

Université de Montréal

Modulation des comportements d'anxiété par les afférences sérotoninergiques du raphé à l'hippocampe ventral selon le sexe

Par Anne-Sophie Simard

Département de Neurosciences
Faculté de Médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en Neurosciences

Janvier 2024

© Anne-Sophie Simard, 2024

Ce mémoire intitulé

Modulation des comportements d'anxiété par les afférences sérotoninergiques du raphé à l'hippocampe ventral selon le sexe

Présenté par

Anne-Sophie Simard

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Ciaran Murphy-Royal
Président-rapporteur

Bénédicte Amilhon
Directrice de recherche

Ravi Rungta
Membre du jury

Résumé

Les troubles anxieux comptent parmi les troubles psychiatriques les plus courants dans le monde, les femmes étant presque deux fois plus susceptibles que les hommes de recevoir un diagnostic de trouble d'anxiété au cours de leur vie. Les neurones sérotoninergiques (5-HT) du raphé médian sont fortement impliqués dans la régulation de l'humeur et de l'anxiété, mais les substrats neuronaux sous-tendant les différences liées au sexe dans l'anxiété sont encore largement méconnus. L'hippocampe ventral (HPv), une région qui a été décrite comme un modulateur majeur de l'anxiété, entre autres grâce à ses communications oscillatoires avec d'autres zones cérébrales, reçoit des afférences denses de 5-HT des noyaux du raphé.

Des résultats préliminaires obtenus par notre laboratoire montrent que l'activation optogénétique des neurones 5-HT du raphé qui projettent à l'HPv influence le niveau d'anxiété des souris femelles, mais pas des mâles. En se basant sur ces résultats, l'objectif de mon projet est d'explorer les causes de ce dimorphisme sexuel de la voie raphé-HPv dans l'anxiété. J'analyserai l'expression du marqueur d'activation c-Fos après un test d'anxiété, avec ou sans activation optogénétique de la voie 5-HT raphé-HPv. Notre hypothèse est qu'il existe une différence mâle-femelle dans l'excitabilité des neurones 5-HT projetant à l'HPv. Les résultats obtenus permettront de mettre en lumière i) l'expression de c-Fos dans les neurones 5-HT qui projettent à l'HPv en conditions basales (eYFP) chez les mâles et femelles et ii) la différence dans l'expression de c-Fos après activation optogénétique de notre population d'intérêt chez les mâles et femelles.

Nous démontrons que l'activation optogénétique de la voie 5-HT du raphé projetant à l'HPv augmente les comportements anxieux, seulement pour les souris femelles. Nous démontrons aussi que l'activation de cette projection diminue l'activité locomotrice. Par ailleurs, les comportements anxieux semblent activer différemment les sous-régions du raphé en fonction du sexe. Ce travail contribue à une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents au rôle de la voie 5-HT du raphé projetant à l'HPv dans la modulation différentielle des comportements d'anxiété selon le sexe.

Mots-clés : Anxiété, sérotonine, hippocampe ventral, raphé, locomotion, optogénétique

Abstract

Anxiety disorders rank among the most common psychiatric conditions worldwide, with women being nearly twice as likely as men to receive a diagnosis of an anxiety disorder during their lifetime. Serotonergic neurons (5-HT) in the median raphe are heavily involved in regulating mood and anxiety, but the neuronal substrates underlying sex-related differences in anxiety are still largely unknown. The ventral hippocampus (vHP), a region described as a major modulator of anxiety, including through oscillatory communication with other brain areas, receives dense inputs of 5-HT from the raphe nuclei.

Preliminary results from our laboratory indicate that optogenetic activation of 5-HT neurons projecting to the vHP influences the level of anxiety in female mice but not in males. Building upon these findings, the aim of my project is to explore the causes of this sexual dimorphism in the raphe-vHP pathway related to anxiety. I will analyze the expression of the c-Fos activation marker after an anxiety test, with or without optogenetic activation of the raphe-vHP 5-HT pathway. Our hypothesis is that there is a male-female difference in the excitability of 5-HT neurons projecting to the vHP. The results obtained will shed light on i) c-Fos expression in 5-HT neurons projecting to the vHP under baseline conditions (eYFP) in males and females, and ii) the difference in c-Fos expression after optogenetic activation of our population of interest in males and females.

We demonstrate that optogenetic activation of the raphe-vHP 5-HT pathway increases anxiety behaviors, only in female mice. We also show that activation of this projection decreases locomotor activity. Furthermore, anxiety behaviors appear to activate different subregions of the raphe depending on sex. This work contributes to a better understanding of the underlying mechanisms of the role of the raphe-vHP 5-HT pathway in the differential modulation of anxiety behaviors based on sex.

Keywords: Anxiety, serotonin, ventral hippocampus, raphe, locomotion, optogenetics

