSON E., HEWSON L., RIGBY M., O'DONNELL R., HARRISON T., RUPNIAK N.M. Intra-amygdala injection of the substance P [NK(1) receptor] antagonist L-760735 inhibits neonatal vocalisations in guinea-pigs. *Neuropharmacology*, 2001, 41, 130-137

BRADY L.S., WHITFIELD H.J. Jr, FOX R.J., GOLD P.W., HERKENHAM M. Long-term antidepressant administration alters corticotropin-releasing hormone, tyrosine hydroxylase, and mineralocorticoid receptor gene expression in rat brain. Therapeutic implications. J. Clin. Invest., 1991, 87, 831-837

BRADLEY C.C., BLAKELY R.D. Alternative splicing of the human serotonin transporter gene. J. Neurochem., 1997, 69, 1356-1367

BRESLAU N., DAVIS G.C. Chronic stress and major depression. Arch. Gen. Psychiat., 1986, 43, 309-314

BRILEY M., CHOPIN P., MARIEN M., MORET C., 1997. Functional neuropharmacology of compounds acting at 5-HT_{1B/D} receptors. In: Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS. Eds par BAUMGARTEN H.G., GÖTHERT M. Springer-Verlag, Berlin, 1997, p269–291

BRILEY M., MORET C. Neurobiological mechanisms involved in antidepressant therapies. Clin. Neuropharmacol., 1993, 16, 387-400

BRILEY M., PROST J.F., MORET C. Preclinical pharmacology of milnacipran. Int. Clin. Psychopharmacol., 1996, 11, 9-14

BROTTO L.A., GORZALKA B.B., LAMARRE A.K. Melatonin protects against the effects of chronic stress on sexual behaviour in male rats. Neuroreport, 2001, 12, 3465-3469

BROWN R.G. Effects of antidepressants and anticholinergics in a mouse “behavioural despair” test. Eur. J. Pharmacol., 1979, 58, 331-334

BRUINVELS A.T., PALACIOS J.M., HOYER D. Autoradiographic characterisation and localisation of 5-HT_{1D} compared to 5-HT_{1B} binding sites in rat brain. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1993, 347, 569-582

BRUSS M., PORZGEN P., BRYAN-LLUKA L.J., BONISCH H. The rat norepinephrine transporter: molecular cloning from PC12 cells and functional expression. Brain Res. Mol. Brain Res., 1997, 52, 257-262

BUCK K.J., AMARA S.G. Structural domains of catecholamine transporter chimeras involved in selective inhibition by antidepressants and psychomotor stimulants. *Mol. Pharmacol.*, 1995, 48, 1030-1037

BUCK K.J., AMARA S.G. Chimeric dopamine-norepinephrine transporters delineate structural domains influencing selectivity for catecholamines and 1-methyl-4-phenylpyridinium. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1994, 91, 12584-12588

BUNNEY W.E., DAVIS J. Norepinephrine in depressive reactions: a review. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1965, 13, 483-494

BURNET P.W., EASTWOOD S.L., LACEY K., HARRISON P.J. The distribution of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor mRNA in human brain. *Brain Res.*, 1995, 676, 157-168

BURT V.K., STEIN K. Epidemiology of depression throughout the female life cycle. *J. Clin. Psychiatry*, 2002, 63, 9-15

BUTLER J., TANNIAN M., LEONARD B.E. The chronic effects of desipramine and sertraline on platelet and synaptosomal 5-HT uptake in olfactory bulbectomized rats. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 1988, 12, 585-594

BYLUND D.B., BOND R.A., BOUVIER M., CLARKE D.E., EIKENBURG D.C., HIEBLE J.P., KOBILKA B.K., LANGER S.Z., LEFKOWITZ R.J., MINNEMAN K.P., RUFFOLO R.R., STROBERG A.D. Adrenoreceptors. In: The IUPHAR Compendium of receptor characterization and classification. 5^{ème} édition. Ed. par GIRDLESTONE D., London, IUPHAR Media, 2000, p88-103

BYLUND D.B., EIKENBURG D.C., HIEBLE J.P., LANGER S.Z., LEFKOWITZ R.J., MINNEMAN K.P., MOLINOFF P.B., RUFFOLO R.R., TRENDLENBURG U. International Union of Pharmacology nomenclature of adrenoreceptors. *Pharmacol. Rev.*, 1994, 46, 121-136

BYLUND DB. Subtypes of alpha 1- and alpha 2-adrenergic receptors. *FASEB J.* 1992, 6, 832-839

BYMASTER F.P., ZHANG W., CARTER P.A., SHAW J., CHERNET E., PHEBUS L., WONG D.T., PERRY K.W. Fluoxetine, but not other selective serotonin reuptake inhibitors, increases norepinephrine and dopamine extracellular levels in prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, 2002, 160, 353-361

CACCIA S., ANELLI M., CODEGONI A.M., FRACASSO C., GARATTINI S. The effects of single and repeated anorectic doses of 5-hydroxytryptamine uptake inhibitors on indole levels in rat brain. *Br. J. Pharmacol.*, 1993, 110, 355-359

CAILLE D., BERGIS O.E., FANKHAUSER C., GARDES A., ADAM R., CHARIERAS T., GROSSET A., ROVEI V., JARREAU F.X. Befloxatone, a new reversible and selective monoamine oxidase inhibitor. II. Pharmacological profile. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277, 265-277

CALDECOTT-HAZARD S., GUZE B.H., KLING M.A., KLING A., BAXTER L.R. Clinical and biochemical aspects of depressive disorders: I. Introduction, classification, and research techniques. *Synapse*, 1991, 8, 185-211

CAILLE D., BERGIS O.E., FANKHAUSER C., ADAM R., CHARIERAS T., GROSSET A., ROV V., JARREAU F.X. Befloxatone, a new reversible and selective monoamine oxidase-A inhibitor II. Pharmacological profile. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 227, 265-277

CAIRNCROSS K.D., COX B., FORSTER C., WREN A. The ability of local injection of 6-OHDA, 5,6-DHT and 5,7-DHT into the olfactory bulbs to mimic the effects of bilateral bulbectomy in the rat. *Br. J. Pharmacol.*, 1977a, 61, 145-146

CAIRNCROSS K.D., WREN A.F., COX B., SCHNIEDEN H. Effects of olfactory bulbectomy and domicile on stress induced corticosterone release in the rat. *Physiol. Behav.*, 1977b, 119, 485-487

CARLEZON W.A., PLIAKAS A.M., PAROW A.M., DETKE M.J., COHEN B.M., RENSHAW P.F. Antidepressant-like effects of cytidine in the forced swim test in rats. *Biol. Psychiatry*, 2002, 51, 882-889

CASANOVA J.M., ARTIGAS F. Differential effects of ipsapirone on 5-hydroxytryptamine release in the dorsal and median raphe neuronal pathways. *J. Neurochem.*, 1996, 67, 1945-1952

CASTANON N., SCEARCE-LEVIE K., LUCAS J.J., ROCHA B., HEN R. Modulation of the effects of cocaine by 5-HT_{1B} receptors: a comparison of knockouts and antagonists. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2000, 67, 559-566

CERVO L., GRIGNASCHI G., NOWAKOWSKA E., SAMANIN R. 1-(3-Trifluoromethylphenyl) piperazine (TFMPP) in the ventral tegmental area reduces the effect of desipramine in the forced swimming test in rats: possible role of serotonin receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 1989, 171, 119-125

CHAKI S., HIROTA S., FUNAKOSHI T., SUZUKI Y., SUETAKE S., OKUBO T., ISHII T., NAKAZATO A., OKUYAMA S. Anxiolytic-like and antidepressant-like activities of MCL0129 (1-[(S)-2-(4-fluorophenyl)-2-(4-isopropylpiperidin-1-yl)ethyl]-4-[4-(2-methoxynaphthalen-1-yl)butyl]piperazine), a novel and potent nonpeptide antagonist of the melanocortin-4 receptor. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2003, 304, 818-826

CHALMERS D.T., WATSON S.J. Comparative anatomical distribution of 5-HT_{1A} receptor mRNA and 5-HT_{1A} binding in rat brain--a combined in situ hybridisation/in vitro receptor autoradiographic study. *Brain Res.*, 1991, 561, 51-60

CHANG A.S., CHANG S.M., STARNES D.M., SCHROETER S., BAUMAN A.L., BLAKELY R.D. Cloning and expression of the mouse serotonin transporter. *Brain. Res. Mol. Brain. Res.* 1996, 43, 185-192

CHANG A.S., LAM D.M.K. Mechanistic analyses of ion dependences in a high-affinity human serotonin transport system in transfected murine fibroblast cells. *J. Physiol.*, 1998, 510, 903-913

CHANG A.S., STARNES D.M., CHANG S.M. Possible existence of quaternary structure in the high-affinity serotonin transport complex. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998, 249, 416-421

CHEETHAM S.C., CROMPTON M.R., KATONA C.L., HORTON R.W. Brain 5-HT₂ receptor binding sites in depressed suicide victims. *Brain Res.*, 1998, 443, 272-280

CHEN Y., PENINGTON N.J. QEHA27, a peptide that binds to G-protein beta gamma-subunits, reduces the inhibitory effect of 5-HT on the Ca²⁺ current of rat dorsal raphe neurons. *Neurosci. Lett.*, 1997, 224, 87-90

CHEN Y., PENINGTON N.J. Differential effects of protein kinase C activation on 5-HT_{1A} receptor coupling to Ca²⁺ and K⁺ currents in rat serotonergic neurones. *J. Physiol.*, 1996, 496, 129-137

CHEN N.H., REITH M.E. Monoamine interactions measured by microdialysis in the ventral tegmental area of rats treated systemically with (±)-8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino) tetralin. *J. Neurochem.*, 1995, 64, 1585-1597

CHEN J.G., SACHPATZIDIS A., RUDNICK G. The third transmembrane domain of the serotonin transporter contains residues associated with substrate and cocaine binding. *J. Biol. Chem.* 1997, 272, 28321-28327

CHEN A.C., SHIRAYAMA Y., SHIN K., NEVE R.L., DUMAN R.S. Expression of cAMP response element binding protein (CREB) hippocampus produces an antidepressant effect. *Biol. Psychiat.*, 2001, 49, 753-762

CLARK M.S., NEUMAIER J.F. The 5-HT_{1B} receptor: behavioral implications. *Psychopharmacol. Bull.*, 2001, 35, 170-185

CLARKE W.P., YOCCA F.D., MAAYANI S. Lack of 5-hydroxytryptamine_{1A}-mediated inhibition of adenylyl cyclase in dorsal raphe of male and female rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277, 1259-1266.

CLAWGES H.M., DEPREEE K.M., PARKER E.M., GRABER S.G. Human 5-HT₁ receptor subtype exhibit distinct G protein coupling behaviors in membranes from Sf9 cells. *Biochemistry*, 1997, 36, 12930-12938.

CLIFTON P.G., LEE M.D., SOMERVILLE E.M., KENNETT G.A., DOURISH C.T. 5-HT_{1B} receptor knockout mice show a compensatory reduction in 5-HT_{2C} receptor function. *Eur. J. Neurosci.*, 2003, 17, 185-190

COHEN C., PERRAULT G., SANGER D.J. Assessment of the antidepressant-like effects of L-type-voltage channel modulators. *Behav. Pharmacol.*, 1997, 8, 629-638

COMPAN V., SEGU L., BUHOT M.C., DASZUTA A. Selective increases in serotonin 5-HT_{1B/1D} and 5-HT_{2A/2C} binding sites in adult rat basal ganglia following lesions of serotonergic neurons. *Brain Res.*, 1998, 793, 103-111

CONDORELLI D.F., DELL'ALBANI P., MUDO G., TIMMUSK T., BELLUARDO N. Expression of neurotrophins and their receptors in primary astroglial cultures: Induction by camp elevating agents. *J. Neurochem.*, 1994, 63, 509-516

COOLS A.R. Role of the neostriatal dopaminergic activity in sequencing and selecting behavioural strategies: facilitation of processes involved in selecting the best strategy in a stressful situation. *Behav. Brain Res.*, 1980, 1, 361-378

COOPER J.R., BLOOM F.E., ROTH R.H. Serotonin (5-hydroxytryptamine) and histamine. In: Cardiovascular pharmacology of 5-hydroxytryptamine. Ed. par SAXENA P.R., WALLIS D.I., WOUTERS W., BEVAN P. Kluwer academic publishers, Dordrecht, Hollande, 1991, p259-270

COPPEN A. Biochemistry of affective disorders. *Br. J. Psychiatry*, 1967, 113, 1237-1264

CORTES R., SORIANO E., PAZOS A., PROBST A., PALACIOS J.M. Autoradiography of antidepressant binding sites in the human brain: localization using [³H]imipramine and [³H]paroxetine. *Neuroscience*, 1988, 27, 473-496

COSTA E., GARATTINI S., VALZELLI L. Interaction between reserpine, chlorpromazine and imipramine. *Experientia*, 1966, 22, 461-463

CRABBE J.C. Jr, JOHNSON N.A., GRAY D.K., KOSOBUD A., YOUNG E.R. Biphasic effects of ethanol on open-field activity: sensitivity and tolerance in C57BL/6N and DBA/2N mice. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1982, 96, 440-451

CRABBE J.C., PHILLIPS T.J., FELLER D.J., HEN R., WENGER C.D., LESSOV C.N., SCHAFER G.L. Elevated alcohol consumption in null mutant mice lacking 5-HT_{1B}. *Nat. Genet.*, 1996, 14, 98-101

CRABBE J.C. WAHLSTEN D., DUDEK B.C. Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science*, 1999, 284, 1670-1672

CREMERS T.I.L.J., WIERSMA F.J., BOSKER J.A., DEN BOER J.A., WESTERINK B.H., WILKSTROM H.V. Is the beneficial antidepressant effect of coadministration of pindolol really due to somatodendritic autoreceptor antagonism? *Biol. Psychiatry*, 2001, 50, 13-21

CRYAN J.F., MARKOU A., LUCKI I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.*, 2002, 23, 238-45

CRYAN J.F., LUCKI I. 5-HT₄ receptors do not mediate the antidepressant-like behavioural effects of fluoxetine in a modified forced swim test. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000, 409, 295-299

DAHLSTRÖM A., FUXE K. Evidence for the existence of monoamine neurones in the central nervous system: I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brainstem neurones. *Acta Physiol. Scand.*, 1965, 64, 1-55

DAHLSTROM A., FUXE K. Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurones. *Acta Physiol. Scand.*, 1964, 62, 232, 1-55

DALVI A., LUCKI I. Murine models of depression. *Psychopharmacology*, 1999, 147, 14-16

