

Mécanismes des effets comportementaux de type anxiolytique/ antidépresseur de la fluoxétine (Prozac®)

Implication de la neurogenèse hippocampique

Quentin Rainer, Alain M. Gardier, René Hen, Denis J. David

Q. Rainer, A.M. Gardier, D.J. David :
Université Paris-Sud EA 3544,
Faculté de pharmacie,
92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.
R. Hen : Department of Psychiatry,
Department of Neuroscience,
Columbia University, New York,
NY 10032, États-Unis.
denis.david@u-psud.fr



La dépression et l'anxiété sont les principales causes d'incapacité dans le monde et leur prévalence est élevée, 7 à 20 % chez l'homme et 11 à 27 % chez la femme. Les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) sont les médicaments les plus couramment prescrits dans le traitement de la dépression et de plusieurs troubles anxieux, dont l'anxiété généralisée. Leur découverte représente un progrès important, mais beaucoup de questions restent en suspens concernant les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent leurs effets, également l'étiologie de ces troubles. Les modèles animaux d'anxiété/dépression sont fréquemment utilisés pour le criblage de nouveaux composés. De nombreuses incertitudes demeurent sur l'efficacité de ces modèles et leur pertinence clinique [1]. Il n'existe naturellement pas d'animaux se trouvant dans un « état dépressif » et, en clinique humaine, les antidépresseurs induisent très peu d'effets chez les individus sains. Un modèle animal pertinent doit répondre à plusieurs critères : une validité prédictive (les traitements efficaces en clinique doivent l'être dans le modèle), une validité phénoménologique (le modèle est capable d'induire les symptômes de la pathologie), une validité théorique (la place du modèle par rapport au cadre théorique). Certains de ces modèles peuvent s'avérer assez efficaces, du fait de leur bonne validité prédictive lors

de tests de criblage en pharmacologie, mais demeurent insuffisants en ce qui concerne l'étude de la physiopathologie de la dépression et des mécanismes d'action des traitements. Sur la base de ces différentes validités, le stress modéré chronique (CMS) chez le rongeur, initialement développé par Willner (*voir Encadré*), représente le modèle animal le plus approprié pour étudier aussi bien la physiopathologie des troubles de l'humeur que leur traitement. Ce modèle animal est très pertinent puisqu'il permet d'induire des états comportementaux proches des symptômes observés dans la dépression chez l'Homme [2], notamment une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HH) et donc une augmentation des concentrations plasmatiques de corticostérone¹ chez les animaux [3]. Une alternative intéressante à ce modèle consiste à administrer directement aux animaux un excès de corticostérone exogène par voie orale.

Modélisation de l'état anxieux et dépressif chez l'animal

Dans notre étude, nous avons modélisé un état anxiodépressif chez la souris par un excès de glucocorticoïdes (modèle CORT, *Figure 1*), afin d'étudier les conséquences comportementales,

¹ Corticostérone ou le cortisol chez l'Homme : hormone produite dans la glande surrénale en réponse au stress.

cellulaires et moléculaires de l'administration chronique d'antidépresseurs (ISRS : la fluoxétine et un tricyclique : l'imipramine). Nous montrons, grâce à des tests prédictifs de l'activité de ces médicaments, qu'un traitement chronique avec chacun de ces antidépresseurs bloque les altérations comportementales induites par une exposition à long terme à la corticostérone [4]. Il est aussi important de noter que ce modèle CORT reproduit les observations faites chez l'Homme, en ce sens que les antidépresseurs n'ont généralement pas d'effets majeurs chez les patients qui ne sont pas cliniquement déprimés.

Traitement antidépresseur et neurogenèse hippocampique

En outre, nous avons utilisé ce modèle CORT pour faire le lien entre le phénotype comportemental résultant de l'administration d'antidépresseurs et les conséquences cellulaires et moléculaires, notamment sur la neurogenèse hippocampique chez la souris adulte. Des résultats récents suggèrent que cette neurogenèse est nécessaire à l'apparition des effets comportementaux des ISRS chez les rongeurs adultes [5-7]. Fait intéressant, lorsque nous avons étudié différentes étapes de la neurogenèse (prolifération et maturation), la fluoxétine s'est révélée être beaucoup plus efficace chez les animaux traités par de la corticostérone (modèle CORT). Ce

Stress modéré chronique (CMS) : le CMS consiste en l'exposition de rongeurs à divers paramètres de stress sociaux et environnementaux, de faible intensité, qui sont réalisés suivant une séquence aléatoire. Les effets induits par le CMS peuvent être prévenus par un traitement antidépresseur chronique.