Table des matières

| | |
|--|-----------|
| Résumé | 5 |
| Abstract | 7 |
| Table des matières | 9 |
| Liste des tableaux | 13 |
| Liste des figures | 15 |
| Liste des sigles et abréviations | 17 |
| Remerciements | 21 |
| 1 Introduction | 23 |
| 1.1 Anxiété..... | 23 |
| 1.1.1 Modèle animal en anxiété | 23 |
| 1.1.1.1 Comportements éthologiques des souris..... | 24 |
| 1.1.2 Circuits d’anxiété..... | 25 |
| 1.1.2.1 Rôle du complexe de l’amygdale..... | 26 |
| 1.1.2.2 Rôle du BNST..... | 26 |
| 1.1.2.3 Rôle du cortex préfrontal médian | 27 |
| 1.2 Sérotonine | 28 |
| 1.2.1 Organisation anatomique des neurones sérotoninergiques | 28 |
| 1.2.1.1 Noyaux du raphé..... | 30 |
| 1.2.1.2 Neurones sérotoninergiques hors du raphé..... | 30 |
| 1.2.1.3 Projections à l’hippocampe..... | 31 |
| 1.2.1.4 Récepteurs sérotoninergiques | 32 |
| 1.2.2 Fonctions du système sérotoninergique..... | 33 |
| 1.2.2.1 Sérotonine et locomotion | 33 |
| 1.2.2.2 Sérotonine et anxiété..... | 34 |
| 1.3 Hippocampe | 36 |
| 1.3.1 Anatomie de l’hippocampe | 36 |
| 1.3.2 Fonctions générales de l’hippocampe..... | 37 |
| 1.3.3 Division dorso-ventrale de l’hippocampe..... | 39 |
| 1.3.3.1 Hippocampe dorsal | 39 |
| 1.3.3.2 Hippocampe ventral..... | 40 |
| 1.3.4 Sérotonine et hippocampe ventral..... | 41 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1.3.5 | Rôle du rythme thêta dans l'HPv | 41 |
| 1.3.5.1 | Couplage de l'HPv, le mPFC et la BLA | 42 |
| 1.4 | Différences mâles et femelles | 44 |
| 1.4.1 | Hormones sexuelles | 45 |
| 1.4.2 | Dimorphisme sexuel en anxiété | 46 |
| 1.4.2.1 | Raphé | 47 |
| 1.4.2.2 | Hippocampe | 48 |
| 2 | Objectifs et hypothèses | 49 |
| 3 | Matériel et méthodes..... | 50 |
| 3.1 | Modèle animal | 50 |
| 3.2 | Injections virales | 50 |
| 3.3 | Préparation et implantations des fibres optiques | 51 |
| 3.4 | Tests comportementaux | 52 |
| 3.4.1 | Open Field..... | 53 |
| 3.4.2 | Elevated Plus Maze..... | 53 |
| 3.4.3 | Successive Alleys..... | 54 |
| 3.5 | Histologie..... | 54 |
| 3.6 | Analyses..... | 56 |
| 3.6.1 | Tracking | 56 |
| 3.6.2 | Locomotion | 57 |
| 3.6.3 | Comportement d'anxiété..... | 57 |
| 3.6.4 | Comptage neuronal | 58 |
| 3.6.5 | Statistiques | 58 |
| 4 | Résultats..... | 59 |
| 4.2 | Activation des neurones sérotoninergiques du raphé qui projettent à l'HPv..... | 59 |
| 4.2 | Effet de l'activation des neurones sérotoninergiques raphé-HPv sur l'anxiété selon le sexe | 61 |
| 4.2.1 | Augmentation des comportements d'aversion dans le paradigme de l'EPM chez les femelles | 61 |
| 4.2.2 | Augmentation des comportements d'aversion dans le paradigme du SA chez les femelles | 64 |
| 4.2.3 | Augmentation de la fréquence des toilettages dans l'EPM et le SA chez les femelles | 67 |
| 4.3 | Effet de l'activation des neurones sérotoninergiques raphé-HPv sur la locomotion | 72 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 4.3.1 | Baisse de la locomotion dans le test de l'OF | 72 |
| 4.3.1 | Effet sur la locomotion dans les paradigmes de l'EPM et du SA | 76 |
| 4.4 | Effet de l'activation des neurones sérotoninergiques raphé-HPv sur l'expression du marqueur d'activité neuronale c-Fos | 79 |
| 4.4.1 | Augmentation de l'expression de c-Fos dans différentes sous-régions du raphé suite à un test d'anxiété en fonction du sexe | 79 |
| 5 | Discussion | 81 |
| 5.1 | Modèle animal et mutant SERT-Cre..... | 81 |
| 5.2 | Injections virales rétrograde dans l'HPv..... | 82 |
| 5.3 | Positionnement de la fibre optique dans le raphé | 84 |
| 5.4 | La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv entraîne l'augmentation des comportements anxieux exclusivement chez les souris femelles | 84 |
| 5.5 | La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv entraîne une augmentation de la fréquence des toilettages et une diminution des comportements exploratoires exclusivement chez les souris femelles | 86 |
| 5.6 | La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv entraîne une réduction de l'activité locomotrice | 87 |
| 5.7 | La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv pendant un test d'anxiété augmente l'expression du marqueur d'activité neuronal c-Fos dans les sous-régions du raphé de manière dépendante au sexe | 88 |
| 6 | Perspectives | 89 |
| 6.1 | Électrophysiologie | 89 |
| 6.2 | Inhibition..... | 89 |
| 6.3 | Mécanismes post-synaptiques..... | 90 |
| 6.4 | Pharmacologie..... | 90 |
| 7 | Conclusion | 91 |
| | Références bibliographiques | 92 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1. Groupes de neurones sérotoninergiques selon Dahlström et Fuxe (1964) et les noyaux anatomiques associés (Soiza-Reilly & Gaspar, 2020). | 29 |
| Tableau 2. Coordonnées d'implantations des vis et de la fibre optique | 52 |
| Tableau 3. Caractéristiques des zones du SA | 54 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Schéma des circuits neuronaux impliqués dans les comportements d'anxiété chez les rongeurs..... | 25 |
| Figure 2. Schéma de l'organisation topographiquement et fonctionnellement distincte des sous-régions du raphé..... | 29 |
| Figure 3. Schéma de l'anatomie de l'hippocampe et de son organisation laminaire..... | 37 |
| Figure 4. Représentation des différents biais sexuels dans plusieurs maladies neuropsychiatriques ou neurologiques..... | 44 |
| Figure 5. Variation des hormones ovariennes lors du cycle menstruel de la femme et le cycle œstral de la souris femelle..... | 46 |
| Figure 6. Expression sélective de l'opsine et de la protéine fluorescente dans les neurones 5-HT de l'HPv avec confirmation de la localisation des fibres optiques..... | 60 |
| Figure 7. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente les comportements d'aversion dans l'EPM chez les souris femelles..... | 63 |
| Figure 8. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente les comportements d'aversion dans le test du SA chez les souris femelles..... | 66 |
| Figure 9. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente la fréquence des toilettes et diminue les comportements exploratoires dans l'EPM chez les souris femelles..... | 70 |
| Figure 10. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente la fréquence des toilettes et diminue les comportements exploratoires dans le test du SA chez les souris femelles..... | 71 |
| Figure 11. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv diminue la locomotion dans le test de l'OF..... | 75 |
| Figure 12. Comportements éthologiques dans le test de l'OF..... | 75 |
| Figure 13. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv diminue la locomotion dans l'EPM..... | 77 |
| Figure 14. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv diminue la locomotion dans le test du SA..... | 78 |
| Figure 15. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv pendant un test d'anxiété augmente l'expression du marqueur d'activité neuronal c-Fos..... | 80 |

Liste des sigles et abréviations

5-HT : 5-hydroxytryptamine ou sérotonine

BA : Amygdale basale

BAC : *Bacterial artificial chromosome*

BLA : Amygdale basolatérale

BNST : *Bed nucleus of the stria terminalis*

CeA : Amygdale centrale

DR : Raphé dorsal

DRC : Raphé dorso-caudal

DREADD : *Designer Receptors Exclusively Activated by Designer Drugs*

DRI : Raphé dorsal interfasciculaire

EPM : *Elevated Plus Maze* ou labyrinthe de croix surelevé

HP : Hippocampe

HPd : Hippocampe dorsal

HPv : Hippocampe ventral

IP : Noyau interpédonculaire

KO : *Knock-out*

MnR : Raphe médian

NSFT : *Novelty-Suppressed-Feeding Test*

OF : *Open Field*

PFC : Cortex préfrontal

PMnR : Raphé paramédian

RTPP : *Real Time Place Preference*

SA : *Successive Alleys*

SERT : *Serotonin transporter* ou transporteur de la sérotonine

SNC : Système nerveux central

Tph2 : Tryptophan hydroxylase 2

vHP : Hippocampe ventral

*À Annie, Éric, Félix-Antoine et Zak,
pour votre support inconditionnel*

Remerciements

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de recherche, Bénédicte Amilhon. J'aimerais te remercier chaleureusement pour m'avoir accueillie avec autant de bienveillance, pour m'avoir constamment stimulée et pour l'inspiration constante que tu m'as insufflée tout au long de mon parcours académique.

J'aimerais aussi remercier les membres de mon comité de parrainage, Pier-Paul Rompré et Ciaran Murphy-Royal, pour leurs précieux conseils et le partage de leur expertise, ainsi qu'à Ravi Rungta, pour l'évaluation de mon mémoire. Votre implication a indéniablement contribué à enrichir mon travail.