DA-ROCHA M.A. Jr., PUECH A.J., THIEBOT M.H. Influence of anxiolytic drugs on the effects of specific serotonin reuptake inhibitors in the forced swimming test in mice. *J. Psychopharmacol.*, 1997, 11, 211-218

D'AQUILA P., MONLEON S., BORSINI F., BRAIN P., WILLNER P. Anti-anhedonic actions of the novel serotonergic agent flibanserin, a potential rapidly-acting antidepressant. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997b, 340, 121-132

D'AQUILA P.S., NEWTON J., WILLNER P. Diurnal variation in the effect of chronic mild stress on sucrose intake and preference. *Physiol. Behav.*, 1997a, 62, 421-426

DA SILVA G.D., MATTEUSSI A.S., DOS SANTOS A.R., CALIXTO J.B., RODRIGUES A.L. Evidence for dual effects of nitric oxide in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. *Neuroreport*, 2000 27, 3699-3702

DAVID D.J.P., BOURIN M., HASCOËT M., COLOMBEL M.C., BAKER G.B., JOLLIET P. Comparison of antidepressant activity in 4- and 40- week-old male mice in the forced swimming test: involvement of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in old mice. *Psychopharmacology*, 2001a, 153, 443-449

DAVID D.J.P., NIC DHONNCHADHA B.Á., JOLLIET P., HASCOËT M., BOURIN M. Are there gender differences in the temperature profile of mice after acute antidepressant administration and exposure to two animal models of depression? *Behav. Brain Res.*, 2001b, 119, 203-211

DAVID D.J.P., NIC DHONNCHADHA B.Á., JOLLIET P., HASCOËT M., BOURIN M. The use of animal models in defining antidepressant response. *Brain Pharmacology*, 2001, 1, 11-35

DAVIES P.A., PISTIS M., HANNA M.C., PETERS J.A., LAMBERT J.J., HALES T.G., KIRKNESS E.F. The 5-HT_{3B} subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature*, 1999, 397, 359-363

DAWSON L.A., NGUYEN H.Q. The role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B/1D} receptors on the modulation of acute fluoxetine-induced changes in extracellular 5-HT: the mechanism of action of (+/-)pindolol. *Neuropharmacology*, 2000, 39, 1044-1052

DE GROOTE L., OLIVIER B., WESTENBERG H.G. Extracellular serotonin in the prefrontal cortex is limited through terminal 5-HT(1B) autoreceptors: a microdialysis study in knockout mice. *Psychopharmacology*, 2002a, 162, 419-424

DE GROOTE L., OLIVIER B., WESTENBERG H.G. The effects of selective serotonin reuptake inhibitors on extracellular 5-HT levels in the hippocampus of 5-HT(1B) receptor knockout mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2002b, 439, 93-100

DELGADO P.L., CHARNEY D.S., MILLER H.L., AGHAJANIAN G.K., LANDIS H., HENINGER G.R. Serotonin function and the mechanism of antidepressant action. Reversal of antidepressant-induced remission by rapid depletion of plasma tryptophan. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1990, 47, 411-418

DEN BOER J.A., BOSKER F.J., SLAAP B.R. Serotonergic drugs in the treatment of depressive and anxiety disorders. *Hum. Psychopharmacol.*, 2000, 15, 315-336

DETKE M.J., JOHNSON J., LUCKI I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp. Clin. Psychopharmacol.*, 1997, 5, 107-112

DETKE M.J., LUCKI I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: The effects of water depth. *Behav. Brain Res.*, 1995, 73, 43-46

DETKE M.J., RICKELS M., LUCKI I. Active behaviours in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 1995, 121, 66-72

DIRKS A., PATTIJ T., BOUWKNECHT J.A., WESTPHAL T.T., HIJZEN T.H., GROENINK L., VAN DER GUGTEN J., OOSTING R.S., HEN R., GEYER M.A., OLIVIER B. 5-HT_{1B} receptor knockout, but not 5-HT_{1A} receptor knockout mice, show reduced startle reactivity and

footshock-induced sensitization, as measured with the acoustic startle response. *Behav. Brain Res.*, 2001, 118, 169-178

DONE C.J., SHARP T. Biochemical evidence for the regulation of central noradrenergic activity by 5-HT_{1A} and 5-HT₂ receptors : microdialysis studies in the awake and anesthetized rat. *Neuropharmacology*, 1994, 33, 411-421

DONE C.J., SHARP T. Evidence that 5-HT₂ receptor activation decreases noradrenaline release in rat hippocampus in vivo. *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 107, 240-245

DOUCET E., POHL M., FATTACCINI C.M., ADRIEN J., MESTIKAWY S.E., HAMON M. In situ hybridization evidence for the synthesis of 5-HT_{1B} receptor in serotonergic neurons of anterior raphe nuclei in the rat brain. *Synapse*, 1995, 19, 18-28

DOUGHERTY D.D., SORTWELL C.E., SAGEN J. Pharmacological specificity of antidepressive activity by monoaminergic neural transplants. *Psychopharmacology*, 1995, 118, 10-18

DUBIN A.E., ERLANDER M.G., HUVAR A., HUVAR R., BUEHLER L.K. Protein and cDNA sequences of a human subunit 5-HT_{3C} of the 5-HT₃ serotonin receptor and uses thereof. *PCT Int. Appl.*, 2001, 80

DUCOTTET C., BELZUNG C. Sensitivity to sub-chronic unpredictable stress is predicted by the level of anxiety in mice. 3rd forum of European Neuroscience, 2002, 042.8, 118

DUDEK B.C., PHILLIPS T.J. Distinctions among sedative, disinhibitory, and ataxic properties of ethanol in inbred and selectively bred mice. *Psychopharmacology*, 1990, 101, 93-99

DULAWA S.C., HEN R., SCEARCE-LEVIE K., GEYER M.A. 5-HT_{1B} receptor modulation of prepulse inhibition: recent findings in wild-type and 5-HT_{1B} knockout mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1998, 861, 79-84

DULAWA S.C., HEN R., SCEARCE-LEVIE K., GEYER M.A. Serotonin_{1B} receptor modulation of startle reactivity, habituation, and prepulse inhibition in wild-type and serotonin_{1B} knockout mice. *Psychopharmacology*, 1997, 132, 125-134

DULAWA S.C., SCEARCE-LEVIE K.A., HEN R., GEYER M.A. Serotonin releasers increase prepulse inhibition in serotonin _{1B} knockout mice. *Psychopharmacology*, 2000, 149, 306-312

DUMAN R.S., HENINGER G.R., NESTLER E.J. A molecular and cellular theory of depression. *Arch. Gen. Psychiatry*, 1997, 54, 597-608

DUMAN R.S., HENINGER G.R., NESTLER E.J. Molecular psychiatry. Adaptations of receptor-coupled signal transduction pathways underlying stress- and drug-induced neural plasticity. *J. Nerv. Ment. Dis.*, 1994, 182, 692-700

DUMAN R.S., NAKAGAWA S., MALBERG J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*, 2001, 25, 836-844

DUNCAN G.E., LITTLE K.Y., KIRKMAN J.A., KALDAS R.S., STUMPF W.E., BREESE G.R. Autoradiographic characterization of [³H]imipramine and [³H]citalopram binding in rat and human brain: species differences and relationships to serotonin innervation patterns. *Brain. Res.*, 1992, 591, 181-197

EARLEY B., LEONARD B.E. Effects of two specific serotonin reuptake inhibitors on the behaviour of the olfactory bulbectomized rat in the open field apparatus. In: *Clinical and Pharmacological Studies in Psychiatric Disorders*. Ed. par BUNNS G.D., NORMAN T.R., DENNERSTEIN L., Libby, London, 1985, p234-240

EDWARDS E., HARKINS K., WRIGHT G., HENN F.A. 5-HT_{1B} receptors in an animal model of depression. *Neuropharmacology*, 30, 101-105

EINAT H., CLENET F., SHALDUBINA A., BELMAKER R.H., BOURIN M. The antidepressant activity of inositol in the forced swim test involves 5-HT₍₂₎ receptors. *Behav. Brain. Res.*, 2001, 118, 77-83

EISENHOFER G. The role of neuronal and extraneuronal plasma membrane transporters in the activation of peripheral catecholamines. *Pharmacol. Ther.*, 2001, 91, 35-62

EISON A.S., EISON M.S., TORRENTE J.R., WRIGHT R.N., YOCCA F.D. Nefazodone: preclinical pharmacology of a new antidepressant. *Psychopharmacol. Bull.*, 1990, 26, 311-315

ENGEL G., GOTHERT M., HOYER D., SCHLICKER E., HILLENBRAND K. Identity of inhibitory presynaptic 5-hydroxytryptamine (5-HT) autoreceptors in the rat brain cortex with 5-HT_{1B} binding sites. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, 1986, 332, 1-7

ERDEN B.F., ULAK G., YILDIZ F., UTKAN T., OZDEMIRCI S., GACAR N. Antidepressant, anxiogenic, and antinociceptive properties of levofloxacin in rats and mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2001, 68, 435-441

ESCHALIER A, FIALIP J., VAROQUAUX O., MAKAMBILA M.C. Study of the clomipramine-morphine interaction in the forced swimming test in mice. *Psychopharmacology*, 1987, 93, 515-519

EVARD A., LAPORTE A.M., CHASTANET M., HEN R., HAMON M., ADRIEN J. 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors control the firing of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the mouse: studies in 5-HT_{1B} knock-out mice. *Eur. J. Neurosci.*, 1999, 11, 3823-3831

EYMIN C., CHARNAY Y., GREGGIO B., BOURAS C. Localization of noradrenaline transporter mRNA expression in the human locus coeruleus. *Neurosci. Lett.*, 1995, 193, 41-44

FABRE V., BEAUFOUR C., EVARD A., RIOUX A., HANOUN N., LESCH K.P., MURPHY D.L., LANFUMEY L., HAMON M., MARTRES M.P. Altered expression and functions of serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter. *Eur. J. Neurosci.*, 2000, 12, 2299-2310

FARGIN A., RAYMOND J.R., LOHSE M.J., KOBILKA B.K., CARON M.G., LEFKOWITZ R.J. The genomic clone G-21 which resembles a β -adrenergic receptor sequence encodes the 5-HT_{1A} receptor. *Nature.*, 1988, 335, 358-360

FARIA M.S., TEIXEIRA N.A. Reversal of learned helplessness by chronic lithium treatment at prophylactic level. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1993, 26, 1201-1212

FERGUSON S.M., BRODKIN J.D., LLOYD G.K., MENZAGHI F. Antidepressant-like effects of the subtype-selective nicotinic acetylcholine receptor agonist, SIB-1508Y, in the learned helplessness rat model of depression. *Psychopharmacology*, 2000, 152, 295-303

FERNSTRÖM J.D., WURTMAN R.J. Brain serotonin content physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science*, 1972, 178, 414-416

FERRARI F., GIULIANI D. Effects of (-) eticlopride and 7-OH-DPAT on the tail-suspension test in mice. *J. Psychopharmacol.*, 1997, 11, 339-344

FERRARI F., CASSINADRI M., TARTONI P.L., TAMPIERI A. Effects of B-HT 920 in tail-suspension test. *Pharmacol. Res.*, 1991, 24, 75-81

FEUERSTEIN T.J., HURING H., VAN VELTHOVEN V., LUCKING C.H., LANDWEHRMEYER G.B. 5-HT_{1D}-like receptors inhibit the release of endogenously formed [3H]GABA in human, but not in rabbit, neocortex. *Neurosci. Lett.*, 1996, 209, 210-214

FIGLEWICZ D.P., BENTSON K., OCRANT I. The effect of insulin on norepinephrine uptake by PC12 cells. *Brain Res. Bull.*, 1993b, 32, 425-431

FIGLEWICZ D.P., SZOT P., ISRAEL P.A., PAYNE C., DORSA D.M. Insulin reduces norepinephrine transporter mRNA in vivo in rat locus coeruleus. *Brain Res.*, 1993b, 602, 161-164

FILLION G. Potential of 5-HT modulator as a drug target for affective disorders. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2000, 1, 104-109

FORD A.P., WILLIAMS T.J., BLUE D.R., CLARKE D.E. Alpha 1-adrenoceptor classification: sharpening Occam's razor. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1994, 15, 167-170

FORSTER E.A., CLIFFE I.A., BILL D.J., DOVER G.M., JONES D., REILLY Y., FLETCHER A. A pharmacological profile of the selective silent 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY-100635. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, 281, 81-88

FRANCES H., CHERMAT R., SIMON P. Oxotremorine behavioural effects as a screening test in mice. *Prog. Neuro-Psychopharmacol.*, 1980, 4, 241-246

FRANKLIN K.B., PAXINOS G. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. Academic Press, 1996, Toronto/San Diego.