Le test de champ (OF) ouvert : c'est l'un des plus utilisés en psychopharmacologie. Il est réalisé en plaçant l'animal dans une cage de 1 600 cm², ouverte pendant 30 minutes. Les mouvements de l'animal sont mesurés par un système par infrarouge (*activity monitor*, Sandown Scientific, United Kingdom) [13]. L'*open-field* est aussi un modèle animal utilisé afin de prédire une activité de type anxiolytique. Pour cela, une aire virtuelle représentant un carré de 12,3 cm de côté est définie. En général, les animaux présentent un haut degré d'évitement de l'aire centrale par rapport à la périphérie. Les anxiolytiques comme les benzodiazépines augmentent le nombre d'entrées et le temps passé dans l'aire centrale. Au final, les variables mesurées dans l'*open-field* sont l'activité ambulatoire totale, le nombre d'entrées dans l'aire centrale, le temps passé dans le centre de l'arène et le nombre de redressements. Ce modèle peut aussi être utilisé pour une mesure simple de l'activité locomotrice et donc permettre également l'interprétation du test de la nage forcée, afin de rechercher les effets sédatifs ou hyperlocomoteurs éventuels des antidépresseurs. Il est utilisé également pour mettre en évidence l'effet anxiogénique d'un ISRS administré à dose unique et son effet anxiolytique après administration chronique.

Novelty suppressed feeding (NSF) : il s'agit d'un test de conflit dans lequel est présenté à un animal privé d'alimentation un granulé de nourriture placé au centre d'une enceinte éclairée, ouverte. Ce paradigme provoque un comportement conflictuel chez la souris, entre la volonté de se nourrir (à jeun depuis 24 heures) et la peur de s'aventurer au centre du compartiment fortement éclairé. La variable mesurée est la latence à se nourrir. Les souris étant privées de nourriture 24 heures avant le test, nous nous assurons aussi que l'effet observé est bien un effet antidépresseur-like en vérifiant que la consommation de nourriture dans la propre cage de la souris n'est pas modifiée par la molécule testée.

résultat suggère que dans des conditions de stress chronique, un nouvel état physiologique particulier s'installe, et faciliterait l'action d'une augmentation de sérotonine dont l'effet sur la neurogenèse serait plus important que dans des conditions normales. Dans un deuxième temps, nous avons disséqué les effets comportementaux d'un ISRS selon qu'ils font ou non intervenir un processus de neurogenèse. Cela revenait à poser la question suivante : la stimulation de la fluoxétine sur la neurogenèse est-elle nécessaire et/ou suffisante pour induire des effets comportementaux ?

Pour répondre à cette question nous avons éliminé sélectivement la neurogenèse chez la souris adulte par irradiation sélective de l'hippocampe par les rayons X, technique mise au point par l'équipe du Professeur R. Hen à New York [5]. Cette approche nous a permis de montrer que, lorsque la neurogenèse

hippocampique est supprimée dans le modèle CORT, la fluoxétine induit des effets comportementaux dans un seul des tests utilisés, le test de l'*open field* (OF) (voir Encadré) alors que l'effet de type anxiolytique-antidépresseur dans un autre test, le *novelty suppressed feeding* (NSF) (voir Encadré) est supprimé. Ces résultats originaux permettent donc de proposer un nouveau concept : les effets de type anxiolytique-antidépresseur d'un seul et même médicament, la fluoxétine, interviennent à la fois par des mécanismes dépendants et indépendants, du processus de neurogenèse (en accord avec [6]). Si les effets de la fluoxétine sont relayés par des mécanismes distincts, se pose la question de l'application du même raisonnement aux effets thérapeutiques de la fluoxétine. Les antidépresseurs peuvent-ils agir par l'intermédiaire d'effets convergents, certains