Un immense merci s'adresse à chacun des membres éminents de notre laboratoire. Guillaume, je suis reconnaissante pour tes conseils éclairés et tes débats enthousiastes qui ont contribué à affiner mon sens critique. Fiona, tu es une source inépuisable d'inspiration, alliant détermination et gentillesse. Je me sens privilégiée d'avoir pu apprendre et collaborer avec toi. Suzanne, ma maîtrise n'aurait pas été la même sans ton soutien indéfectible. Tu as joué un rôle crucial dans le développement de mon sens critique, en écoutant toujours mes idées et en m'encourageant à m'exprimer librement. Merci pour ton soutien, ta patience infinie et ta capacité à inspirer. Tu es un véritable modèle pour moi. Justine, j'aimerais te remercier pour m'avoir accueillie chaleureusement au début de mon parcours dans le laboratoire. Ton enthousiasme contagieux pour la recherche et ta formation exceptionnelle m'ont laissé une empreinte précieuse. Félix et Alice, j'aimerais vous remercier pour vos conseils précieux au début de mon parcours. Emma, Lucia et Lina, bien que notre collaboration ait été brève, j'ai été ravie de l'énergie nouvelle que vous avez apportée au laboratoire.

Enfin, un immense merci à ma famille et à mes amis. Un merci tout particulier à mes parents, qui m'ont apporté un soutien inconditionnel et des encouragements dans toutes les facettes de ma vie. Sans vous, je ne serais pas où j'en suis aujourd'hui. À mes amis, spécialement Yanis et Alfa, je vous suis reconnaissante pour votre soutien inébranlable et votre écoute (même quand mes monologues sur les neurosciences débordaient un peu...). Avoir des amis aussi compréhensifs, présents dans les moments forts comme dans les moments difficiles, est un privilège inestimable.

1 Introduction

1.1 Anxiété

Les troubles anxieux, considérés collectivement, constituent le problème de santé mentale le plus répandu à travers le monde, les femmes étant presque deux fois plus susceptibles que les hommes d'être diagnostiquées avec un trouble anxieux au cours de leur vie (Craske & Stein, 2016; Kessler et al., 2005, 2010). Les troubles anxieux sont caractérisés par des symptômes qui incluent l'inquiétude, les peurs sociales et de performance, les attaques de panique, l'anxiété d'anticipation et les comportements d'évitement. Ces troubles peuvent aussi causer des symptômes physiques et psychologiques comme des palpitations, des essoufflements, des étourdissements, des tensions musculaires, des perturbations du sommeil, de la fatigue, de l'irritabilité et de la difficulté à se concentrer (DeMartini et al., 2019; Szuhany & Simon, 2022). Il est important de noter que ces symptômes peuvent être transitoire ou temporaire. Pour être considéré comme un trouble anxieux et nécessiter une intervention, la peur ou l'anxiété doit être excessive ou disproportionnée, persistante et entraîner des répercussions dans les interactions sociales, la vie professionnelle ou d'autres aspects du quotidien (Bandelow et al., 2017; Craske & Stein, 2016). Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (SSRI) sont privilégiés comme première ligne de traitement pour les troubles anxieux, soulignant le rôle de la sérotonine dans la modulation de l'anxiété. Toutefois, ces traitements présentent des limitations notables (Nutt, 2005; Sartori & Singewald, 2019; Szuhany & Simon, 2022). Les SSRIs peuvent entraîner des effets secondaires importants, prendre plusieurs semaines avant de montrer une efficacité significative et une proportion importante (environ 30%) des patients restent résistants au traitement (Ammar et al., 2015; Anderson, 2006; Artigas et al., 2018; Roy-Byrne, 2015; Sartori & Singewald, 2019; Taylor et al., 2012). Les défis dans le traitement des troubles anxieux mettent en évidence la nécessité d'approfondir notre compréhension des mécanismes qui sous-tendent les circuits de l'anxiété.

1.1.1 Modèle animal en anxiété

Les rongeurs sont fréquemment utilisés comme modèle animal pour étudier les comportements anxieux en raison de leur similitude génétique et neurobiologique avec les humains (Bourin, 2015; Bourin et al., 2007). Les comportements anxieux chez les modèles animaux sont contrôlés par un réseau complexe de régions cérébrales interconnectées. Des dysfonctionnements

de ce système homologue chez l'humain sont associés à divers troubles anxieux (Lawther et al., 2020). Chez les souris, l'anxiété se manifeste principalement de deux façons : par des comportements défensifs et des comportements d'approche-évitement (Lezak et al., 2017). Le comportement défensif, souvent déclenché par la présence perçue d'un prédateur, est mesuré par le degré de paralysie et la réaction à des sons soudains et forts. D'autre part, le comportement d'approche-évitement est observé quand la souris oscille entre explorer et éviter des environnements menaçants. Le temps passé dans l'environnement aversif sert d'indicateur du niveau d'anxiété (D. C. Blanchard, 2017; D. C. Blanchard & Blanchard, 2008; Lezak et al., 2017). Certains paramètres tels que la luminosité, la couleur, la taille et l'habituation à l'environnement ou à l'espace peuvent être ajustés pour moduler les comportements d'aversion de la souris (Bourin et al., 2007). Les souris vont préférer les espaces étroits et sombres, aux espaces ouverts et illuminés (Crawley, 1981). Par exemple, le labyrinthe croix surélevé (EPM) et le *Successive Alleys* (SA) sont deux tests validés et utilisés pour évaluer le niveau d'anxiété des souris selon leurs comportements d'approche-évitement (Deacon, 2013; Lezak et al., 2017; Pellow & File, 1986).

1.1.1.1 Comportements éthologiques des souris

D'autres mesures éthologiques peuvent être mesurées pour évaluer la prise de risque et le niveau d'exploration des souris. Ces indicateurs sont basées sur les comportements dits naturels ou spontanés de la souris suite à la présence d'un stress qui ne cause pas d'inconfort ou de douleur (Bourin et al., 2007). Une variation de fréquence de ces comportements d'approche peut indiquer une fluctuation du niveau d'anxiété chez la souris. Les comportements exploratoires pouvant être mesurés incluent notamment les redressements (ou « rearings », la souris est en position verticale sur ses pattes postérieures), les étirements (ou « stretchings », la souris est tendue vers le stimulus menaçant) et les plongées de tête (ou « head-dips », mouvement de la tête du rongeur vers le sol à partir des bras ouverts) (De Jesús-Burgos et al., 2012; Rodgers & Cole, 1993; Walf & Frye, 2007). Par ailleurs, le nombre et la fréquence des toilettages (ou « grooming ») est aussi un indicateur éthologique utilisé pour évaluer le niveau d'anxiété des souris (Bourin et al., 2007; D'Aquila et al., 2000). En revanche, le toilettage chez les rongeurs augmente à la fois en situation de stress faible voir absent, où il représente un rituel de soin du corps (toilettage de confort), et en cas de stress élevé, où il se manifeste par des épisodes fréquents, courts et rapides (toilettage induit par le stress), différenciant ainsi les deux états (Kalueff & Tuohimaa, 2004).

1.1.2 Circuits d'anxiété

L'anxiété, chez les humains et les rongeurs, est modulée par un ensemble de régions du cerveau interconnectées qui sont influencées par les afférences sérotoninergiques des noyaux du raphé (Figure 1) (Hale & Lowry, 2011; Lawther et al., 2020). Parmi ces structures se retrouvent le complexe de l'amygdale, le cortex préfrontal médian (mPFC), l'hippocampe ventral (vHP) et le « bed nucleus of the stria terminalis » (BNST) (Adhikari, 2014). Les rôles de ces différentes régions sur la modulation des comportements d'anxiété seront détaillés dans les prochaines sections.