FRAZER A. Serotonergic and noradrenergic reuptake inhibitors: prediction of clinical effects from in vitro potencies. *J. Clin. Psychiatry*, 2001, 62, 16-23

FROGER N., GARDIER A.M., MORATALLA R., ALBERTI I., LENA I., BONI C., DE FELIPE C., RUPNIAK N.M., HUNT S.P., JACQUOT C., HAMON M., LANFUMEY L. 5-hydroxytryptamine (5-HT)_{1A} autoreceptor adaptive changes in substance P (neurokinin 1) receptor knock-out mice mimic antidepressant-induced desensitization. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 8188-8197

FUJITA M., SHIMADA S., MAENO H., NISHIMURA T., TOHYAMA M. Cellular localization of serotonin transporter mRNA in the rat brain. *Neurosci. Lett.*, 1993, 162, 59-62

GAINETDINOV R.R., CARON M.G. Monoamine Transporters: From Genes to Behavior. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 2003, 43, 261-284

GARDIER A.M., DAVID D.J.P., JEGO G., PRZYBYLSKI C., JACQUOT C., DURIER S., GRUWEZ B., DOUVIER E., BEAUVERIE P., POISSON N., HEN R., BOURIN M. Effects of chronic paroxetine treatment on dialysate serotonin in 5-HT_{1B} receptor knockout mice. sous presse dans *J. Neurochem.* 2003,

GARDIER A.M., GRUWEZ B., TRILLAT A.C., JACQUOT C., HEN R., BOURIN M. Interaction between 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors : effects of 8-OH-DPAT-induced hypothermia in 5-HT_{1B} receptor knockout mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2001, 421, 171-175

GARDIER A.M., MALAGIE I., TRILLAT A.C., JACQUOT C., ARTIGAS F. Role of 5-HT1A autoreceptors in the mechanism of action of serotonergic antidepressant drugs : recent findings from in vivo microdialysis studies. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 1996, 10, 16-27

GARDIER A.M., TRILLAT A.C., MALAGIE I., DAVID D., HASCOËT M., COLOMBEL M.C., JOLLIET P., JACQUOT C., HEN R., BOURIN M. Récepteurs 5-HT1B de la sérotonine et effets antidépresseurs des inhibiteurs de recapture sélectifs de la sérotonine. *CR. Acad. Sci.*, 2001, 324, 433-441

GARERI P., FALCONI U., DE FAZIO P., DE SARRO G. Conventional and new antidepressant drugs in the elderly. *Prog. Neurobiol.* 2000, 61, 353-396

GASPAR P. Noradrénaline. In: *Neuropeptides et neuromédiateurs*. Ed. par Sandoz, 1995, p143-152

GELERTNER J., KRANZLER H., CUBELLS J.F. Serotonin transporter protein (SLC6A4) allele and haplotype frequencies and linkage disequilibria in African- and European-American and Japanese populations and in alcohol-dependent subjects. *Hum. Genet.*, 1997, 101, 243-246

GILMOR M.L., OWENS M.J., NEMEROFF C.B. Inhibition of norepinephrine uptake in patients with major depression treated with paroxetine. *Am. J. Psychiatry*, 2002, 159, 1702-1710

GIRAL P., MARTIN P., SOUBRIE P., SIMON P. Reversal of helpless behaviour in rats by putative 5-HT1A agonists. *Biol. Psychiat.* 23, 1988, 237-242

GIROS B., WANG Y.M., SUTER S., MCLESKEY S.B., PIFL C., CARON M.G. Delineation of discrete domains for substrate, cocaine and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine-norepinephrine transporters. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 15985-15988

GOBBI G., MURPHY D.L., LESCH K., BLIER P. Modifications of the serotonergic system in mice lacking serotonin transporters: an in vivo electrophysiological study. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 296, 987-995

GOBERT A., MILLAN M.J. Modulation of dialysate levels of dopamine, noradrenaline, and serotonin (5-HT) in the frontal cortex of freely-moving rats by (-)-pindolol alone and in association with 5-HT reuptake inhibitors: comparative roles of beta adrenergic, 5-HT_{1A}, and 5-HT_{1B} receptors. *Neuropsychopharmacology*, 1999, 21, 268-284

GOBERT A., RIVET J.M., CISTARELLI L., MELON C., MILLAN M.J. Buspirone modulates basal and fluoxetine-stimulated dialysate levels of dopamine, noradrenaline and serotonin in the frontal cortex of freely moving rats: activation of serotonin_{1A} receptors and blockade of alpha₂-adrenergic receptors underlie its actions. *Neuroscience*, 1999, 93, 1251-1262

GOBERT A., RIVET M., CISTARELLI L., MELON C., MILLAN J. α ₂-adrenergic receptor blockade markedly potentiates duloxetine- and fluoxetine-induced increases in noradrenaline, dopamine, and serotonin levels in the frontal cortex of freely moving rats. *J. Neurochem.*, 1997, 69, 2616-2619

GOODWIN F.K., MURPHY D.L., DUNNER D.L., BUNNEY W.E. Jr. Lithium response in unipolar versus bipolar depression. *Am J Psychiatry*., 1972, 129, 44-47

GOREA E., DAVENNE D., LANFUMEY L., CHASTANET M., ADRIEN J. Regulation of noradrenergic coerulean neuronal firing mediated by 5-HT₂ receptors : involvement of the prepositus hypoglossal nucleus. *Neuropharmacology*, 1991, 30, 1309-1318

GORMAN J.M. Treatment of generalized anxiety disorder. *J. Clin. Psychiatry*, 2002, 63, 17-23

GOULD E., TANAPAT P., MCEWEN B.S., FLUGGE G., FUCHS E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1998, 95, 3168-3171

GOZLAN H., DAVAL G., VERGE D., SPAMPINATO U., FATTACCINI C.M., GALLISSOT M.C., EL MESTIKAWY S., HAMON M. Aging associated in serotonergic and dopaminergic pre- and postsynaptic neurochemical markers in the rat brain. *Neurobiol. Aging.*, 1990, 11, 437-449

GRECKSCH G., ZHOU D., FRANKE C., SCHRODER U., SABEL B., BECKER A., HUETHER G. Influence of olfactory bulbectomy and subsequent imipramine treatment on 5-hydroxytryptamine presynapses in the rat frontal cortex : behavioural correlates. Br. J. Pharmacol., 1997, 121, 173-179

GRIEBEL G., SIMIAND J., SERRADEIL-LE GAL C., WAGNON J., PASCAL M., SCATTON B., MAFFRAND J.P., SOUBRIE P. Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, 99, 6370-6365

GRIEBEL G., BELZUNG C., PERRAULT G., SANGER D.J. Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice. Psychopharmacology, 2000, 148, 164-170

GUAN X.M., PEROUTKA S.J., KOBILKA, B.K. Identification of a single amino acid residue responsible for the binding of a class of beta-adrenergic receptor antagonists to 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors. Mol. Pharmacol., 1992, 41, 695-698

GUELFY J.D. L'échelle de dépression de Hamilton. In : L'évaluation standardisée en psychiatrie. Ed. par GUELFY J.D., Editions médicales Pierre Fabre, Boulogne, 1993, p187-196

GUMNICK J.F., NEMEROFF C.B. Problems with currently available antidepressants. J. Clin. Psychiatry, 2000, 61, 5-15

GUNDLAH C., SIMON L.D., AUERBACH S.B. Differences in hypothalamic serotonin between estrous phases and gender: an in vivo microdialysis study. Brain Res., 1998, 785, 91-106

HAJ-DAHMANE S., HAMON M., LANFUMEY L. K⁺ Channel and 5-hydroxytryptamine_{1A} autoreceptor interactions in the rat dorsal raphe nucleus: An vitro electrophysiological study. Neuroscience, 1991, 41, 495-505

HAJÓS-KORCSOK E., MCQUADE R., SHARP T. Influence of 5-HT_{1A} receptors on central noradrenergic activity: microdialysis studies using (+/-)-MDL 73005EF and its enantiomers. *Neuropharmacology*, 1999, 38, 299-306

HAJÓS-KORCSOK E., SHARP T. Effect of 5-HT(1A) receptor ligands on Fos-like immunoreactivity in rat brain: evidence for activation of noradrenergic transmission. *Synapse*, 1999, 34, 145-153

HAMBLIN M.W., METCALF M.A. Primary structure and functional characterisation of a human 5-HT_{1D}-type serotonin receptor. *Mol. Pharmacol.*, 1991, 40, 143-148

HAMILTON M. A rating scale for depression. *J. Neurol. Psychiat.*, 1960, 23, 56-62

HAMON M. Sérotonine, 5-hydroxytryptamine (5-HT). In: *Neuropeptides et neuromédiateurs*. Ed. par Sandoz, 1995, p261-270

HANSSON S.R., MEZEY E., HOFFMAN B.J. Serotonin transporter messenger RNA expression in neural crest-derived structures and sensory pathways of the developing rat embryo. *Neuroscience*, 1999, 89, 243-65

HARIRI A.R., MATTAY V.S., TESSITORE A., KOLACHANA B., FERA F., GOLDMAN D., EGAN M.F., WEINBERGER D.R. Serotonin transporter genetic variation and the response of the human amygdala. *Science*, 2002, 297, 400-403

HARKIN A.J., BRUCE K.H., CRAFT B., PAUL I.A. Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice. Acute treatments are active in the forced swim test. *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, 372, 207-213

HARRO J., TONISSAAR M., ELLER M. The effects of CRA 1000, a non-peptide antagonist of corticotropin-releasing factor receptor type 1, on adaptive behaviour in rat. *Neuropeptides*, 2001, 35, 100-109

HASCOËT M., BOURIN M., BRADWEJN J. Behavioural models in mice, implication of the alpha noradrenergic system. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 1991, 15, 825-840

HE M., SIBILLE E., BENJAMIN D., TOTH M., SHIPPENBERG T. Differential effects of 5-HT_{1A} receptor deletion upon basal and fluoxetine-evoked 5-HT concentrations as revealed by in vivo microdialysis. *Brain Res.*, 2001, 902, 11-7

HEILS A., TEUFEL A., PETRI S., STOBBER G., RIEDERER P., BENDEL D., LESCH K.P. Allelic variation of human serotonin transporter gene expression. *J. Neurochem.*, 1996, 66, 2621-2624

HEMBY S.E., LUCKI I., GATTO G., SINGH A., THONLEY C., MATASI J., KONG N., SMITH J.E., DAVIES H.L.M., DWORKIN S.I. Potential antidepressant effects of novel tropane compounds selective for serotonin or dopamine transporters. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1997, 282, 727-733

HEN R. Of mice and flies – commonalities among 5-HT receptors. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1992, 13, 160-165

HEISLER L.K., CHU H.M., BRENNAN T.J., DANA O J.A., BAJWA P., PARSONS L.H., TECOTT L.H. Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1998, 95, 15049-15054

HENSLER J.G., Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life Sci.*, 2003, 72, 1665-1682

HERTTING G., AXELROD J., KOPIN I.J., WHITBY L.G. Lack of uptake of catecholamines after chronic denervation of sympathetic nerves. *Nature*, 1961, 189, 66

HILAKIVI L.A., LISTER R.G. Correlations between behaviour of mice in Porsolt's swim test and in tests of anxiety, locomotion and exploration. *Behav. Neural. Biol.*, 1990, 53, 153-159

HJORTH S. (-)-Pindolol, but not buspirone, potentiates the citalopram-induced rise in extracellular 5-hydroxytryptamine. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 303, 183-186

HJORTH S., SHARP. Effect of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT in the dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. *Life Sci.*, 1991, 48, 1779-1786

HJORTH S., CARLSSON A., LINDBERG P., SANCHEZ D., WIKSTÖM H., ARVIDSSON L.E., HACKSELL U., NILSSON J.L.G. 8-Hydroxy-2-(di-*n*-propylamino)tetralin, 8-OH-DPAT, a potent and selective simplifies ergot congener with central 5-HT receptor stimulating activity. *J. Neural. Transm.*, 1982. 55, 169–188

HOF P.R., YOUNG W.G., BLOOM F.E., BELICHENKO P.V., CELIO M.R. *Mouse Brains: Comparative cytoarchitectonic atlas of the C57BL/6 and 129/SV*. 2000, Elsevier Science.

HOLLADAYS J.W., DEWAY M.J., YOO S.D. Pharmacokinetics and antidepressants activity of fluoxétine in transgenic mice with elevated serum alpha-1-acid glycoprotein levels. *Drugs Metab Dispos*, 1998, 26, 20-24

HOLMES A., MURPHY D.L., CRAWLEY J.N. Reduced aggression on mice lacking the serotonin transporter. *Psychopharmacology*, 2002, 161, 160-167

HOYER D., HANNON J.P., MARTIN G.R. Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2002, 71, 533-554

HOYER D., PAZOS A., PROBST A., PALACIOS J.M. Serotonin receptors in the human brain. I. Characterization and autoradiographic localization of 5-HT_{1A} recognition sites. Apparent absence of 5-HT_{1B} recognition sites. *Brain Res.*, 1986, 18, 85-96

HUMMEL T., HUMMEL C., FRIEDEL I., PAULI E., KOBAL G. A comparison of the antinociceptive effects of imipramine, tramadol and anipriline. *Br. J. Pharmacol.*, 1994, 37, 325-333

HUTSON P.H., BRISTOW L.J., CUNNINGHAM J.R., HOGG J.E., LONGMORE J., MURRAY F., PEARCE D., RAZZAQUE Z., SAYWELL K., TRICKLEBANK M.D., YOUNG L. The effects of GR127935, a putative 5-HT_{1D} receptor antagonist, on brain 5-HT

metabolism, extracellular 5-HT concentration and behaviour in the guinea pig. *Neuropharmacology.*, 1995, 34, 383-392

HRDINA P.D., FOY B., HEPNER A., SUMMERS R.J. Antidepressant binding sites in brain: autoradiographic comparison of [3H]paroxetine and [3H]imipramine localization and relationship to serotonin transporter. *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 1990, 252, 410-418

INVERNIZZI R., BELLI S., SAMANIN R. Citalopram's ability to increase the extracellular concentrations of serotonin in the dorsal raphe prevents the drug's effect in the frontal cortex. *Brain Res.*, 1992, 584, 322-324

INVERNIZZI R.W., PARINI S., SACCHETTI G., FRACASSO C., CACCIA S., ANNONI K., SAMANIN R. Chronic treatment with reboxetine by osmotic pumps facilitates its effect on extracellular noradrenaline and may desensitize alpha(2)-adrenoceptors in the prefrontal cortex. *Br. J. Pharmacol.*, 2001, 132, 183-188

JACOBSEN F.M. Possible augmentation of antidepressant response by buspirone. *J. Clin. Psychiat.*, 1991, 19, 378-383

JANCSAR S., LEONARD B.E. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression. *In: Frontiers in Neuropsychiatric Research*. Ed. par USDIN E., GOLDSTEIN M., FRIEDHOFF A.J., GEORGOTAS A., Macmillan, New York, 1983, p357-372

JESBERGER J.A., RICHARDSON J.S. Differential effects of antidepressant drugs on (3H) dihydroalprenolol and (3H) imipramine ligand recognition sites in olfactory bulbectomized and sham-lesioned rats. *Gen. Pharmacol.*, 1986a, 17, 293-307

JESBERGER J.A., RICHARDSON J.S. Effects of antidepressant drugs on the behaviour of the olfactory bulbectomized and sham operated rats. *Behav. Neurosci.*, 1986b, 100, 256-274

JESBERGER J.A., RICHARDSON J.S. Animal models of depression : Parallels and correlates to severe depression in humans. *Biol. Psychiat.*, 1985, 20, 764-784

JESS U., EL FAR O., KIRSCH J., BETZ H. the membrane-bound rat serotonin transporter, SERT1, is an oligomeric protein. FEBS Lett., 1996, 394, 44-46

JOCA S.R., SKALISZ L.L., BEIJAMINI V., VITAL M.A., ANDREATINI R. The antidepressive-like effect of oxcarbazepine: possible role of dopaminergic neurotransmission. Eur. Neuropsychopharmacol., 2000, 10, 223-228

JOFFE R.T. SCHULLER D.R. An open study of buspirone augmentation of serotonin reuptake inhibitors in refractory depression. J. Clin. Psychiat., 1993, 54, 269-271