agissant sur les fonctions cognitives et d'autres sur l'humeur ? Peut-on distinguer dans le cerveau les effets des antidépresseurs sur l'hippocampe et sur d'autres structures limbiques ? Une telle dissociation a été suggérée [8] : les effets des antidépresseurs sur l'humeur seraient indépendants d'un processus de neurogenèse, tandis que les effets sur l'anxiété seraient plutôt neurogenèse-dépendants. Ces questions ont toutes leur importance, surtout pour les laboratoires pharmaceutiques souhaitant développer des médicaments plus efficaces et mieux tolérés. Il sera donc important de déterminer rapidement si de nouveaux composés qui stimuleraient directement la neurogenèse hippocampique [9] seraient aussi efficaces que les antidépresseurs actuels ou amélioreraient seulement des déficits cognitifs.

Un rôle pour la β -arrestine dans l'effet de la fluoxétine

Conformément à l'idée que l'essentiel des effets antidépresseurs s'exerce dans



Figure 1. Modélisation de l'anxiété/dépression chez la souris. Cette photo représente une souris penchée au-dessus d'un bras ouvert, dans le test du labyrinthe en croix surélevé, test classique pour mesurer l'anxiété. Le nuage de pensée dévoile la structure moléculaire de la corticostérone, utilisée dans notre modélisation d'un état d'anxiété/dépression. Nos résultats montrent que l'hippocampe est impliqué dans certaines réponses aux antidépresseurs.

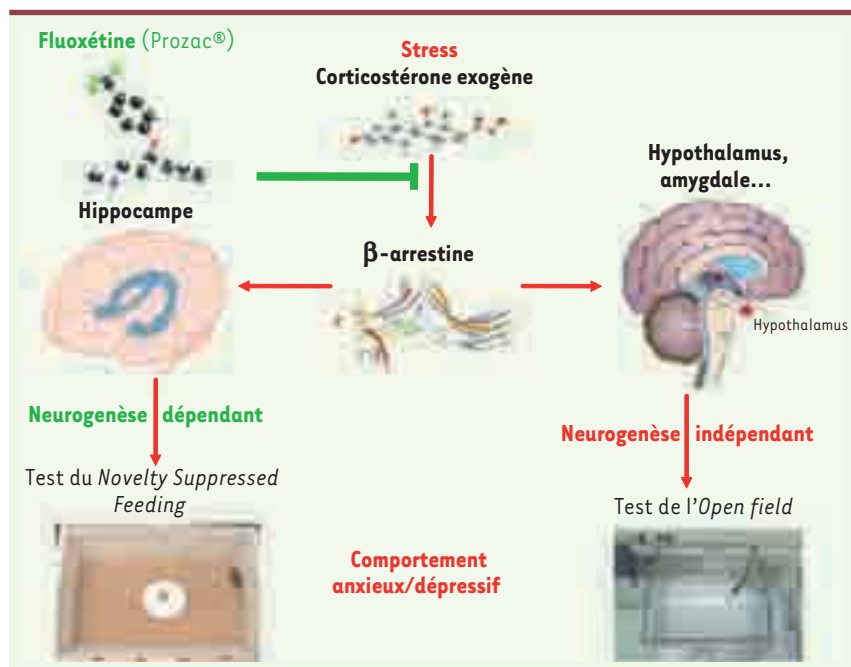


Figure 2. Schéma synthétique expliquant le mécanisme d'action du Prozac® dans le modèle d'anxiété/dépression basé sur l'élévation des concentrations en glucocorticoïdes. Ce schéma représente l'effet du stress prolongé par administration de corticostéroïde exogène sur l'expression de la β-arrestine, différentes structures cérébrales, ainsi que les modifications comportementales dans les tests. La fluoxétine corrige l'état anxiodépressif et la diminution de l'expression de β-arrestine induits par la corticostéroïde, en empruntant des circuits dépendants ou non de la neurogenèse. Les flèches rouges représentent les voies et effets du stress. La flèche verte représente l'effet de la fluoxétine sur le réseau dans des conditions de stress.