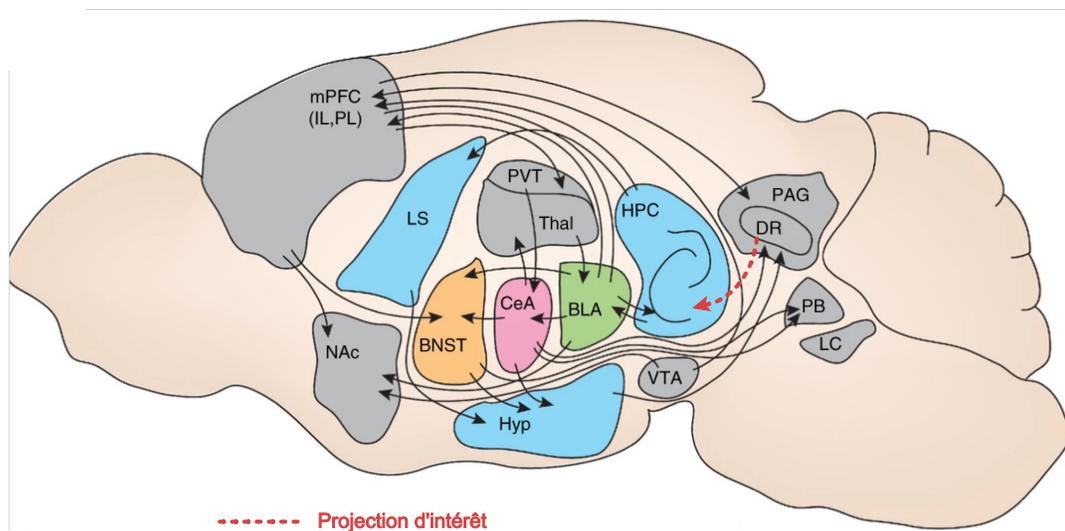


Figure 1. Schéma des circuits neuronaux impliqués dans les comportements d'anxiété chez les rongeurs. BLA, amygdale basolatérale ; BNST, noyau du lit de la strie terminale ; CeA, amygdale centrale ; DR, noyau du raphé dorsal ; HPC, hippocampe ; Hyp, hypothalamus ; IL, division infralimbique du mPFC ; LC, locus coeruleus ; LH : hypothalamus latéral ; LS, septum latéral ; mPFC, cortex préfrontal médian ; NAc, noyau accumbens ; PAG, gris périaqueducal ; PB, noyau parabrachial ; PL, division prélimbique du mPFC ; PVT, thalamus paraventriculaire ; Thal, thalamus ; VTA, aire tegmentale ventrale. Modifié de (Calhoon & Tye, 2015).

1.1.2.1 Rôle du complexe de l'amygdale

Chez les humains, un volume plus important de l'amygdale est corrélé à une anxiété accrue (Machado-de-Sousa et al., 2014; Qin et al., 2014), et une hyperactivation de l'amygdale est observée chez les patients souffrant de différents troubles anxieux (Boehme et al., 2014; Bryant et al., 2008; Nitschke et al., 2009). Chez les rongeurs, l'activation de l'amygdale est constatée après exposition à des contextes anxiogènes comme l'EPM (Butler et al., 2012; Silveira et al., 1993). Les sous-régions les plus étudiées de l'amygdale sont la basolatérale (BLA) et le noyau central (CeA). La BLA intègre des informations sur l'environnement et projette vers le noyau central, qui est le principal centre de sortie de l'amygdale (LeDoux, 2000; Tye et al., 2011). Des études indiquent que différentes cellules de la BLA peuvent avoir des fonctions opposées : certaines cellules s'activent lors de la perception d'une menace (Amano et al., 2011), et d'autres lorsque la menace est passée (Senn et al., 2014). Bien que la CeA est impliquée dans les comportements d'évitement (Carvalho et al., 2012), elle est davantage associée aux processus de peur. Dans une tâche de conditionnement à la peur, l'inhibition optogénétique de la CeA réduit la paralysie induite par la tonalité précédemment pairé à un choc (Ciocchi et al., 2010). Toutefois, bien que l'activation de la BLA augmente les comportements anxieux, l'activation optogénétique spécifique de la projection BLA-CeA diminue les comportements anxieux chez les souris (Tye et al., 2011). En outre, d'autres régions moins étudiées de l'amygdale, comme l'amygdale médiane (C.-I. Li et al., 2004) et l'amygdale basomédiane (Gross & Canteras, 2012), sont également impliquées dans les comportements défensifs.

1.1.2.2 Rôle du BNST

Le noyau du lit de la strie terminale (BNST) est une autre structure cérébrale impliquée dans divers processus émotionnels, notamment la régulation de l'anxiété et du stress. Le BNST est similaire à l'amygdale en termes d'expression de neuropeptides, de profil génétique et de morphologie (Fox et al., 2015; McDonald, 1983; Roberts et al., 1982; Woodhams et al., 1983), il est parfois considéré comme faisant parti de l'amygdale étendue (Alheid et al., 1998; Alheid & Heimer, 1988). Le BNST est connecté à plusieurs structures du système limbique telles que l'amygdale, l'hypothalamus, le mPFC et l'hippocampe (J. Clauss, 2019). Chez l'homme l'activation du BNST est corrélée à une anxiété accrue, alors que le BNST est hyperactif chez les personnes

atteintes de stress post-traumatique (PTSD), d'anxiété sociale ou d'anxiété généralisée (Buff et al., 2017; J. A. Clauss et al., 2019; Feola et al., 2023; Somerville et al., 2010; Yassa et al., 2012). Cependant, les études de lésions chez les rongeurs présentent des résultats contradictoires (Duvarci et al., 2009; Treit et al., 1998), reflétant la complexité du BNST, composé de plusieurs sous-noyaux avec des caractéristiques anatomiques, morphologiques et neurochimiques distinctes (Hammack et al., 2021; van de Poll et al., 2023). Par exemple, l'inactivation optogénétique du noyau ovale du BNST est anxiolytique, tandis que la diminution de l'activité dans le BNST antérodorsal est anxiogène (S.-Y. Kim et al., 2013). De plus, les cellules du BNST diffèrent dans leurs profils neurochimiques (Walter et al., 1991), soulignant d'autant plus l'hétérogénéité et la complexité du BNST dans la modulation des comportements anxieux (van de Poll et al., 2023).

1.1.2.3 Rôle du cortex préfrontal médian

Le cortex préfrontal médian (mPFC) joue un rôle important dans le contrôle émotionnel et est impliqué dans l'anxiété. Le mPFC est connecté à plusieurs structures du système limbique et reçoit notamment des projections denses de l'hippocampe ventral (vHP) et a des connections réciproques avec l'amygdale basolatérale (BLA) (Hoover & Vertes, 2007; Parent et al., 2010; Vertes, 2004; Verwer et al., 1997). Chez les humains, le mPFC est hyperactif lors de la perception ou l'évaluation de stimuli émotionnels chez des patients atteints de différents troubles anxieux (Brinkmann et al., 2017; Bryant et al., 2008; Buff et al., 2018; Labuschagne et al., 2012). Par ailleurs, un traitement par stimulation magnétique transcrânienne répétitive à haute fréquence dans le mPFC pourrait réduire l'anxiété (Herrmann et al., 2017). Des études pharmacologiques et de lésions chez les rongeurs ont montré que l'inactivation du mPFC pouvait entraîner une augmentation (Jinks & McGregor, 1997; Lisboa et al., 2010), une diminution (Deacon et al., 2003; Gonzalez et al., 2000; Shah & Treit, 2003, 2004) ou aucun effet (Corcoran & Quirk, 2007; Lacroix et al., 1998) sur les comportements d'évitement. Les résultats contradictoires obtenus chez les rongeurs pourraient être expliqués par l'hétérogénéité fonctionnels et neurochimiques des différentes sous-régions du mPFC (Chen et al., 2022). Par exemple, les divers récepteurs 5-HT présents dans le mPFC semblent moduler de manière distinctes les comportements anxieux (Du et al., 2018; Geng et al., 2018; Solati et al., 2011). Par ailleurs, les altérations de l'activité neuronale et de la plasticité synaptique dans le mPFC sont liées à un risque plus élevé de troubles anxieux (Chocyk et al., 2013). La densité et la morphologie des dendrites des neurones pyramidaux du

mPFC seraient aussi indicateur de la vulnérabilité au stress (Miller et al., 2012). En outre, les neurones du mPFC montrent une activité préférentielle dans les bras fermés ou ouverts de l'EPM et cette représentation des bras dans le mPFC est inversement corrélée à l'évitement des bras ouverts. Les souris avec plus d'unités représentant les bras ouverts que fermés sont celles qui passent le plus de temps dans les bras ouverts, suggérant que le mPFC encode certains aspects du contexte associés aux comportements d'évitement (Adhikari et al., 2011).