JOHNSON R.G., FIORELLA D., WINTER J.C., RABIN R.A. [3H]8-OH-DPAT labels a 5-HT site coupled to inhibition of phosphoinositide hydrolysis in the dorsal raphe. Eur. J. Pharmacol., 1997, 329, 99-106

JONSSON E.G., NOTHEN M.M., GUSTAVSSON J.P., NEIDT H., BUNZEL R., PROPPING P., SEDVALL G.C. Polymorphisms in the dopamine, serotonin, and norepinephrine transporter genes and their relationships to monoamine metabolite concentrations in CSF of healthy volunteers. Psychiatry Res., 1998, 79, 1-9

JORGENSEN H., KJAER A., WARBERG J., KNIGGE U. Differential effect of serotonin 5-HT_{1A} receptor antagonist on the secretion of corticotropin and prolactin. Neuroendocrinology, 2001, 73, 322-323

JOUBERT A.F., SANCHEZ C., LARSEN F. Citalopram. Hum. Psychopharmacol., 2000, 15, 439-451

JIN H., OKSENBERG D., ASHKENAZI A., PEROUTKA S.J., DUNCAN A.M., ROZMAHEL R., YANG Y., MENGOD G., PALACIOS J.M., O'DOWD B.F. Characterization of the human 5-hydroxytryptamine_{1B} receptor. J. Biol. Chem., 1992, 267, 5735-5738

KALKMAN H.O. RU 24969-induced locomotion in rats is mediated by 5-HT_{1A} receptors. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol., 1995, 352, 583-584

KAPLAN H.I., SADOCK B.J. In: Comprehensive Textbook of Psychiatry 6^{ème} edition. Ed. par CANCRO R., Williams & Wilkins, Baltimore, 1995, p27-28

KAROLEWICZ B., PAUL I.A. Group housing of mice increases immobility and antidepressant sensitivity in the forced swim and tail suspension tests. Eur. J. Pharmacol., 2001, 415, 197-201

KATAYAMA J., YAKUSHIJI T., AKAIKE N. Characterization of the K⁺ current mediated by 5-HT_{1A} receptor in the acutely dissociated rat dorsal raphe neurons. Brains Res., 1997, 745, 283-292

KATO M., KATAYAMA T., IWATA H., YAMAMURA M., MATSUOKA Y., NARITA H. In vivo characterization of T-794, a novel reversible inhibitor of monoamine oxidase-A, as an antidepressant with a wide safety margin. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1998, 284, 983-990

KATZ RJ Animal models and human depressive disorders. Neurosci. Biobehav. Rev., 1981, 5, 231-246

KAWASHIMA K., ARAKI H., AIHARA H. Effect of chronic administration of antidepressants on duration of immobility in rats forced to swim. Jap. J. Pharmacol., 1986, 40, 199-204

KAYE D.M., GRUSKIN S., SMITH A.I., ESLER M.D. Nitric oxide mediated modulation of norepinephrine transport: identification of a potential target for S-nitrosylation. Br. J. Pharmacol., 2000, 130, 1060-1064

KELLY S.J., OSTROWSKI N.L., WILSON M.A. Gender differences in brain and behavior: Hormonal and Neural Bases. Pharmacol. Biochem. Behav., 1999, 64, 655-664

KELLY J.P., WRYNN A.S., LEONARD B.E. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: an update. Pharmacol. Therapeut., 1997, 74, 299-316

KENNETT G.A., CHAOULOFF F., MARCOU M., CURZON G. Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression: the possible role of serotonin. *Brain Res.*, 1986, 382, 416-421

KILIC F., RUDNICK G. Oligomernization of serotonin transporter and its functional consequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000, 97, 3106-3111

KIM D.K., LIM S.W., LEE S., SOHN S.E., KIM S., HAHN C.G. CAROLL B. Serotonin transporter gene polymorphism and antidepressant response. *Neuroreport*, 2000, 11, 215-219

KIMELBERG H., KATZ D.M. High affinity uptake of serotonin into immunocytochemically identified astrocytes. *Science*, 1985, 228, 889-891

KITADA Y., MIYAUCHI T., SATOH A., SATOH S. Effects of antidepressants in the rat forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.*, 1982, 72, 145-152

KLIMEK V., STOCKMEIER C., OVERHOLSER J., MELTZER H.Y., KALKA S., DILLEY G., ORDMAN G.A. Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in the major depression. *J. Neurosci.*, 1997, 17, 8451-8458

KNOBELMAN D.A., HEN R., LUCKI I. Genetic regulation of extracellular serotonin by 5-hydroxytryptamine(1A) and 5-hydroxytryptamine(1B) autoreceptors in different brain regions of the mouse. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, 298, 1083-1091

KORNSTEIN S.G., SCHATZBERG A.F., THASE M.E., YONKERS K.A., MCCULLOUGH J.P., KEITNER G.I., GELENBERG A.J., DAVIS S.M., HARRISON W.M., KELLER M.B. Gender differences in treatment response to sertraline versus imipramine in chronic depression. *Am. J. Psychiatry*, 2000, 157, 1445-1452

KRAMER M.S., CUTLER N.R., FEIGHNER J., SHRIVASTAVA R., CARMAN J., SRAMEK J.J., REINES S.A., LIU G., SNAVELY D., WYATT-KNOWLES E., HALE J.J., MILLS S.G., MACCOSS M., SWAIN C.J., HARRISON T., HILL R.G., HEFTI F., SCOLNICK E.M., CASCIERI M.A., CHICCHI G.G., SADOWSKI S., WILLIAMS A.R., HEWSON L., SMITH D., CARLSON E.J., HARGREAVES R.J., RUPNIAK N.M. Distinct mechanism for

antidepressant activity by blockade of central substance P receptors. *Science*, 1998, 281, 1640-1645

KROCZKA B., ZIEBA A., DUDEK D., PILC A., NOWAK G. Zinc exhibit an antidepressant-like effect in the forced swimming test in mice. *Pol. J. Pharmacol.*, 2000, 52, 403-406

KÜHN D.M. WOLF W.A. YODIM M.B.H. Serotonin neurochemistry revisited: a new look at some old axioms. *Neurochem. Int.*, 1986, 8, 141-154

KUNUGI H., TATSUMI M., SAKAI T., HATTORI M., NANKO S. Serotonin transporter gene polymorphism and affective disorder. *Lancet* 1996, 347, 1340

LAASKO A., PALVIMAKI E.P., KUOPPAMAKI M., SYVALATHI E., HIETALA J. Chronic citalopram and fluoxetine treatments upregulate 5-HT_{2C} receptors in the rat choroids plexus. *Neuropsychopharmacology*, 1996, 15, 143-151

LACROIX D., BLIER P., CURET O., DE MONTIGNY C. Effects of long-term desipramine administration on noradrenergic neurotransmission: electrophysiological studies in the rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1991, 257, 1081-1090.

LAHDESMÄKI J., SALLINEN J., MACDONALD E., KOBILKA B.K., FAGERHOLM V., SCHEININ M. Behavioral and neurochemical characterization of $\alpha(2A)$ -adrenergic receptor knockout mice. *Neuroscience*, 2002, 113, 289-299

LAMBERTI C., IPPONI A., BARTOLINI A., SCHUNACK W., MALMBERG-AIELLO P. Antidepressant-like effects of endogenous histamine and of two histamine H₁ receptor agonists in the mouse forced swim test. *Br. J. Pharmacol.*, 1998, 123, 1331-1336

LANGLOIS M., BREMONT B., ROUSSELLE D., GAUDY F. Structural analysis by the comparative molecular field analysis method of the affinity of β -adrenoreceptor blocking agents for 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors. *Eur. J. Pharmacol.*, 1993, 244, 77-87

LANGLOIS X., GERARD C., DARMON M., CHAUVEAU J., HAMON M., EL MESTIKAWY S. Immunolabeling of central serotonin 5-HT_{1D} beta receptors in the rat,

mouse, and guinea pig with a specific anti-peptide antiserum. *J. Neurochem.*, 1995, 65, 2671-2681

LAPORTE A.M., LIMA L., GOZLAN H., HAMON M. Selective in vivo labelling of brain 5-HT_{1A} receptors by [³H]WAY 100635 in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.*, 1994, 271, 505-514

LAURENT A., GOAILLARD J.M., CASES O., LEBRAND C., GASPAR P., ROBERT N. Activity-dependent presynaptic effect of serotonin 1B receptors on the somatosensory thalamocortical transmission in neonatal mice. *J. Neurosci.*, 2002, 22, 886-900

LAYER R.T., POPIK P., OLDS T., SKOLNICK P. Antidepressant-like actions of the polyamine site NMDA antagonist, eliprodil (SL-82.0715). *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1995, 52, 621-627

LEMIEUX G.A., DAVIGNON A., GENEST J. Depressive states during Rauwolfia therapy for arterial hypertension : a report of 30 cases. *Can. Med. Ass. J.*, 1956, 74, 522-526

LEONARD B.E. The role of noradrenaline in depression: a review. *J. Psychopharmacol.*, 1997, 11, S39-47

LEONARD B.E. The bilaterally olfactory bulbectomized rat: a model of depression? In: Antidepressants: thirty years on. Ed. par LEONARD B.E., SPENCER P.S.J. CNS, London, 1990, 109-118

LE POUL E., BONI C., HANOUN, LAPORTE A.M., LAARIS N., CHAUVEAU J., HAMON M., LANFUMEY L. Differential adaptation of brain 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors and 5-HT transporter in rats treated chronically with fluoxetine. *Neuropharmacology*, 2000, 39, 110-122

LERER B., MACCIARDI F. Pharmacogenetics of antidepressant and mood-stabilizing drugs: a review of candidate-gene studies and future research directions. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 2002, 5, 255-275

LESCH K.P. Serotonergic gene expression and depression : implication for developing novel antidepressants. *J. Affect. Disorders*, 2001, 62, 57-76

LESCH K.P., BALLING U., GROSS J., STRAUSS K., WOLOZIN B.L., MURPHY D.L., RIEDERER P. Organization of the human serotonin transporter gene. *J. Neural. Transm. Gen.*, 1994, 95, 157-162

LESCH K.P., BENGEL D., HEILS A., SABOL S.Z., GREENBERG B.D., PETRI S., BENJAMIN J., MULLER C.R., HAMER D.H., MURPHY D.L. Association of anxiety-related traits with a polymorphism in the serotonin transporter gene regulatory region. *Science*, 1996, 274, 1527-1531

LESCH K.P., JATZKE S., MEYER J., STOBBER G., OKLADNOVA O., MOSSNER R., RIEDERER P. Mosaicism for a serotonin transporter gene promoter-associated deletion: decreased recombination in depression. *J. Neural. Transm.*, 1999, 106, 1223-1230

LESCH K.P., WOLOZIN B.L., ESTLER H.C., MURPHY D.L., RIEDERER P. Isolation of a cDNA encoding the human brain serotonin transporter. *J. Neural Transm. Gen. Sect.*, 1993, 91, 67-72

LI Q., WICHEMS C., HEILS A., VAN DE KAR L.D., LESCH K.P., MURPHY D.L. Reduction of 5-hydroxytryptamine (5-HT)(1A)-mediated temperature and neuroendocrine responses and 5-HT(1A) binding sites in 5-HT transporter knockout mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, 291, 999-1007

LIN A.M.Y., BICKFORD P.C., PALMER M.R., GERHARDT G.A. Ethanol inhibits the uptake of exogenous norepinephrine from the extracellular space of the rat cerebellum. *Neurosci Lett*, 1993, 164, 71-75

LIU X., GERSHENFELD H.K. Genetic differences in the tail-suspension test and its relationship to imipramine response among 11 inbred strains of mice. *Biol. Psychiatry*, 2001, 49, 575-581

LLOYD K.G., GARRIGOU D., BROEKKAMP C.L.E. The action of monoaminergic, cholinergic and gabaergic compounds in the olfactory bulbectomized rat model of depression.

In: New Vistas in Depression. Ed. par LANGER S.Z., TAKAHASHI R., SEGAWAS T., BRILEY M. Pergamon Press, New York, 1982, p179-186

LÔO H., LÔO P. Classifications et évaluation des depression. 5^{ème} édition. In : La dépression. Ed. par Presse Universitaire Française Paris : PUF, 2001, p55-68

LORANG D., AMARA S.G., SIMERLY R.B. Cell-type-specific expression of catecholamine transporters in the rat brain. J. Neurosci., 1994, 14, 4903-4914

LOVESTON S., HOWARD R. Tableau clinique de la depression chez le sujet âgé, In : La dépression su sujet âgé. Ed. par DUNITZ M., Royaume-Unis, DepRelief, 1997, p21-25

LUCAS J.J., YAMAMOTO A., SCEARCE-LEVIE K., SAUDOU F., HEN R. Absence of fenfluramine-induced anorexia and reduced c-Fos induction in the hypothalamus and central amygdaloid complex of serotonin 1B receptor knock-out mice. J. Neurosci., 1998, 18, 5537-5544

LUCKI I., DALVI A., MAYORGA A.J. Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. Psychopharmacology, 2001, 155, 315-322

LUCKI I. 5-HT₁ receptors and behaviour. Neurosci. Biobehav. Rev., 1992, 16, 83–93

LUTTINGER D., FREEDMAN M., HAMEL L., WARD S.J., PERRONE M. The effects of serotonin antagonists in a behavioral despair procedure in mice. Eur. J. Pharmacol., 1984, 107, 53-58

MACKENZIE A., QUINN J. A serotonin transporter gene intron 2 polymorphic region, correlated with affective disorders, has allele-dependent differential enhancer-like properties in the mouse embryo. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A., 1999, 96, 15251-15255

MCNAMARA M., KELLY J.P., LEONARD B.E. (1995) Some behavioural effects of methiothepin in the olfactory bulbectomised rat model of depression. Med. Sci. Res., 23, 583-585

MACSWEENEY C.P., LESOURD M., GANDON J.M. Antidepressant-like effects of alnespirone (S 20499) in the learned helplessness test in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 1998, 345, 133-137

MAGARINOS A.M., MCEWEN B.S., FLIGGE G., FUCHS E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J. Neurosci.*, 1996, 16, 3534-3540

MAIER S.F. Learned helplessness, depression, analgesia and endogenous opiates. *Psychopharmacol. Bull.*, 1983, 19, 531-536

MALAGIE I., DAVID D.J., JOLLIET P., HEN R., BOURIN M., GARDIER A.M. Improved efficacy of fluoxetine in increasing hippocampal 5-hydroxytryptamine outflow in 5-HT1B receptor knock-out mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 2002, 443, 99-104

MALAGIE I., TRILLAT A.C., BOURIN M., JACQUOT C., HEN R., GARDIER A.M. 5-HT1B autoreceptors limit the effects of selective serotonin re-uptake inhibitors in mouse hippocampus and frontal cortex. *J. Neurochem.*, 2001, 76, 865-871