plusieurs régions du cerveau, nous avons ainsi montré que, dans un modèle expérimental faisant intervenir une élévation des concentrations plasmatiques de corticostéroïde, un traitement chronique par la fluoxétine entraîne des effets sur l'expression des gènes, non seulement dans l'hippocampe, mais aussi dans l'hypothalamus et l'amygdale. D'autres études ont préalablement suggéré que la fluoxétine exerce des fonctions extra-hippocampiques, par exemple la restauration de la plasticité dans le cortex visuel [10]. Fait intéressant, nos résultats d'expression génique ont démontré que le traitement chronique par de la corticostéroïde permet d'étudier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent l'anxiété et la dépression. En effet, parmi les gènes d'intérêt étudiés, seuls trois d'entre eux, intervenant dans des voies de signalisation ont montré des changements d'expression, dont celui codant pour la β-arrestine. Ainsi, dans l'hypothalamus, alors qu'un traitement par de la corticostéroïde réduit l'expression de β-arrestine chez la souris, un traitement par de la fluoxétine rétablit une expression physiologique. Nous avons focalisé nos travaux sur le rôle de la β-arrestine, en faisant l'hypothèse

que c'est un déterminant moléculaire potentiel des effets de la fluoxétine ; nous avons utilisé un modèle de souris génétiquement modifiées, dont le gène codant la β-arrestine 2 est invalidé (la mutation de la β-arrestine 1 est létale). Les résultats antérieurs de l'équipe de Marc Caron suggéraient que ces souris β-arrestine 2 *knock-out* peuvent avoir un phénotype anxieux [11]. Dans cette étude, les auteurs avaient proposé que les effets du lithium, un médicament utilisé dans le traitement des troubles bipolaires, passent par l'activation de la voie β-arrestine 2/Akt/GSK3β. Dans notre étude, nous avons constaté que les souris β-arrestine 2 *knock-out*, dans la plupart des tests de comportement, sont insensibles à un traitement chronique avec la fluoxétine [4]. Nos résultats confirment que les effets de la fluoxétine chez la souris passent par l'activation de la voie β-arrestine (Figure 2). Au final, ces résultats font émerger l'idée de l'existence de mécanismes communs, permettant à la fois la réponse au traitement des troubles bipolaires et de la dépression majeure unipolaire. Ces pathologies pourraient être liées par des déterminants génétiques communs, comme par exemple un modulateur du

récepteur des glucocorticoïdes (GR), le FKBP5 (*FK506 binding protein 5*)² [12]. ♦

Neurogenesis-dependent and independent effects of anti-depressant drugs

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C. Modèles animaux des maladies neuro-dégénératives. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 180-6.
- Holsboer F. How can we realize the promise of personalized antidepressant medicines? *Nat Rev Neurosci* 2008 ; 9 : 638-46.
- Grippe AJ, Sullivan NR, Damjanoska KJ, et al. Chronic mild stress induces behavioral and physiological changes, and may alter serotonin 1A receptor function, in male and cycling female rats. *Psychopharmacology* 2005 ; 179 : 769-80.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, et al. Neurogenesis-dependent and independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 2009 ; 62 : 479-93.
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003 ; 301 : 805-9.

² Le tacrolimus, ou FK506, est un médicament immunosuppresseur utilisé en transplantation d'organes découvert en 1984. C'est un produit naturel de l'actinomycète (champignon microscopique).

6. Surget A, Saxe M, Lema n S, et al. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psych* 2008 ; 64 : 293-301.
7. Wang JW, David DJ, Monckton JE, et al. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adultborn hippocampal granule cells. *J Neurosci* 2008 ; 28 : 1374-84.
8. Bessa JM, Ferreira D, Melo I, et al. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 2009 ; 14 : 764-73.
9. Gourley SL, Kiraly DD, Howell JL, et al. Acute hippocampal brain-derived neurotrophic factor restores motivational and forced swim performance after corticosterone. *Biol Psych* 2008 ; 63 : 353-9.
10. Maya Vetencourt JF, Sale A, Viegi A, et al. Maffeu L. The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex. *Science* 2008 ; 320 : 385-8.
11. Beaulieu JM, Marion S, Rodriguiz RM, et al. A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behavior. *Cell* 2008 ; 132 : 125-36.
12. Willour VL, Chen H, Toolan J, et al. Family-based association of FKBP5 in bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2009 ; 14 : 261-8.
13. Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R. Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology* 2004 ; 29 : 1321-30.