1.2 Sérotonine

La sérotonine, ou 5-hydroxytryptamine (5-HT), est un neurotransmetteur présent dans le système nerveux central (SNC), mais aussi dans divers systèmes du corps, tels que les systèmes cardiovasculaire, pulmonaire, gastrointestinal et génito-urinaire (Azmitia, 2020; M. Berger et al., 2009). Bien que le système sérotoninergique influence une multitude de fonctions biologiques, les neurones sérotoninergiques ne représentent qu'une petite proportion des neurones du SNC, soit environ 1 neurone sur un million chez l'humain (M. Berger et al., 2009). Chez le rongeur, la diffusion de la sérotonine dans tout le cerveau est assurée par seulement 26 000 neurones (Ishimura et al., 1988).

1.2.1 Organisation anatomique des neurones sérotoninergiques

Initialement subdivisés en groupes (B9 à B1) selon leur organisation topographique rostro-caudale (Dahlstroem & Fuxe, 1964), les neurones sérotoninergiques sont désormais désignés selon une appellation basée sur leur cytoarchitectonie (Tableau 1) (Soiza-Reilly & Gaspar, 2020). Les somas des sous-divisions constituant les noyaux du raphé représentent la majorité des neurones sérotoninergiques du cerveau (66,9%) et projettent de manière diffuse dans l'ensemble des régions du SNC (Ishimura et al., 1988; Soiza-Reilly & Gaspar, 2020). Le reste des neurones 5-HT sont localisés près du raphé dans des régions du tronc cérébral, telles que la formation réticulée et la zone supra-lemniscale, qui forment le B9, ainsi que le noyau interpédonculaire.

| Groupes | Noyaux anatomiques |
|---------|---|
| B1 | Raphe pallidus |
| B2 | Raphe obscurus |
| B3 | Raphe magnus |
| B4 | Noyau supragénital |
| B5 | Noyau pontin (PnR) |
| B6 | Raphé dorso-caudal (DRC) |
| B7 | Raphé dorsal (DR), Partie dorsale du raphé dorsal (DRD), Partie ventrale du raphé dorsal (DRV), Partie latérale du raphé dorsal (DRL), Raphé dorsal interfasciculaire (DRI) |
| B8 | Raphé médian (MnR), Raphe paramédian (PMnR), Noyau linéaire caudal (CLi), Noyau interpédonculaire apical (IPA) |
| B9 | Noyau supra-lemniscal, Formation réticulée ponto-mésencéphalique (PMRF) |

Tableau 1. Groupes de neurones sérotoninergiques selon Dahlström et Fuxe (1964) et les noyaux anatomiques associés (Soiza-Reilly & Gaspar, 2020).

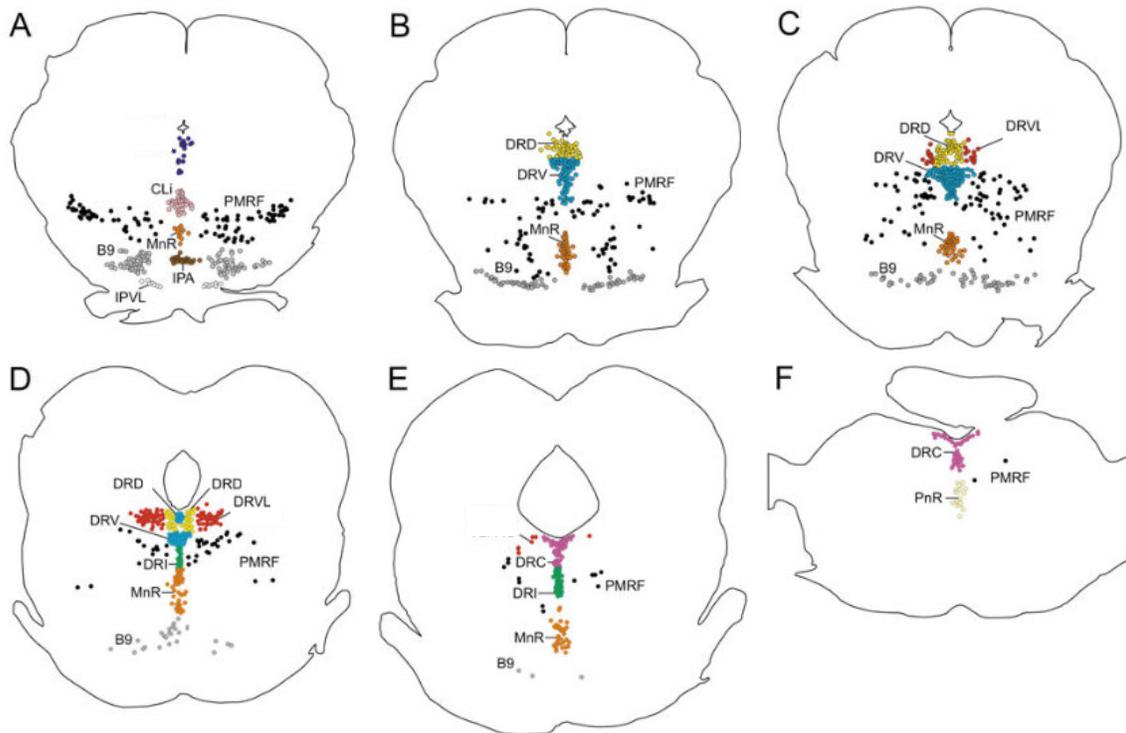


Figure 2. Schéma de l'organisation topographique et fonctionnellement distincte des sous-régions du raphé. Modifié de (Hale & Lowry, 2011).

1.2.1.1 Noyaux du raphé

Le raphé est un ensemble de noyaux sous-corticaux situé dans le tronc cérébral au niveau du bulbe rachidien, du pont et du mésencéphale. Les différentes sous-régions anatomiques du raphé présentent des différences de patrons de connectivité, de fonctions et de profils moléculaires (Figure 2) (Gaspar & Lillesaar, 2012; Hale & Lowry, 2011; Jensen et al., 2008; Muzerelle et al., 2016). En plus de ces neurones sérotoninergiques, le raphé contient une population neuronale mixte exprimant d'autres neurotransmetteurs tels que le glutamate, la dopamine ou l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) (Fortin-Houde et al., 2023; Fu et al., 2010; Huang et al., 2019; Jackson et al., 2009; Sos et al., 2017). Les noyaux du raphé peuvent être regroupés en deux complexes selon leurs trajectoires axonales et leur origine rhombomérique : le complexe caudal (correspondant aux groupes B1 à B3) et le complexe rostral du raphé (B4 à B8) (Ding et al., 2003; Wylie et al., 2010). Le complexe caudal du raphé envoie des projections descendantes au tronc cérébral et à la moelle épinière et est principalement impliqué dans certains processus physiologiques tels que l'homéostasie cardiorespiratoire, la thermorégulation, la locomotion et la nociception (Hornung, 2003; Veasey et al., 1995; Wylie et al., 2010). Le complexe rostral projette de manière ascendante au prosencéphale et est impliqué, entre autres, dans la modulation des comportements émotionnelles, l'apprentissage et la mémoire, ainsi que la régulation du cycle éveil-sommeil (Hale & Lowry, 2011; Hornung, 2003; Wylie et al., 2010).