MALBERG J.E., EISCH A.J., NESTLER E.J., DUMAN R.S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neurosci.*, 2000, 20, 9104-9110

MALINGE M., BOURIN M., COLOMBEL M.C., LAROUSSE C. Additive effects of clonidine and antidepressant drugs in the mouse forced swimming test. *Psychopharmacology*, 1988, 96, 104-109

MALLERET G., HEN R., GUILLOU J.L., SEGU L., BUHOT M.C. 5-HT1B receptor knock-out mice exhibit increased exploratory activity and enhanced spatial memory performance in the Morris water maze. *J. Neurosci.*, 1999, 19, 6157-6168

MANNOURY LA COUR C., BONI C., HANOUN N., LESCH K.P., HAMON M., LANFUMEY L. Functional consequences of 5-HT transporter gene disruption on 5-HT(1a) receptor-mediated regulation of dorsal raphe and hippocampal cell activity. *J. Neurosci.*, 2001, 21, 2178-2185

MANSBACH R.S., BROOKS E.N., CHEN Y.L. Antidepressant-like effects of CP-154,526, a selective CRF1 receptor antagonist. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, 323, 21-26

MAROTEAUX L., SAUDOUX F., AMLAIKY N., BOSCHERT U., PLASSAT J.L., HEN R. Mouse 5-HT_{1B} serotonin receptor: cloning, functional expression, and localization in motor control centers. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1992, 89, 3020-3024

MASSOT O., ROUSSELLE J.C., FILLION M.P., GRIMALDI B., CLOEZ-TAYARANI I., FUGELLI A., PRUDHOMME N., SEGUIN L., ROUSSEAU B., PLANTEFOL M., HEN R., FILLION G. 5-hydroxytryptamine-moduline, a new endogenous cerebral peptide, controls the serotonergic activity via its specific interaction with 5-hydroxytryptamine_{1B/1D} receptors. *Mol. Pharmacol.*, 50, 1996, 752-762

MARTIN A., KAUFMANN J., CHARNEY D. Pharmacotherapy of early-onset depression. Update and new directions. *Child. Adolesc. Psychiatry Clin.*, 2000, 9, 135-157

MARTIN P., SOUBRIE P., PUECH A.J. Reversal of helpless behaviour by serotonin uptake blockers in rats. *Psychopharmacology*, 1990, 101, 403-407

MASUDA Y., OHNUMA S., SUGIYAMA T. Relationship between antidepressants and glycolipids in the forced swimming test in mice. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 2000, 22, 667-670

MATEO Y., FERNANDEZ-PASTOR B., MEANA J.J. Acute and chronic effects of desipramine and clorgyline on α_2 -adrenoreceptor regulating noradrenergic transmission in the rat brain: a dual-probe microdialysis study. *Br. J. Pharmacol.*, 2001, 133, 1362-1370

MAYORGA A.J., LUCKI I. Limitations on the use of the C57BL/6 mouse in the tail suspension test. *Psychopharmacology*, 2001, 155, 110-112

MAYSER W., BETZ H., SCHLOSS P. Isolation of cDNAs encoding a novel member of the neurotransmitter transporter gene family. *FEBS lett.*, 1991, 295, 230-206

MCCUNE S.K., VOIGT M.M. HILL J.M. Expression of multiple alpha adrenergic receptor subtype messenger RNAs in the adult rat brain. *Neuroscience*, 1993, 57, 143-151

MCEWEN B.S. Stress and hippocampal plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.*, 1999, 22, 105-22

MCGRATH C., NORMAN T.R. The effect of venlafaxine treatment on the behavioural and neurochemical changes in the olfactory bulbectomized rat. *Psychopharmacology*, 1998, 136, 394-401

MCQUADE R., SHARP T. Functional mapping of dorsal and median raphe 5-hydroxytryptamine pathways in forebrain of the rat using microdialysis. *J. Neurochem.*, 1997, 69, 791-796

MELIKIAN H.E., RAMAMOORTHY S., TATE C.G., BLAKELY R.D. Inability to N-glycosylate the human norepinephrine transporter reduces protein stability, surface trafficking, and transport activity but not ligand recognition. *Mol. Pharmacol.*, 1996, 50, 266-276

MENGOD G, POMPEIANO M, MARTINEZ-MIR MI, PALACIO JM. Localization of the mRNA for the 5-HT₂ receptor by in situ hybridisation histochemistry. Correlation with the distribution of receptor sites. *Brain Res.*, 1990, 524, 139-143

MEYER J.H., KAPUR S., HOULE S., DASILVA J., OWCZAREK B., BROWN G.M., WILSON A.A., KENNEDY S.H. Prefrontal cortex 5-HT₂ receptors in depression: an [¹⁸F] setoperone PET imaging study. *Am. J. Psychiatry*, 1999, 156, 1029-1034

MILLAN M.J., DEKEYNE A., GOBERT A. Serotonin (5-HT)_{2C} receptors tonically inhibit dopamine (DA) and noradrenaline (NA), but not 5-HT, release in the frontal cortex in vivo. *Neuropharmacology*, 1998, 37, 953-955

MILLAN M.J., GOBERT A., GIRARDON S., DEKEYNE A. Citalopram elicits a discriminative stimulus in rats at dose selectively increasing extracellular levels of serotonin vs. dopamine and noradrenaline. *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, 364, 147-150

MILLAN M.J., GOBERT A., LEJEUNE F., NEWMAN-TANCREDI A., RIVET J.M., AUCLAIR A., PEGLION J.L. S33005, a novel ligand at both serotonin and norepinephrine transporters : I. Receptor binding, electrophysiological, and neurochemical profile in comparaisn with venlafaxine, reboxetine, citalopram, and clomipramine. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2001, 298, 565-580

MILLAN M.J., LEJEUNE F., GOBERT A. Reciprocal autoreceptor and heteroreceptor control of serotonergic, dopaminergic and noradrenergic transmission in the frontal cortex: relevance to the actions of antidepressants agents. J. Psychopharmacol., 2000, 14, 114-138

MILLAN M.J., RIVET J.M., CANTON H., LE MAROUILLE-GIRARDON S., GOBERT A. Induction of hypothermia as a model of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor-mediated activity in the rat: a pharmacological characterization of the actions of novel agonists and antagonists. J. Pharmacol. Exp. Ther., 1993, 264, 1364-1376

MILLER K.J., HOFFMAN B.J. Adenosine A₃ receptors regulate serotonin transport via nitric oxide and cGMP. J. Biol. Chem., 1994, 269, 27351-27356

MIQUEL M.C., DOUCET E., BONI C., EL MESTIKAWY S., MATTHIESSEN L., DAVAL G., VERGE D., HAMON M. Central serotonin_{1A} receptors: Respective distributions of encoding mRNA, receptor protein and binding sites by *in situ* hybridization histochemistry, radioimmunohistochemistry and autoradiographic mapping in the rat brain. Neurochem. Int., 19, 453–465

MITTMANN N., HERRMANN N., EINARSON T.R., BUSTO U.E., LANCTOT K.L., LIU B.A., SHULMAN K.I., SILVER I.L., NARANGO C.A., SHEAR N.H. The efficacy, safety and tolerability of antidepressants in late life depression: a meta-analysis. J. Affect. Disord., 1997, 46, 191-217

MONTGOMERY S.A., ASBERG M. A new depression scale designed to be sensitive to change. Br. J. Psychiatry, 1979, 134, 382-399

MOOR M., HONEGGER U.E., WEISSMAN U.N. Organospecific qualitative changes in the phospholipid composition of rats after chronic administration of the antidepressant drug, desipramine. *Biochem. Pharmacol.*, 1987, 37, 2035-2039

MOREAU J.L. Validation d'un modèle animal de l'anhédonie, symptôme majeur de la dépression. *Encéphale*, 1997, 23, 280-289

MOREAU J.L., JENCK F., MARTIN Jr., PERRIN S., HAEFELY W.E. 5-HT_{2C} receptor agonists exhibits antidepressant-like properties in the anhedonia model of depression in rats. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 1993, 6, 169-175

MOREAU J.L. SCHERSCHLICHT R., JENCK F., MARTIN J.R. Chronic mild stress-induced anhedonia model of depression; abnormalities and curative effects of electroshock treatment. *Behav. Pharmacol.*, 1995, 6, 682-687

MORET C., BRILEY M. The possible role of 5-HT(1B/D) receptors in psychiatric disorders and their potential as a target for therapy. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000, 404, 1-12

MORTENSEN O.V., KRISTENSEN A.S., WIBORG O. Species-scanning mutagenesis of the serotonin transporter reveals residues essential in selective, high-affinity recognition of antidepressants. *J. Neurochem.*, 2001, 79, 237-247

MURCK H., FRIEBOES R.M., ANTONIJEVIC I.A., STEIGER A. Distinct temporal pattern of the effects of the combined serotonin-reuptake inhibitor and 5-HT_{1A} agonist EMD 68843 on the sleep EEG in healthy men. *Psychopharmacology*, 2001, 155, 187-192

MURPHY D.L., LI Q., ENGEL S., WICHEMS C., ANDREWS A., LESCH K.P., UHL G. Genetic perspectives on the serotonin transporter. *Brain Res. Bull.*, 2001, 56, 487-494

MUSCAT R., PAPP M., WILLNER P. Reversal of stress-induced anhedonia by the atypical antidepressant fluoxetine and maprotiline. *Psychopharmacology*, 1992a, 109, 433-438

MUSCAT R., PAPP M., WILLNER P. Antidepressant-like actions of dopamine agonists in an animal model of depression. *Biol. Psychiat.*, 1992b, 31, 937-946

MUSCAT R., SAMPSON D., WILLNER P. Dopaminergic mechanisms of imipramine action in an animal model of depression. *Biol. Psychiat.*, 1990, 28, 223-230

NAKAGAWA Y., SASKI A., TAKASHIMA T. The GABA_(B) receptor antagonist CGP36742 improves learned helplessness in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, 381, 1-7

NALEPA I., VETULANI J. The effect of calcium on response of α 1- and β - adrenoreceptors in the rat cerebral cortex. *Pol. J. Pharmacol.*, 1993, 45, 201-205

NAUDON L. EL YACOUBI M., VAUGEOIS J.M. LEROUX-NICOLLET, COSTENTIN J. A chronic treatment with fluoxetine decrease 5-HT_{1A} receptors labeling in mice selected as a genetic model of helplessness. *Brain Res.*, 2002, 936, 68-75

NEMEROFF C.B. Psychopharmacology of affective disorders in the 21st century. *Biol. Psychiatry*, 1998, 44, 517-525

NEUMAIER J.F., SZOT P., PESKIND E.R., DORSA D.M., HAMBLIN M.W. Serotonergic lesioning differentially affects presynaptic and postsynaptic 5-HT_{1B} receptor mRNA levels in rat brain. *Brain Res.*, 1996, 722, 50-58

NGUYEN T.T., AMARA S.G. N-linked oligosaccharides are required for cell surface expression of the norepinephrine transporter but do not influence substrate or inhibitor recognition. *J. Neurochem.*, 1996, 67, 645-655

NIBUYA M., NESLTER E.J., DUMAN R.S. Chronic antidepressant administration increases the expression of camp response element binding protein (CREB) in rat hippocampus. *J. Neurosci.*, 1996, 16, 2635-2372

NIBUYA M., MORINOBU S., DUMAN R.S. Regulation of BDNF and TrkB mRNA in rat brain by chronic electroconvulsive seizure and antidepressant drug treatments. *J. Neurosci.*, 1995, 15, 7539-7547

NICHOLAS A.P., HOKFELT T., PIERIBONE V.A. The distribution and significance of CNS adrenoceptors examined with in situ hybridization. *Trends Pharmacol. Sci.*, 1996, 17, 245-255

NICHOLAS A.P., PIERIBONE V., HOKFELT T. Distribution of mRNAs for alpha-2 adrenergic receptor subtypes in rat brain: an in situ hybridisation study. *J. Comp. Neurol.*, 1993, 328, 575-594

NIKULINA E.M., SKRINSKAYA J.A., POPOVA N.K. Role of genotype and dopamine receptors in behaviour of inbred mice in a forced swimming test. *Psychopharmacology*, 1991, 105, 525-529

NIXON M.K., HASCOËT M., BOURIN M., COLOMBEL M.C. Additive effects of lithium and antidepressants in the forced swimming test: further evidence for the involvement of the serotonergic system. *Psychopharmacology*, 1994, 115, 59-64

NUTT D.J. The neuropharmacology of serotonin and noradrenaline in depression. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 2002, 17, S1-S12

NUTT D.N., LALIES M.D., LIONE L.A., HUDSON A.L. Noradrenergic mechanisms in the frontal cortex. *J. Psychopharmacol.*, 1997, 11, 163-168

O'CONNOR W.T., LEONARD B.E. The effects of chronically administered mianserin, 8-hydroxy mianserin and desmethyl mianserin on 'open field' behaviour and brain noradrenaline metabolism in the olfactory bulbectomized rat. *Neuropsychobiology*, 1987, 18, 188-221

O'CONNOR W.T., EARLEY B., LEONARD B.E. Antidepressant properties of the triazolobenzodiazepines, alprazolam and adinazolam: studies on the olfactory bulbectomized rat model of depression. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 1985, 19, 49S-56S

OFICIALDEGUI A.M., MARTINEZ J., PEREZ S., HERAS B., IRURZUN M., PALOP J.A., TOLDERA R., LASHERAS B., DEL RIO J., MONGE A. Design synthesis and biological evaluation of new 3-[(4-aryl)piperazin-1-yl]1-arylpropane derivatives as potential antidepressants with a dual mode of action: serotonin reuptake inhibition and 5-HT1A receptor antagonism. *Farmaco*, 2000, 55, 345-353

OGILVIE A.D., BATTERSBY.S., BUBB V.J., FINK G., HARMAR A.J., GOODWIM G.M., SMITH C.A. Polymorphism in serotonin transporter gene associated with susceptibility to major depression. *Lancet*, 1996, 347, 731-733

OLIVIER B., SOUDIEN W., VAN WIJNGAARDEN I. Serotonin, dopamine and norepinephrine transporters in norepinephrine transporters in the central nervous system and their inhibitors. *Prog. Drug Res.*, 2000, 59-119

O'NEILL M.F., CONWAY M.W. Role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in the mediation of behavior in the forced swim test in mice. *Neuropsychopharmacology*, 2001a, 24, 391-398

O'NEILL M.F., OSBORNE D.J., WOODHOUSE S.M., CONWAY M.W. Selective imidazoline I₂ ligands do not show antidepressant-like activity in the forced swim test in mice. *J. Psychopharmacol.*, 2001b, 15, 18-22

O'NEILL M.F., FERNANDEZ A.G., PALACIOS J.M. GR 127935 blocks the locomotor and antidepressant-like effects of RU 24969 and the action of antidepressants in the mouse tail suspension test. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1996, 53, 535-539

ORDWAY G.A., STOCKMEIER C.A., CASON G.W., KLIMEK V. Pharmacology and distribution of norepinephrine transporters in the human locus coeruleus and raphe nuclei. *J. Neurosci.*, 1997, 17, 1710-1719

OSLIN D.W., STREIM J.E., KATZ I.R., SMITH B.D., DIFILIPPO S.D., TEN HAVE T.R., COOPER T. Heuristic comparison of sertraline with nortriptyline for the treatment of depression in frail elderly patients. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, 2000, 8, 141-149

OWEN D., DU L., BAKISH D., LAPIERRE Y.D., HRDINA P.D. Norepinephrine transporter gene polymorphism is not associated with susceptibility to major depression. *Psychiatry Res.*, 1999, 87, 1-5

OWENS M.J., KNIGHT D.L., NEMEROFF C.B. Paroxetine binding to the rat norepinephrine transporter in vivo. *Biol. Psychiatry*, 2000, 47, 842-845

PACHOLCZYK T., BLAKELY R.D., AMARA S.G. Expression cloning of a cocaine- and antidepressant-sensitive human noradrenaline transporter. *Nature*, 1991, 350, 350-354

PANCONI E., ROUX J., ALTENBAUMER M., HAMPE S., PORSOLT R.D. MK-801 and enantiomers: potential antidepressants or false positives in classical screening models? *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1993, 46, 15-20.