NOUVELLE

Pluripotence : une définition à géométrie variable

Laure Coulombel

Médecine/Sciences et Inserm U935,
Hôpital Paul Brousse,
94817 Villejuif Cedex, France.
laure.coulombel@inserm.fr

➤ Affirmer la pluripotence d'une cellule n'est pas chose simple ; de multiples critères existent (Tableau 1), qui n'ont pas la même valeur, ce qui entretient un certain « laxisme » dans la définition de cette propriété [1]. Les puristes n'accorderont ce label qu'aux cellules capables de former, à elles seules, un individu entier viable et fertile, et du bout des lèvres à celles qui contribuent « uniquement » à la formation de chimères post-natales fertiles. Critères impossibles à valider chez l'homme, et, de fait, beaucoup se refusent à qualifier de pluripotentes les cellules souches embryonnaires (CSE) humaines ou les cellules reprogrammées humaines de type iPS (*induced pluripotent stem cells*). Les moins exigeants se satisferont de critères phénotypiques : pour eux, une cellule qui, dans différentes conditions de culture, exprime des marqueurs de tissus dérivés des trois feuillettes embryonnaires (ectoderme, endoderme, mésoderme) sera déclarée « pluripotente ». Ce n'est évidemment pas suffisant compte tenu de l'expression souvent « aberrante » de beaucoup de protéines en culture ; il faudrait au minimum démontrer que la cellule exprimant ces marqueurs phénotypiques d'un tissu *in vitro* est capable d'effectuer une fonction caractéristique de ce tissu dans un modèle *in vivo* ; chez l'homme, on se

heurte à nouveau aux limites des systèmes xénogéniques, la transplantation de cellules humaines à des souris, aussi immunodéprimées soient-elles (modèle le plus fréquemment utilisé), étant loin de refléter leur fonction physiologique chez l'humain. Cela pose avec acuité la question du choix de modèles précliniques acceptables pour l'évaluation de cellules pluripotentes humaines dans une perspective thérapeutique. Actuellement les essais les plus probants sont faits chez le singe, en situation allogénique, avec toutes les contraintes qu'impose le développement de cellules pluripotentes dans cette espèce [2]. Dans le cas des CSE (ou iPS), murines ou humaines, la formation de tératomes chez la souris immunodéficente est un compromis acceptable pour définir la pluripotence d'une population. Mais il faut que l'analyse histologique et histo-chimique reconnaisse dans ces tumeurs des structures tissulaires caractéristiques (épithélium, glandes, vaisseaux, etc.) issues de la différenciation des 3 feuillettes embryonnaires [3]. La capacité de créer une organisation tissulaire complexe, même anarchique, représente en effet un argument supplémentaire de pluripotence par rapport à la seule expression cellulaire d'un potentiel de différenciation dans une boîte de culture.

Une étape supplémentaire, inapplicable aux cellules humaines, exploite la capacité qu'ont ces CSE et iPS, greffées dans un blastocyste préimplantatoire, de contribuer, une fois les blastocystes « chimères » réimplantés dans des femelles pseudo-gestantes, à l'établissement d'animaux chimères viables et fertiles (Figure 1) [4-6]. Remises dans leur environnement d'origine, la masse interne des blastocystes, ces CSE reprennent en quelque sorte le cours de leur histoire naturelle là où elle s'était arrêtée lorsqu'on avait dissocié ces blastocystes pour l'établissement des lignées. Dans le cas des cellules somatiques reprogrammées (iPS), beaucoup d'eau a passé sous les ponts, depuis le stade blastocyste, et c'est une histoire complètement nouvelle qu'entament ces cellules. Dans ces chimères, la plupart des tissus, y compris les cellules germinales, contiennent des cellules différenciées issues des CSE (ou iPS) ; mais cette stratégie ne prouve pas que ces cellules peuvent assurer, seules, sans le support des cellules du blastocyste hôte, le développement d'animaux viables, entièrement dérivés des CSE ou iPS. Le croisement de souris chimères certes aboutira à des souriceaux entièrement dérivés des CSE ou iPS, mais dans ce cas, on analyse le potentiel des gamètes plus que celui des CSE ou iPS.