1.2.1.2 Neurones sérotoninergiques hors du raphé

Une proportion considérable des neurones 5-HT provient également des noyaux B9 et interpédonculaire. Le groupe B9, comprenant le noyau supra-lémniscale ainsi que la formation réticulée ponto-mésencéphalique, est le groupe de neurones 5-HT le plus rostral (Soiza-Reilly & Gaspar, 2020). Les neurones du B9 contiennent environ 20 à 25% de tous les neurones 5-HT mésopontiques (Ishimura et al., 1988; Muzerelle et al., 2016; Vertes & Crane, 1997). Bien que de taille significative, le groupe B9 est moins étudié en raison de sa répartition diffuse et latérale. Les rares études sur le B9 suggèrent un rôle potentiel dans les comportements d'agression, la nociception et les réponses au stress (Kerman et al., 2011; Lowry et al., 2008; Moriya et al., 2020). Les principales projections du B9 descendent dans le tronc avec des ramifications importantes vers le DR et le MnR, ainsi que vers les neurones noradrénergiques du locus coeruleus (Muzerelle et al., 2016).

Le noyau interpedonculaire (IP), situé dans la ligne médiane ventrale à la limite du mésencéphale postérieur, est un noyau qui contient une sous-population de neurones sérotoninergiques au niveau du mésencéphale et du pont (Bianco & Wilson, 2008; Hale & Lowry, 2011). L'IP est composée de plusieurs sous-noyaux avec des caractéristiques cytoarchitectoniques, des populations neuronales et des connexions distinctes (Hemmendinger & Moore, 1984). Les noyaux interpedonculaires apicale (IPA) et ventro-latéral (IPVL) sont les deux seuls sous-noyaux contenant des neurones 5-HT (Groenewegen et al., 1986; Montone et al., 1988). Ensembles, ces noyaux représentent 1,5% des neurones 5-HT du cerveau chez le rongeur, avec environ 400 neurones (Ishimura et al., 1988; Singhanityom et al., 1982). À cause de leurs proximités, l'IP a longtemps été inclut à tort dans les sous-noyaux du raphé (Montone et al., 1988). L'IP est fortement connecté au système limbique et est impliqué dans la modulation d'une variété de fonctions tels que la nociception, le stress et l'évitement, la mémoire émotionnelle, la récompense et l'addiction, ainsi que dans la régulation des rythmes circadiens et du sommeil (Fowler et al., 2011; Hammer & Klingberg, 1990; Haun et al., 1992; Mészáros et al., 1985; Sherafat et al., 2020; Wolfman et al., 2018; Zhao-Shea et al., 2013). L'IP reçoit de denses afférences de l'habénula et a des connexions réciproques avec le RD et MnR (Behzadi et al., 1990; Groenewegen et al., 1986; Herkenham & Nauta, 1979; Shibata et al., 1986; Shibata & Suzuki, 1984).

1.2.1.3 Projections à l'hippocampe

L'hippocampe reçoit des inputs hétérogènes des sous-noyaux du raphé. Chez la souris, la quasi-totalité des afférences sérotoninergiques de l'hippocampe proviennent du MnR (Muzerelle et al., 2016). En revanche, chez le rat, l'hippocampe reçoit des projections sérotoninergiques majoritairement du MnR, mais aussi du DR (Azmitia & Segal, 1978; Köhler & Steinbusch, 1982; Vertes et al., 1999). Seules les régions les plus caudales du DR projettent à l'hippocampe, soient le DRC et le DRI (McKenna & Vertes, 2001; Vertes, 1991). En outre, chez la souris et le rat, l'hippocampe reçoit des afférences clairsemées du groupe B9 (Köhler & Steinbusch, 1982; Muzerelle et al., 2016), ainsi que de l'IP (Montone et al., 1988; Sherafat et al., 2020; Wirtshafter et al., 1986). Dans l'hippocampe, les projections sérotoninergiques du raphé ciblent préférentiellement certains interneurons GABAergiques (Freund et al., 1990; Halasy et al., 1992; Varga et al., 2009), lesquels expriment presque la totalité des sous-types de récepteurs 5-HT (Berumen et al., 2012). Par exemple, l'activité des interneurons exprimant la calbindine D28K,

la cholécystokinine (CCK) ou le polypeptide vasoactif intestinal (VIP) semblent être modulée par les projections 5-HT du raphé, mais pas ceux exprimant la parvalbumine (PV) (Freund, 1992; Freund et al., 1990; Halasy et al., 1992; Hornung & Celio, 1992; Papp et al., 1999; Winterer et al., 2011). Les afférences 5-HT du raphé ciblent principalement les couches moléculaires des trois sous-régions de la corne d'Ammon, ainsi que la couche granulaire du gyrus dentelé (Berumen et al., 2012; Ihara et al., 1988; Morin & Meyer-Bernstein, 1999; Vertes et al., 1999). Des détails supplémentaires sur l'anatomie de l'hippocampe sont fournies dans la section 1.3.1.

1.2.1.4 Récepteurs sérotoninergiques

La sérotonine interagit avec une grande diversité de récepteurs couplés aux protéines G et un canal ionique en faisant un système complexe. Classés en sept familles (5-HT1 à 5-HT7), il existe au moins 14 sous-types de récepteurs sérotoninergiques largement distribués dans l'ensemble du SNC et dans le reste du corps (Mengod et al., 2010). Ces récepteurs peuvent entraîner soit une diminution soit une augmentation de l'excitabilité neuronale. Les familles de récepteurs 5-HT1 et 5-HT5, métabotropiques, inhibent l'activité de l'adénylyl cyclase via une protéine G, induisant ainsi une hyperpolarisation neuronale. À l'inverse, les familles 5-HT4, 5-HT6 et 5-HT7, stimulent l'adénylyl cyclase, favorisant ainsi la production de l'AMP cyclique et entraînant une dépolarisation. Pour sa part, la famille 5-HT2, également métabotrope, exerce son effet en stimulant la phospholipase C, un autre mécanisme de signalisation intracellulaire menant à une dépolarisation. Enfin, le récepteur 5-HT3, se distingue étant le seul récepteur ionotrope, déclenche une dépolarisation rapide par l'ouverture de canaux cationiques lors de la liaison à la sérotonine (Filip & Bader, 2009). Les récepteurs 5-HT peuvent être localisés sur la membrane pré ou postsynaptique. Dans les noyaux du raphé, les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1F} agissent comme autorécepteurs somatodendritiques permettant de réduire la libération et la neurotransmission de la sérotonine (Lanfumeey & Hamon, 2000). Par ailleurs, dans l'hippocampe, on retrouve la plupart des sous-types de récepteurs 5-HT, chacun présentant des patrons d'expression distincts (Berumen et al., 2012; Dale et al., 2016; Tanaka et al., 2012). Une cellule peut aussi exprimer plusieurs sous-types de récepteurs, aux effets parfois complémentaires ou opposés, augmentant ainsi la complexité de la signalisation sérotoninergique dans cette région (Dale et al., 2016).