PAPP M., MORYL E., WILLNER P. Pharmacological validation of the chronic mild stress model of depression. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 296, 129-136

PARKER E.M., GRISEL D.A., IBEN L.G., SHAPIRO R.A. A single amino acid difference accounts for the pharmacological distinctions between the rat and human 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors. *J. Neurochem.*, 1993, 60, 380-383

PARKS C.L., ROBINSON P.S., SIBILLE E., SHENK T., TOTH M. Increased anxiety of mice lacking the serotonin_{1A} receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1998, 95, 10734-10739

PARSONS L.H., KERR T.M., TECOTT L.H. 5-HT_{1A} receptor mutant mice exhibit enhanced tonic, stress-induced and fluoxetine-induced serotonergic neurotransmission. *J. Neurochem.*, 2001, 77, 607-617

PAZOS A., PALACIOS J.M. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res.*, 1985, 346, 205-230

PEIFFER A., VEILLEUX S., BARDEN N. Antidepressant and other centrally acting drugs regulate glucocorticoid receptor messenger RNA levels in rat brain. *Psychoneuroendocrinology*, 1991, 16, 505-515

PEPIN M.C., POTHIER F., BARDEN N. Antidepressant drug action in a transgenic mouse model of the endocrine changes seen in depression. *Mol. Pharmacol.*, 1992, 42, 991-995

PEREZ V., GILABERTE I., FARIES D., ALVAREZ E., ARTIGAS F. Randomised, double-blind, placebo-controlled trial of pindolol in combination with fluoxetine antidepressant treatment. *Lancet*, 1997, 349, 1594-1597

PERRAULT G., MOREL E., ZIVKOVIC B., SANGER D.J. Activity of lisdextroamphetamine and other serotonin uptake inhibitors in the tail suspension test in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1992, 42, 45-47

PETTY F., KRAMER G., WILSON L. Prevention of learned helplessness in vivo correlation with cortical serotonin. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 43, 361-367

PETTY F., SHERMAN A.D. Reversal of learned helplessness by imipramine. *Commun. Psychopharmacol.*, 1980, 3, 371-373

PIKE V.W., McCARRON J.A., LAMMERSTMA A.A., HUME S.P., POOLE K., GRASBY P.M., MALIZIA A., CLIFFE I.A., FLETCHER A., BENCH C.J. First delineation of 5-HT_{1A} receptors in human brain with PET and [¹¹C]WAY-100635. *Eur. J. Pharmacol.*, 1995, 283, R1-R3

PINEYRO G., CASTANON N., HEN R., BLIER P. Regulation of [³H]5-HT release in raphe, frontal cortex and hippocampus of 5-HT_{1B} knock-out mice. *Neuroreport*, 1995, 7, 353-359

PINEYRO G., BLIER P. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. *Pharmacol. Rev.*, 1999, 51, 533-591

POMPEIANO M., PALACIOS JM, MENGOD G. Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT_{1A} receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J. Neurosci.*, 1992, 12; 440-453

PORSOLT R.D. 1981, Behavioural despair. In: Antidepressants Neurochemical, Behavioural and Clinical Perspectives. Ed. par ENNA S.J., MALICK J.B., RICHELSON E., Raven press, New York, p121-139

PORSOLT R.D., ANTON G., BLAVET N., JALFRE M. Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatment. *Eur. J. Pharmacol.*, 1978, 47, 379-391

PORSOLT R.D., BERTIN A., BLAVET N., DENIEL M., JALFRE M. Immobility induced by the FST in rodents: effects of agents which modify central catecholamines and serotonergic activity. *Eur. J. Pharm.*, 1979, 57, 201-210

PORSOLT R.D., BERTIN A., JALFRE M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn.*, 1977, 229, 327-336

PORSOLT R.D., CHERMAT R., LENEGRE A., AVRIL I., JANVIER S., STERU L. Use of the automated tail suspension test for the primary screening of psychotropic agents. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 1987, 288, 11-30.

PORSOLT R.D., MC ARTHUR R.A., LENEGRE A. Psychotropic screening procedures. In: Methods in behavioral pharmacology. Ed. par Van Haaren F. Elsevier, Amsterdam, 1991, 23-51

PORSOLT R.D., LENEGRE A. Behaviour model of depression. In: Experimental approaches to anxiety and depression. Ed. par ELLIOTT J.M., HEAL D.J., MARDSEN C.A. Chichester, 1992, 73-85

PORZGEN P., BONISCH H., BRUSS M. Molecular cloning and organization of the coding region of the human norepinephrine transporter gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, 215, 1145-1150

PRAKHIE I.V., OXENKRUG G.F. The effect of nifedipine, $\text{Ca}^{(2+)}$ antagonist, on activity of MAO inhibitors, N-acetylserotonin and melatonin in the mouse tail suspension test. *Int. J. Neuropharmacol.*, 1998, 1, 35-40

PRESKORN S.H. Recent pharmacologic advances in antidepressant therapy for the elderly. *Am. J. Med.*, 1993, 94, 2S-12S

PRICE G.W., BURTON M.J., COLLIN L.J., et al. SB-216641 and BRL-15572-compounds to pharmacologically discriminate h5-HT_{1B} and h5-HT_{1D} receptors. *Naunyn-Schmeideberg's Arch. Pharmacol.*, 1997, 356, 312-320

PRZEGALINSKI E., MORYL E., PAPP M. The effects of 5-HT_{1A} receptor ligands in a chronic mild stress model of depression. *Neuropsychopharmacology*, 1995, 34, 1305-1310

PUECH A.J., CHERMAT R., PONCELET M., DOARE L., SIMON P. Antagonism of hypothermia and behavioural response to apomorphine: a simple, rapid and discriminating test for screening antidepressants and neuroleptics. *Psychopharmacology*, 1981, 75, 84-91

QIAN Y., MELIKIAN H.E., RYE D.B., LEVRY A.I., BLAKELY R.D. Identification and characterization of antidepressant-sensitive serotonin transporter proteins using site-specific antibodies. *J. Neurosci.*, 1995, 15, 1261-1274

QUIAN Y., GALLI A., RAMAMOORTHY S., RISSO S., DEFELICE L.J., BLAKELY R.D. Protein kinase C activation regulates human serotonin transporters in HEK-293 cells via altered cells surface expression. *J. Neurochem.*, 1997, 17, 45-57

QUITON R.M. The increase of toxicity of yohimbine induced by imipramine and other drugs in mice. *Br. J. Pharmacol.*, 1963, 21, 51-66

RABINER EA, BHAGWAGAR Z, GUNN RN, SARGENT PA, BENCH CJ, COWEN PJ, GRASBY P.M. Pindolol augmentation of selective serotonin reuptake inhibitors: PET evidence that the dose used in clinical trials is too low. *Am. J. Psychiatry*, 2001, 158, 2080-2082

RADY J.J., ELMER G.I., FUJIMOTO J.M. Opioid receptor selectivity of heroin given intracerebroventricularly differs in six strains of inbred mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1999, 288, 438-445

RAMAMOORTHY S., BAUMAN A.L., MOORE K.R., HAN H., YANG-FENG T., CHANG A.S., GANAPATHY V., BLAKELY R.D. Antidepressant- and cocaine-sensitive human serotonin transporter: molecular cloning, expression, and chromosomal localization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 1993, 90, 2542-2546

RAMAMOORTHY S., GIOVANETTI E., QIAN Y., BLAKELY R.D. Phosphorylation and regulation of antidepressant-sensitive serotonin transporters. *J. Biol. Chem.*, 1998, 273, 2458-2466

RAMBOZ S., OOSTING R., AMARA D.A., KUNG H.F., BLIER P., MENDELSON M., MANN J.J., BRUNNER D., HEN R. Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1998, 435, 195-203

RAMBOZ S., SAUDOU F., AMARA D., BELZUNG C., SEGU L., MISSLIN R., BUHOT M-C., HEN R. 5-HT_{1B} receptor knock out – behavioral consequences. *Behav. Brain. RES.*, 1995, 73, 305-312

RAYMOND J.R., MUKHIN Y.V., GELASCO A., TURNER J., COLLINSWORTH G., GETTYS T.W., GREWAL J.S., GARNOVSKAYA M.N. Multiplicity of mechanisms serotonin receptor signal transduction. *Pharmacol. Ther.*, 2001, 92, 179-212

RAYMOND L.A., BLACKSTONE C.D., HUGANIR R.L. Phosphorylation of amino acid neurotransmitter receptors in synaptic plasticity. *Trends Neurosci.*, 1993a, 16, 147-153

RAYMOND J.R., OLSEN C.L., GETTYS T.W. Cell-specific physical and functional coupling of the human 5-HT_{1A} receptors to inhibitory G protein alpha-subunits and lack of coupling to G_s alpha. *Biochemistry*, 1993b, 32, 11064-11073

REDMOND A.M., KELLY J.P., LEONARD B.E. The determination of the optimal dose of milnacipran in the olfactory bulbectomized rat model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1999, 62, 619-623

REDROBE J.P., BOURIN M. Augmentation of antidepressant pharmacotherapy: a preclinical approach using the mouse forced swimming test. *CNS spectrum*, 1999, 4, 73-81

REDROBE J.P. BOURIN M. Dose-dependent influence of buspirone on the activities of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test. *Psychopharmacology*, 1998, 138, 198-206.

REDROBE J.P., BOURIN M. Partial role of 5-HT₂ and 5HT₃ receptors in the activity of antidepressants in the mouse forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, 325, 129-135

REDROBE J.P., BOURIN M., COLOMBEL M.C., BAKER G.B. Psychopharmacological profile of the selective serotonin reuptake inhibitor, paroxetine: implication of noradrenergic and serotonergic mechanisms. *J. Psychopharmacol.*, 1998a, 12, 348-355

REDROBE J.P., BOURIN M., COLOMBEL M.C., BAKER G.B. Dose-dependent noradrenergic and serotonergic properties of venlafaxine in animal models indicative of antidepressant activity. *Psychopharmacology*, 1998b, 138, 1-8

REDROBE J.P., MAC SWEENEY C.B., BOURIN M. The role of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors with antidepressant drugs in the mouse forced swimming test. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996, 368, 213-220

RENARD C.E., DAILLY E., DAVID D.J.P., HASCOËT M., BOURIN M. Neurochemical changes following the mouse forced swimming test but not the tail suspension test. *Sous Presse dans Fund. Clin. Pharmacol.* 2003

RENARD C.E., FIOCCO A.J., CLENET F., HASCOËT M., BOURIN M. Is dopamine implicated in the antidepressant-like effect of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test? *Psychopharmacology*, 2001, 158, 198-204

RENERIC J.P., BOUVARD M., STINUS L. In the rat forced swimming test, chronic but not subacute administration of dual 5-HT/NA antidepressant treatments may produce greater effects than selective drugs. *Behav. Brain. Res.*, 2002a, 136, 521-532

RENERIC J.P., BOUVARD M., STINUS L. In the rat forced swimming test, NA-system mediated interactions may prevent the 5-HT properties of some subactive antidepressant treatments being expressed. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 2002b, 12, 159-171

RENERIC J.P., LUCKI I. Antidepressant behavioural effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology*, 1998, 136, 190-197

RIOUX A., FABRE V., LESCH K.P., MOESSNER R., MURPHY D.L., LANFUMEY L., HAMON M., MARTRES M.P. Adaptive changes of serotonin 5-HT_{2A} receptors in mice lacking the serotonin transporter. *Neurosci. Lett.*, 1999, 262, 113-116

RISINGER F.O., DOAN A.M., VICKREY A.C. Oral operant ethanol self-administration in 5-HT_{1b} knockout mice. *Behav. Brain Res.*, 1999, 102, 211-215

ROBERTS C., PRICE G.W., GASTER L., JONES B.J, MIDDLEMISS D.N., ROUTLEDGE C. Importance of h5-HT_{1B} receptor selectivity for 5-HT terminal autoreceptor activity : an in vivo microdialysis study in the freely moving guinea pig. *Neuropharmacology*, 1997, 36, 549-558

ROBERTSON D. The epidemic of orthostatic tachycardia and orthostatic intolerance. *Am. J. Med. Sci.*, 1999, 317, 75-77

ROCHA B.A., ATOR R., EMMETT-OGLESBY M.W., HEN R. Intravenous cocaine self-administration in mice lacking 5-HT_{1B} receptors. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, 57, 407-412

ROLLEMA H., CLARKE T., SPROUSE J.S., SCHULZ D.W. Combined administration of a 5-hydroxytryptamine (5-HT)_{1D} antagonist and a 5-HT reuptake inhibitor synergistically increases 5-HT release in guinea pig hypothalamus in vivo. *J. Neurochem.*, 1996, 67, 2204-2207

ROMERO L., HERVAS I., ARTIGAS F. The 5-HT_{1A} antagonist, WAY-100635 selectively potentiates the presynaptic effects of serotonergic antidepressants in rat brain. *Neurosci. Lett.*, 1996, 219, 123-126

ROSSBY S.P., NALEPA I., HUANG M., PERRIN C., BURT A.M., SCHMIDT D.E., GILLESPIE D.D., SULSER F. Norepinephrine-independent regulation of GR₁ mRNA in vivo by a tricyclic antidepressant. *Brain Res.*, 1995, 687, 79-82

ROSIN D.L., ZENG D., STORNETTA R.L., NORTON F.R., RILEY T., OKUSA M.D., GUYENET P.G., LYNCH K.R. Immunohistochemical localization of alpha 2A-adrenergic receptors in catecholaminergic and other brainstem neurons in the rat. *Neuroscience*, 1993, 56, 139-155

RUBIN B., MALONE M., WAUGH M., BURKE J.C. Bioassay of Rauwolfia roots and alkaloids. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1957, 120, 125-136

RUDNICK G., WALL S.C. The molecular mechanism of "ecstasy" [3,4-methylenedioxymethamphetamine (NMDA)]: serotonin transporters are targets for NMDA-induced serotonin release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1992a, 89, 1817-1821

RUDNICK G., WALL S.C. p-Chloroamphetamine induces serotonin release through serotonin transporters. *Biochemistry*, 1992b, 31, 6710-6718

RUNKEL F., BRÜSS M., NÖTHEN M.M., STÖBER G. PROPPING P., BÖNISCH H. Pharmacological properties of naturally occurring variants of the human norepinephrine transporter. *Pharmacogenetics*, 2000, 10, 397-405

SAADE S., BALLEINE B.W., MINOR T.R. The L-type calcium channel blocker nimodipine mitigates "learned helplessness" in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 2003, 74, 269-278

SAKAI N., NASAKI K., NAKASHITA M., HONDA S., IKEGAKI N., SAITO N. Modulation of serotonin transporter activity by a protein kinase C activator and an inhibitor of type 1 and 2A serine/threonine phosphatases. *J. Neurochem.*, 1997, 68, 2618-2624

SALLINEN J., HAAPALINNA A., VIITAMAA T., KOBILKA B.K., SCHEININ M. Adrenergic α_{2C} -receptors modulate the acoustic startle reflex, prepulse inhibition, and aggression in mice. *J. Neurosci.*, 1998, 18, 3035-3042

SALLINEN J., LINK R.E., HAAPALINNA A., VIITAMAA T., KULATUNGA M., SJOHOLM B., MACDONALD E., PELTO-HUIKKO M., LEINO T., BARSH G.S., KOBILKA B.K., SCHEININ M. Genetic alteration of alpha 2C-adrenoceptor expression in

mice: influence on locomotor, hypothermic, and neurochemical effects of dexmedetomidine, a subtype-nonselective alpha 2-adrenoceptor agonist. *Mol. Pharmacol.*, 1997, 51, 36-46

SÁNCHEZ C., HYTTEL J. Comparison of the effects of antidepressants and their metabolites on reuptake of biogenic amines and on receptor binding. *Cell. Mol., Neurobiol.*, 1999, 19, 467-489

SANTARELLI L., GOBBI G., DEBS P.C., SIBILLE E.T., BLIER P., HEN R., HEATH M.J. Genetic and pharmacological disruption of neurokinin 1 receptor function decreases anxiety-related behaviors and increases serotonergic function. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2001, 98, 1912-1917

SARHAN H., GRIMALDI B., HEN R., FILLION G. 5-HT_{1B} receptors modulate release of [3H]dopamine from rat striatal synaptosomes: further evidence using 5-HT moduline, polyclonal 5-HT_{1B} receptor antibodies and 5-HT_{1B} receptor knock-out mice. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 2000, 361, 12-18

SARHAN H., FILLION G. The therapeutic potential of 5-HT_{1B} autoreceptors and heteroreceptors and 5-HT-moduline in CNS disorders. *CNS Spectrums*, 1998, 3, 50-58

SAUDOU F., AMARA D.A., DIERICH A., LEMEUR M., RAMBOZ S., SEGU L., BUHOT M-C., HEN R. Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT_{1B} receptor. *Science*, 1994, 265, 1875-1878

SCHECHTER M.D., CHANCE W.T. Non-specific of "behavioral despair" as an animal model of depression. *Eur. J. Pharmacol.*, 1979, 60, 139-142

SCHEININ M., LOMASNEY J.W., HAYDEN HIXSON D.M., SCHAMBRA U.B., LEFKOWITZ R.J., FREMEAU Jr R.T. Distribution of alpha 2-adrenergic receptor subtype gene in rat brain. *Mol. Brain Res.*, 1994, 21, 133-149

SCHILDKRAUT J.J. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am. J. Psychiatry*, 1965, 122, 509-522

SCHLICKER E., WERNER U., HAMON M., GOZLAN H., NICKEL B., SZELENYI I., GOTHERT M. Anpirtoline, a novel, highly potent 5-HT_{1B} receptor agonist with antinociceptive/antidepressant-like actions in rodents. *Br. J. Pharmacol.*, 1992, 105, 732-738

SCHROETER S., APPARSUNDARAM S., WILEY R.G., MINER L.H., SESACK S.R., BLAKELY R.D. Immunolocalization of the cocaine- and antidepressant-sensitive 1-norepinephrine transporter. *J. Comp. Neurol.*, 2000, 420, 211-232

SCHROETER S., LEVEY A.I., BLAKELY R.D. Polarized expression of the antidepressant-sensitive serotonin transporter in epinephrine-synthesizing chromaffin cells of the rat adrenal gland. *Mol. Cell. Neurosci.*, 1997, 9, 170-184

SELIGMAN M.E.P., ROSSELLINI R.A., KOZAK M. Learned helplessness in the rat: reversibility, time course and immunization. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 1975, 88, 542-547

SEMBA J., MATAKI C, YAMADA S., NANKAI M., TORU M. Antidepressant like effects of chronic nicotine on learned helplessness paradigm in rats. *Biol. Psychiat.*, 1998, 43, 389-391

SHAH P.J., EBMEIER K.P., GLABUS M.F., GOODWIN G.M. Cortical grey matter reductions associated with treatment resistant chronic unipolar depression. Controlled magnetic resonance imaging study. *Br. J. Psychiatry*, 1998, 172, 527-532

SHANNON J.R., FLATTEM N.L., JORDAN J., JACOB G., BLACK B.K., BIAGGIONI I., BLAKELY R.D., ROBERTSON D. Orthostatic intolerance and tachycardia associated with norepinephrine transporter deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 2000, 342, 541-549

SHARP T., BRAMWELL S.R., HJORTH S., GRAHAME-SMITH D.G. Release of endogenous 5-hydroxytryptamine in rat ventral hippocampus evoked by electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus as detected by microdialysis: sensitivity to tetrodotoxin, calcium and calcium antagonists. *Neuroscience*, 1990, 39, 629-637

SHARP T., GARTSIDE S.E., UMBERS V. Effects of co-administration of an MAOI and a 5-HT_{1A} receptor antagonist on 5-HT neuronal activity and release. *Eur J. Pharmacol.*, 1997, 320, 15-19

SHELINE Y.I 3D MRI studies of neuroanatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Biol. Psychiatry*, 2000, 48, 791-800

SHERMAN A.D., SACQUITNE J.L., PETTY F. Specificity of learned helplessness model of depression. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1982, 16, 449-454

SHERMAN A.D., ALLERS G.L., HENN F.A. A neuropharmacologically-relevant animal model of depression. *Neuropharmacology*, 1979, 18, 891-893.

SHI L.Y., KU B.S., YAO H.Y. Studies on antidepressant effects of several overshort peptides (OSP). *Yao Xue Xue Bao*, 1991, 26, 546-547

SHIMIZU J., NOMURA S., KUNO H., NAKAZAWA T. Effects of water temperature and weight of wheel load on water wheel turning behaviour of imipramine administered mice. *Psychopharmacology*, 1984, 84, 20-21

SHIRAYAMA Y., MITSUSHIO H., TAKASHIMA M., ICHIKAWA H., TAKAHASHI K. Reduction of substance P after chronic antidepressants treatment in the striatum, substantia nigra and amygdala of the rat. *Brain Res.*, 1996, 739, 70-78

SIEBER-BLUM M., REN Z. Norepinephrine transporter expression and function in noradrenergic cell differentiation. *Mol. Cell Biochem.*, 2000, 212, 61-70

SIUCIAK J.A., LEWIS D.R., WIEGAND S.J., LINDSAY R.M. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1997, 56, 131-137

SIMANSKY K.J., Serotonergic control of the organization of feeding and satiety. *Behav. Brain Res.*, 1996, 73, 37-42

SKLAIR-TAVRON L., NESTLER E.J. Opposing effects of morphine and the neurotrophins, NT-3, NT-4, and BDNF, on locus coeruleus neurons in vitro. *Brain Res.*, 1995, 702, 117-125

SLUZEWSKA A., SZCZAWINSKA K. Lithium potentiation of antidepressants in chronic mild stress model of depression in rats. *Behav. Pharmacol.*, 1996a, 5, (Suppl. 1), 105

SLUZEWSKA A., SZCZAWINSKA K. The effects of pindolol addition to fluvoxamine and buspirone in chronic mild stress model of depression. *Behav. Pharmacol.*, 1996b, 7, (Suppl. 1), 105

SLUZEWSKA A., NOWAKOWSKA E. The effects of carbamazepine, lithium and ketoconazole in chronic mild stress model of depression in rats. *Behav. Pharmacol.*, 1994, 5, 86

SMICUN Y., CAMPBELL S.D., CHEN M.A., GU H., RUDNICK G. The role of external loop regions in serotonin transport. Loop scanning mutagenesis of the serotonin transporter external domain. *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 36058-36064

SMITH MA, MAKINO S, KVETNANASKY R, POST RM. Stress alters the express of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *J. Neurosci.* 1995, 15, 1768-1777

SOLLARS P.J., OGILVIE M.D., REA M.A., PICKARD G.E. 5-HT_{1B} receptor knockout mice exhibit an enhanced response to constant light. *J. Biol. Rhythms*, 2002, 17, 428-437

SONG C., LEONARD B.E. The effects of lithium on neurotransmitters and some immune functions in olfactory bulbectomised rats. *J. Psychopharm.*, 1994, 8, 40-47

SONG D.K., SUH H.W., JUNG J.S., WIE M.B., SON K.H., KIM Y.H. Antidepressant-like effects of p-syneprhine in mouse models of immobility tests. *Neurosci. Lett.*, 1996, 214, 107-110

SPROUSE J.S., AGHAJANIAN G.K. Electrophysiological responses to serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists. *Synapse*, 1987, 1, 3-9

SPROUSE J.S., AGHAJANIAN G.K. Responses of hippocampal pyramidal cells to putative serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} agonists: a comparative study with dorsal raphe neurons. *Neuropharmacology*, 1988, 27, 707-715

STAHL S. Dépression et trouble bipolaire. In: Psychopharmacologie. Ed. par Médecine-Sciences, Paris, Flammarion, 2002, p135-199

STEENBERGEN H.L., HEINSBROEK R.P., VAN HAAREN F., VAN DE POLL N.E. Sex-dependent effects of inescapable shock administration on behavior and subsequent escape performance in rats. *Physiol. Behav.*, 1989, 45, 781-787

STEINBUSCH H.W.M. Distribution of serotonin immunoreactivity in the central nervous system of the rat: cell bodies and terminals. *Neuroscience*, 1981, 6, 557-618

STEINBUSCH H.W.M., NIEUWENHUYIS R. The raphe nuclei of the rat brainstem: a cytoarchitectonic and immunohistochemical study. In: Chemical Neuroanatomy. Ed. par EMSON P.C., Raven Press, New York, 1983, 2, 43-78

STERU L., CHERMAT R., THIERRY B., MICO J.A., LENEGRE A., STERU M., SIMON P., PORSOLT R.D. The automated Tail Suspension Test: a computerised device which differentiates psychotropic drugs. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiat.*, 1987, 11, 659-671

STÉRU L., CHERMAT R., THIERRY B., SIMON P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, 1985, 85, 367-370

STÖBER G., HEILS A., LESCH K.P. Serotonin transporter gene polymorphism and affective disorder. *Lancet*, 1996, 347, 1340-1341

SULSER F., VETULANI J., MOBLEY P.L. Mode of action of antidepressant drugs. *Biochem. Pharmacol.*, 1978, 27, 257-261

SUZUKI M., MATSUDA T., ASANO S., SOMBOONTHUM P., TAKUMA K., BABA A. Increase of noradrenaline release in the hypothalamus of freely moving rat by postsynaptic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor activation. *Br. J. Pharmacol.*, 1995, 115, 703-711

SWEDBERG M.D. The mouse grid-shock analgesia test: pharmacological characterization of latency to vocalization threshold as an index of antinociception. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1994, 269, 1021-1028

SZABO S.T., BLIER P. Effects of the selective norepinephrine reuptake inhibitor reboxetine on norepinephrine and serotonin transmission in the rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, 2001, 25, 845-857

SZABO S.T., BLIER P. Progressive attenuation of the firing activity of locus coeruleus noradrenergic neurons by sustained administration of selective serotonin reuptake inhibitors. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 2000, 3, 1-11

SZYMCHYK G., ZEBROWSKA-LUPINA I. Influence of antiepileptics on efficacy of antidepressant drugs in the forced swimming test. *Pol. J. Pharmacol.*, 2000, 52, 337-344

TADANO T., ABE Y., MORIKAWA Y., HOZUMI M., NAKAGAWASAI O., TAN-NO K., KISARA K. Relationship between learning behaviour and genetic factor on immobility shown during forced swimming test. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*, 1997, 3, 129-135

TAKEUCHI H., YATSUGI S., HATANAKA K., NAKATO K., HATTORI H., SONODA R., KOSHIYA K., FUJI M., TAMAGUCHI T. Pharmacological studies on YM92, a novel antidepressant with selective serotonin re-uptake inhibitory and 5-HT_{2A} receptor antagonistic activity. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997, 329, 27-35

TALVENHEIMO J., RUDNICK G. solubilization of the platelet plasma membrane serotonin transporter in an active form. *J. Biol. Chem.*, 1980, 255, 8606-8611

TASSIN J.P. Interrelations between neuromediators implicated in depression and antidepressive drugs. *Encephale*, 1994, 4, 623-628

TATARCZYNSKA E., KLODZINSKA A., CHOJNACKA-WOJCIK E., PALUCHA A., GASPIRINI F., KUHN R., PILE A. Potential anxiolytic- and antidepressant-like effects of MPEP, a potent, selective and systemically active mGlu5 receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.*, 2001, 132, 1423-1430