1.2.2 Fonctions du système sérotoninergique

La sérotonine influence de nombreuses fonctions physiologiques, ainsi qu'une vaste variété de comportements et de processus neuropsychologiques. Le système sérotoninergique module notamment l'humeur, la perception, la récompense, la colère, l'agressivité, l'appétit, la mémoire, la sexualité et l'attention (M. Berger et al., 2009). Une dérégulation du système 5-HT est liée à plusieurs pathologies comme le Parkinson, la schizophrénie, l'épilepsie, la dépression et les troubles anxieux (Bozzi et al., 2020; Friedel & Heinz, 2020; Kohl & Winkler, 2020; Quednow et al., 2020; Zangrossi et al., 2020).

1.2.2.1 Sérotonine et locomotion

Le système sérotoninergique module l'activité locomotrice de manière complexe. Les neurones 5-HT du complexe caudal du raphé influencerait directement l'activité locomotrice, alors que les neurones 5-HT du groupe rostral influencerait la locomotion de manière indirecte, en innervant plusieurs régions impliquées dans la planification de la locomotion (Flaive et al., 2020). Initialement, la 5-HT a été identifiée comme étant un modulateur important de l'activité locomotrice, suite à l'observation que l'augmentation des niveaux extracellulaires de 5-HT chez des animaux décérébrés, sous anesthésie ou sur la moëlle épinière disséquée induit une locomotion dite fictive (Cazalets et al., 1992; Meehan et al., 2012; Viala & Buser, 1969, 1971). Le groupe du raphé caudal qui envoie la majorité de ses projections descendantes à tous les niveaux de la moëlle épinière (Hornung, 2010; Perrier & Cotel, 2015), se trouvant ainsi en position idéale pour moduler directement l'activité locomotrice. En outre, les neurones 5-HT du raphé caudal innervent la corne dorsale via des contacts non-synaptiques, ainsi que les interneurons et motoneurons de la corne ventrale via des synapses (Hornung, 2010; Loewy, 1981; Perrier & Cotel, 2015; Ridet et al., 1994). Plusieurs études chez le chat ont montré une corrélation entre l'activité unitaire des neurones du raphé caudal et la vitesse de locomotion (Jacobs & Fornal, 1993; Veasey et al., 1995). Chez la souris, l'inhibition des neurones sérotoninergiques du raphé caudal diminue l'hyper-locomotion induite par le stress (Ikoma et al., 2018).

Le raphé rostral, plus précisément le raphé dorsal, a plus récemment été identifié comme étant une région pouvant moduler indirectement l'activité locomotrice (Flaive et al., 2020). Par exemple, l'activation chémogénétique (par DREADDs) des neurones sérotoninergiques (Pet1-

positifs) du DR réduit significativement la distance parcourue de ces souris (Teissier et al., 2015). De même, l'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques dans le DR diminue la distance parcourue dans l'EPM (Ohmura et al., 2014) et la vitesse spontanée dans l'OF (Correia et al., 2017). Cet effet semble spécifique au noyau du DR puisque la stimulation des neurones Tph2 du MnR ne montre aucun effet sur la locomotion (Ohmura et al., 2014). Étrangement, l'inhibition chémogénétique des neurones Pet1-positifs du DR n'a eu aucun effet sur la locomotion dans l'OF (Teissier et al., 2015). Les projections sérotoninergiques du DR à l'amygdale centrale (CeA) ou au cortex orbito-frontal (OFC) contribueraient potentiellement à cet effet inhibiteur sur la locomotion (Ren et al., 2018). Dans cette étude, l'activation chémogénétique des voies sérotoninergiques DR-CeA et DR-OFC diminue la distance parcourue dans un OF. À l'inverse le Knock-Out (KO) conditionnelle de la Tph2 dans cette voie, a induit l'augmentation de l'activité locomotrice, mais uniquement pour la voie DR-CeA (Ren et al., 2018). Le rôle du DR dans la locomotion semble toutefois encore controversé alors que la stimulation optogénétique des neurones ePet1 du DR semble pouvoir causer une augmentation de la distance parcourue dans un OF (Liu et al., 2014). Les neurones 5-HT du DR régulerait aussi de manière contextuelle l'activité locomotrice. Dans des conditions à faible risque, l'activation de ces neurones réduirait l'activité locomotrice, tandis que dans des situations à haut risque, elle semble l'augmenter. Par exemple, lors de tests d'évitement ou d'approche dans un paradigme comportant deux compartiments, où la souris est soit récompensée soit soumise à un choc électrique dans l'une des chambres, l'activation optogénétique des neurones Sert diminue la vitesse de déplacement. Cependant, dans un contexte plus menaçant comme un test de suspension par la queue, la souris montre une augmentation de son activité locomotrice en réponse à cette activation (Seo et al., 2019). Dans un OF, l'activation des neurones Sert-positifs du DR induit la réduction de la vitesse de locomotion et l'augmentation du temps stationnaire de la souris, alors que dans un environnement linéaire éclairé avec récompenses ou sur un rotarod, la locomotion est inchangée (Correia et al., 2017).

1.2.2.2 Sérotonine et anxiété

Tel que mentionné précédemment, le système sérotoninergique a un rôle important dans la modulation de l'anxiété et constitue la première cible pour les traitements pharmacologiques pour les troubles anxieux. Les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (SSRIs) agissent principalement sur le transporteur de sérotonine (SERT) qui régule la signalisation de la 5-HT en

réintégrant la 5-HT extracellulaire dans la terminaison présynaptique (Nutt, 2005). Bien que les SSRIs puissent atténuer les symptômes de divers troubles anxieux sur le long terme, leur efficacité est encore sujette à débat. De nombreux patients ne répondent pas à ces médicaments ou éprouvent une intensification de leur anxiété durant les premières semaines de traitement (Ammar et al., 2015; Harada et al., 2008). Le rôle de la sérotonine sur les comportements anxieux est complexe. Par exemple, des variations du gène *Tph2*, responsable de la production de la tryptophane hydroxylase 2 (TPH2), une enzyme essentielle à la biosynthèse la sérotonine (Walther et al., 2003), sont associées à des modifications du comportements anxieux chez les animaux (Michalikova et al., 2010; Russo et al., 2019; Waider et al., 2011) et à des troubles anxieux chez l'humain (Furmark et al., 2016; Y.-K. Kim et al., 2009; Y.-M. J. Lin et al., 2009). Par exemple, chez la souris, des variations génétiques dans le gène *Tph2*, induites par l'insertion d'une mutation spécifique ou par la modification d'un nucléotide (SNP), réduit la synthèse de sérotonine et augmente les comportements anxieux (Beaulieu et al., 2008; S. M. Berger et al., 2012). À l'inverse, les souris sans *Tph2* (KO), induisent parfois une augmentation (Lesch et al., 2012; Mosienko et al., 2012) ou aucun effet (Angoa-Pérez et al., 2012) sur les comportements anxieux, suggérant la présence d'un mécanisme compensatoire (Mosienko et al., 2014).