TATE C.G., BLAKELY R.D. The effect of N-glycosylation on activity of the Na⁺ - and Cl⁻ dependent serotonin transporter expressed using recombinant baculovirus in insect cells. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 26303-26310

TEJANI-BUTT S.M. ³H]nisoxetine: a radioligand for quantitation of norepinephrine uptake sites by autoradiography or by homogenate binding. *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 1992, 260, 427-436

TEJEDOR-REAL P., MICO J.A., SMADJA C., MALDONADO R., ROQUES B.P., GILBERT-RAHOLA J. Involvement of delta-opioid receptors in the effects induced by endogenous enkephalins on learned helplessness model. *Eur. J. Pharmacol.*, 1998, 354, 1-7

TELNER J.I., SINGHAL R.L., LAPIERRE T.D. Reversal of learned helplessness by nortriptyline. *Prog. Biol. Psychiat.*, 1981, 5, 587-590

TESTE J.F., PELSY-JOHANN, DECELLE T., BOULU R.G. Anti-immobility activity of different antidepressant drugs using the tail suspension test in normal or reserpinized mice. *Fundam. Clin. Pharmacol.*, 1993, 7, 219-226

THIERRY B., STÉRU L., SIMON P., PORSOLT R.D. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology*, 1986, 85, 367-70

THORNTON E.W., EVANS J.A.C., HARRIS C. Attenuated response to nomifensine in rats during a swim test following lesion of the habenula complex. *Psychopharmacology*, 1985, 87, 81-85

TOME M.B., ISAAC M.T., HARTE R., HOLLAND C. Paroxetine and pindolol: a randomized trial of serotonergic autoreceptor blockade in the reduction of antidepressant latency. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 1997, 12, 81-89

TORRES G., GAINETDINOV R.R., CAROM M.G. Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nature reviews*, 2003, 4, 13-25

TRICKLEBANK M.D., MIDDLEMISS D.N., NEILL J. Pharmacological analysis of the behavioural and thermoregulatory effects of the putative 5-HT₁ receptor agonist, RU 24969, in the rat. *Neuropharmacology*, 1986, 25, 877–886

TRILLAT A.C., MALAGIE I., BOURIN M., JACQUOT C., HEN R., GARDIER A.M. Homozygote mice deficient in serotonin 5-HT_{1B} receptor and antidepressant effect of selective serotonin reuptake inhibitors. *C.R. Seances Soc. Biol. Fil.* 1998, 192, 1139-1147

TRILLAT A.C., MALAGIE I., SCEARCE K., PONS D., ANMELLA M.C., JACQUOT C., HEN R., GARDIER A.M. Regulation of serotonin release in the frontal cortex and ventral hippocampus of homozygous mice lacking 5-HT_{1B} receptors: In vivo microdialysis studies. *J. Neurochem.*, 1997, 69, 2019-2025

THIEBOT M.H., MARTIN P., PUECH A.J. Animal behavioural studies in the evaluation of antidepressant drugs. *Br. J. Psychiatry*, 1992, 15, 44-50

TRULLAS R., BARRINGTON J., SKOLNICK P. Genetic differences in a tail suspension test for evaluating antidepressant activity. *Psychopharmacology*, 1989, 99, 287-288

TSOU A.P., KOSAKA A., BACH A., ZUPPAN P., YEE C., TOM L., ALVAREZ R., RAMSEY S., BONHAUS D.W., STEFANISH E., JAKEMAN L., EGLIN R.M., CHAN H.W. Cloning and expression of a 5-hydroxytryptamine₇ receptor positively coupled to adenylyl cyclase. *J. Neurochem.*, 1994, 63, 456-464

TSUCHIHASHI H. Characteristics of ¹²⁵I-iodocyanopindolol binding to β -adrenergic and serotonin_{1B} receptors of rat brain: selectivity of β -adrenergic agents. *Jpn. J. Pharmacol.*, 1990, 52, 195-200

TUNNICLIFF G. Molecular basis of buspirone's anxiolytic action. *Pharmacol. Toxicol.*, 1991, 69, 149-156

UNGERSTEDT U. Measurement of neurotransmitter release in vivo. In: *Methods in the Neurosciences*. MARSDEN C.A., Ed. par Wiley-Interscience Publication, New York, 1984, 6, 81-106

UCHIDA J., KIUCHI Y., OHNO M., YURA A., OGUCHI K. Ca(2+)-dependent enhancement of [3H]noradrenaline uptake in PC12 cells through calmodulin-dependent kinases. *Brain Res.*, 1998, 809, 155-164

VALENTINO R.J., CURTIS A.L., PARRIS D.G., WEHBY R.G. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1990, 253, 833-840

VAMVAKIDES A. Effect of amantadine or 3-cyclopentyl adamantanamine on the immobility in adult or aged mice, in the forced swim test. *Ann. Pharm. Fr.*, 2000, 56, 420-424

VANDERMAELEN C.P., AGHAJANIAN G.K. Electrophysiological and pharmacological characterization of serotonergic dorsal raphe neurons recorded extracellularly and intracellularly in rat brain slices. *Brain Res.*, 1983, 289, 109-119

VAN DER HEYDEN J.A.M., MOLEWIJK E., OLIVIER B. Strain differences in response to drugs in the tail suspension test for antidepressant activity. *Psychopharmacology*, 1987, 92, 127-130

VARTY G.B., COHEN-WILLIAMS M.E., HUNTER J.C. The antidepressant-like of neurokinin NK1 receptor antagonists in a gerbil tail suspension test. *Behav. Pharmacol.*, 2003, 14, 87-95

VAUGEOIS J.M., COSTENTIN J. Creation of a line « depressed » mice from a selection of breeders exhibiting a behavioral helplessness. *C. R. Soc. Biol. Fil.*, 1998, 192, 1149-1161

VAUGEOIS J.M., PASSERA G., ZUCCARO F., COSTENTIN J. Individual differences in response to imipramine in the mouse tail suspension test. *Psychopharmacology*, 1997, 134, 387-391

VAUGEOIS J.M., POUHE D., ZUCCARO F., COSTENTIN J. Indirect dopamine agonists effects on despair test: Dissociation from hyperactivity. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1996a, 54, 235-239

VAUGEOIS J.M., ODIEVRE C., LOISEL L., COSTENTIN J. A genetic mouse of helplessness sensitive to imipramine. *Eur. J. Pharmacol.*, 1996b, 316, R1-R2

VERNIER V.G., HANSON H.M., STONE C.A. The pharmacodynamics of amitryptiline. In: NODINE J.H., MOYER J.H. Ed. par LEA, FEBIGER, Psychomatic Medicine, Philadelphia, 1962, p683

VETULANI J., NALEPA I. Antidepressants: past, present and future. *Eur. J. Pharmacol.*, 2000, 405, 351-363

VOLKE V., WEGENER G., BOURIN M., VASAR A. Antidepressant- and anxiolytic-like effects of selective neuronal NOS inhibitor 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole in mice. *Behav. Brain Res.*, 2003, 140, 141-147

VOLLMAYR B., FAUST H., LEWICKA S., HENN F.A. Brain-derived neurotrophic-factor (BDNF) stress response in rats bred for learned helplessness. *Mol. Psychiatry*, 2001, 6, 471-474

WADE P.R., CHEN J., JAFFE B., KASSEM I.S., BLAKELY R.D., GERSHON M.D. Localization and function of a 5-HT transporter in crypt epithelia of the gastrointestinal tract. *J. Neurosci.*, 1996, 16, 2352-2364

WALLACH M.B., HEDLEY L.R. The effects of several antihistamines in a modified behavioural test. *Commun. Psychopharmacol.*, 1979, 3, 35-39

WALTHER D.J., PETER J.U., BASHAMMAKH S., HÖRTNAGL H., VOITS M., FINK H., BADER M. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science*, 2003, 299, 76

WANG R., MACMILLAN L.B., FREMEAU R.T Jr., MAGNUSON M.A., LINDNER J., LIMBIRD L.E. Expression of alpha 2-adrenergic receptor subtypes in the mouse brain: evaluation of spatial and temporal information imparted by 3 kb of 5' regulatory sequence for the alpha 2A AR-receptor gene in transgenic animals. *Neuroscience*, 1996, 74, 199-218

VARTY G.B., COHEN-WILLIAMS M.E., HUNTER J.C. The antidepressant-like effects of neurokinin NK1 receptor antagonists in a gerbil tail suspension test. *Behav. Pharmacol.*, 2003, 14, 87-95

WIESS J.M., SIMSON P.E. 1989, Electrophysiology of the locus coeruleus: implication for stress-induced depression. In: Animal models of depression. Ed. par KOOB G.F., EHLERS C.L., KUPFER D.J. Birkhäuser, Boston, p111-134

WICHEMS C.H., LI Q., HOLMES A., CRAWLEY J.N., TJURMINA O., GOLDSTEIN D., ANDREWS A., LESCH K.P., MURPHY D.L. Mechanisms mediating the increased anxiety-like behavior and excessive responses to stress in mice lacking the serotonin transporter. *Soc. Neurosci.*, 2000, 26, 400, 146.11,

WIELAND S., LUCKI I. Antidepressant-like activity of 5-HT_{1A} agonists measured with the forced swimming test. *Psychopharmacology*, 1990, 101, 497-504

WILLNER P. Animal models of depression. In: Behavioural Models in Psychopharmacology: theoretical, industrial, and clinical perspectives. Ed. par WILLNER P. The University Press, Cambridge, 1991, p89-124

WILLNER P. The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, 1984, 83, 1-16

WILLNER P., MUSCAT R., PAPP M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 1992, 16, 525-534

WILLNER P., MOREAU J.L., NIELSEN C.K., PAPP M., SLUZEWSKA A. Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress not secondary to loss of body weight. *Physiol. Behav.*, 1996, 60, 129-134.

WILLNER P., PAPP M. 1997, Animal models to detect antidepressants: are new strategies necessary to detect new agent? In: Antidepressants: Current Trends and Future Directions. Ed. par SKOLNICK P. The Human Press Inc, New York

WILLNER P., TOWELL A., SAMPSON D., SOPHOKLEOUS S., MUSCAT R. Reduction of sucrose preference by chronic mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 1987, 93, 358-364

WONG P.T., ONG Y.P. Acute antidepressant-like and antianxiety-like effects of tryptophan in mice. *Pharmacology*, 2001, 62, 151-156

WONG E.H., SONNERS M.S., AMARA S.G., TINHOLT P.M., PIERCEY M.F., HOFFMANN W.P., HYSLOP D.K., FRANKLIN S., PORSOLT R.D., BONSIGNORI A., CARFAGNA N., MCARTHUR R.A. Reboxetine: a pharmacologically potent, selective, and specific norepinephrine reuptake inhibitor. *Biol. Psychiatry*, 2000, 47, 818-829

XU F., GAINETDINOV R.R., WETSEL W.C., JONES S.R., BOHN L.M., MILLER G.W., WANG Y.M., CARON M.G. Mice lacking the norepinephrine transporter are supersensitive to psychostimulants. *Nat. Neurosci.*, 2000, 3, 465-471

YATES M., LEAKE A., CANDY J.M., FAIRBAIRN A.F., MCKEITH I.G., FERRIER I.N. 5-HT₂ receptor changes in major depression. *Biol. Psychiatry*, 1990, 27, 489-496

YOSHIDA K., ITO K., SATO K., TAKAHASHI H., KAMATA M., HIGUCHI H., SHIMIZU T., ITOH K., INOUE K., TEZUKA T., SUZUKI T., OHKUBO T., SUGAWARA K., OTANI K. Influence of the serotonin transporter gene-linked polymorphic region on the antidepressant response to fluvoxamine in Japanese depressed patients. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2002, 26, 383-386

YOUNG S.N. SOURKES T.L. Tryptophan in the central nervous system. In: *Advances in neurochemistry*. Ed. par AGRANOFF B.W., APRISON M.H., New York, Plenum Press, 1977, p133-191

YU Y.W., TSAI S.J., CHEN T.J., LIN C.H., HONG C.J. Association study of the serotonin transporter promoter polymorphism and symptomatology and antidepressant response in major depressive disorders. *Mol. Psychiatry*, 2002, 7, 1115-1119

YU X.J., WAEBER C., CASTANON N., SCEARCE K., HEN R., MACOR J.E., CHAUVEAU J., MOSKOWITZ M.A., CHAVEAU J. 5-Carboxamido-tryptamine, CP-122,288 and dihydroergotamine but not sumatriptan, CP-93,129, and serotonin-5-O-carboxymethyl-glycyl -tyrosinamide block dural plasma protein extravasation in knockout mice that lack 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors. *Mol. Pharmacol.*, 1996, 49, 761-7-5

ZAHNISR N.R., DOOLEN S. Chronic and acute regulation of Na⁺/Cl⁻ -dependent neurotransmitter transporters: drugs, substrates, presynaptic receptors, and signaling systems. *Pharmacol. Ther.*, 2001, 92, 21-55

ZANARDI R., ARTIGAS F., FRANCHINI L., SFORZINI L., GASPERINI M., SMERALDI E., PEREZ J. How long should pindolol be associated with paroxetine to improve the antidepressant response? *J. Clin. Pharmacol.*, 1997, 17, 446-450

ZHOU F.C., TAO-CHENG J.H., SEGU L., PATEL T., WANG Y. Serotonin transporters are located on the axons beyond the synaptic junctions: anatomical and functional evidence. *Brain Res.*, 1998, 805, 241-254

ZIFA E., FILLION G. 5-Hydroxytryptamine receptors. *Pharmacol. Rev.*, 1992, 44, 401-458

ZOBEL A.W., NICKEL T., KUNZEL H.E., ACKL N., SONNTAG A., ISING A., HOLSBOER F. Effects of the high-affinity corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist R121919 in major depression: the first 20 patients treated. *J. Psychiat. Res.*, 2000, 34, 171-181

ZOMKOWSKI A.D., HAMMES L., CALIXTO J.B., SANTOS A.R., RODRIGUES A.L. Agmatine produce antidepressant-like effects in two models of depression in mice. *Neuroreport*, 2002, 13, 387-391

ZYSS T., GORKA Z., KOWALSKA M., VETULANI J. Preliminary comparison of behavioral and biochemical effects of chronic transcranial magnetic stimulation and electroconvulsive shock in the rat. *Biol. Psychiatry*, 1997, 42, 920-924.

ZYSS T., MAMCZARZ J., VETULANI J. The influence of rapid-rate transcranial magnetic stimulation (rTMS) parameters on rTMS effects in Porsolt's forced swimming test. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 1999, 2, 31-34