Les noyaux du raphé sont idéalement positionnés pour moduler les comportements anxieux, car ils envoient des projections 5-HT vers de nombreuses régions importantes du système limbique, y compris l'hippocampe ventral, le mPFC, la BLA, le noyau accumbens, le BNST et l'habénula latérale (Hale & Lowry, 2011; Muzerelle et al., 2016). Plus précisément, le raphé médian (MnR) contribuerait à la modulation des comportements anxieux. Des lésions électrolytiques et neurotoxiques du MnR engendrent une diminution des comportements anxieux chez les rongeurs dans les tests de l'EPM et de la boîte lumière-obscurité (T. G. Andrade & Graeff, 2001; Konno et al., 2007). Par ailleurs, l'injection d'un agoniste au récepteur sérotoninergique 5-HT_{1A} dans le MnR a aussi un effet anxiolytique et augmente les comportements exploratoires des rats dans l'EPM (De Almeida et al., 1998). Ces résultats semblent être spécifiques au MnR, puisque cet effet anxiolytique ne fût pas observé dans les rats avec des lésions dans le DR (Konno et al., 2007). Par ailleurs, l'activation optogénétique spécifique du MnR, et non du DR, diminue le temps passé dans les zones ouvertes de l'EPM, suggérant une augmentation du comportement anxieux (Ohmura et al., 2014). Ces résultats suggèrent un rôle spécifique au MnR dans la régulation des comportements anxieux d'aversion.

1.3 Hippocampe

L'hippocampe (HP), situé sous les lobes temporaux médians du cerveau humain, est des structures les plus étudiées du cerveau. Principalement reconnu pour son rôle dans la consolidation de la mémoire et la navigation, l'HP est aussi une structure d'intérêt pour certaines de ses caractéristiques uniques telles que sa plasticité synaptique ou sa neurogénèse chez l'adulte (Per et al., 2006). De plus, l'HP est impliqué dans plusieurs pathologies comme l'épilepsie ou la maladie d'Alzheimer, ainsi que certains troubles émotionnels liés au stress, à l'anxiété et à la peur (Per et al., 2006; Richard, 2006).

1.3.1 Anatomie de l'hippocampe

L'hippocampe, en association avec plusieurs structures connexes, forme un système fonctionnel appelé la formation hippocampique. Cette formation inclut, outre l'hippocampe, le gyrus dentelé, le subiculum, le présubiculum, le parasubiculum et le cortex entorhinal (David & Pierre, 2006). L'HP est une structure hautement conservée chez les mammifères, soulignant son importance évolutive (Per et al., 2006). L'HP est divisé en trois champs formant la corne d'Ammon (CA) : CA1, CA2 et CA3. Ces champs ont une organisation laminaire particulière, relativement similaire à travers l'axe dorso-ventral de l'HP (Witter, 2012). Les couches distinctes des champs, allant du ventricule latéral à la couche la plus profonde, sont : la *stratum oriens*, la *stratum pyramidale*, la *stratum radiatum* et la *stratum lacunosum-moleculare*. Entourée des couches plexiformes, la *stratum pyramidale* est la couche cellulaire principale et contient les neurones pyramidaux. La région CA3 contient une couche supplémentaire, soit la *stratum lucidum* (Figure 3) (Reznikov, 1991; Schultz & Engelhardt, 2014).

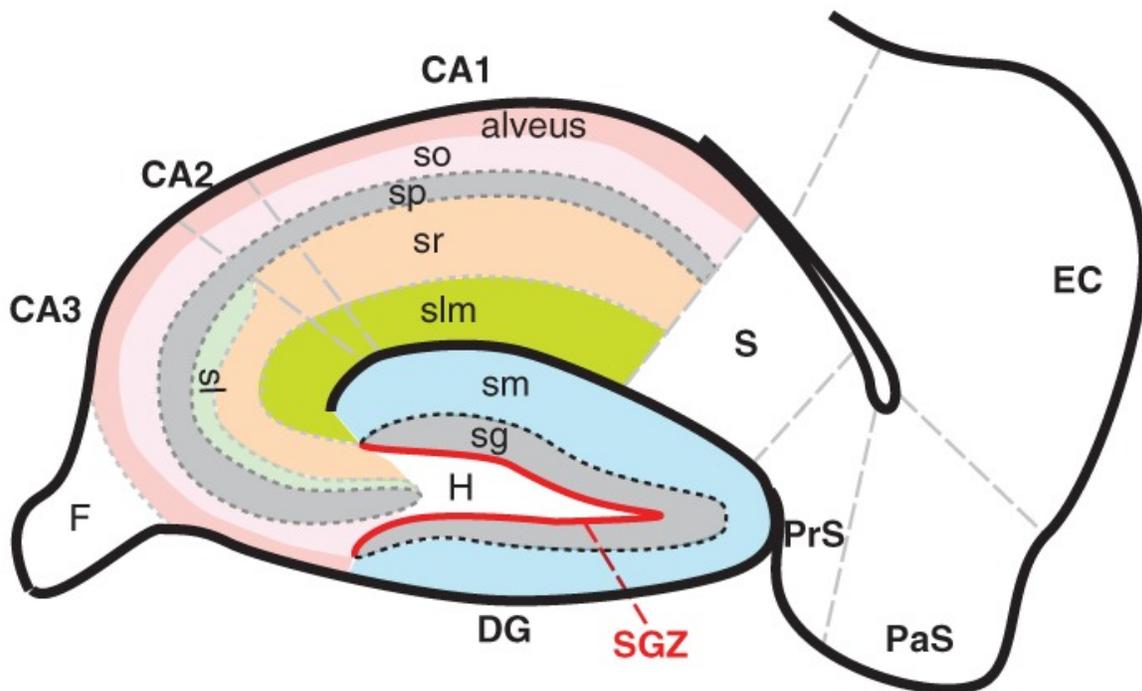


Figure 3. Schéma de l'anatomie de l'hippocampe et de son organisation laminaire. CA, corne d'Ammon ; DG, gyrus dentelé ; CE, cortex entorhinal ; F, fimbria ; H, hile ; PrS, présubiculum ; PaS, parasubiculum ; S, subiculum ; stratum (str.) oriens ; SP, str. pyramidale ; SR, str. radiatum ; SLM, str. lacunosum-moleculare ; SL, str. lucidum ; SM, str. molecular ; SG, str. granulosum ; SGZ, zone sous-granulaire. Modifié de (G. Li & Pleasure, 2014).

1.3.2 Fonctions générales de l'hippocampe

La fonction générale de l'HP a longtemps été débattue dans la littérature. D'une part, l'HP est associé à la cognition et la mémoire déclarative, indépendamment du contenu émotionnel. D'autre part, l'HP est impliqué dans la régulation émotionnelle et est associé à plusieurs troubles affectifs. Bien que son anatomie interne semble relativement uniforme, l'hippocampe est désormais reconnu comme étant une structure fonctionnellement hétérogène sur son axe dorso-ventral, caractérisée par des variations dans son expression génique et des connexions distinctes (Fanselow & Dong, 2010).

L'idée que l'hippocampe serait associé dans à la mémoire a été proposé en 1957 par l'étude de cas d'H.M., un patient épileptique résistant à la médication, ayant subi une résection bilatérale des lobes temporaux médians. Le patient H.M. a développé par la suite une amnésie antérograde, c'est-à-dire une incapacité à former de nouveaux souvenirs post-chirurgie (Scoville & Milner, 1957). Des études sur des modèles animaux avec des lésions de l'HP ont confirmé son rôle central dans la formation de la mémoire (Logue et al., 1997; Squire, 1992; Winocur & Olds, 1978; Zola et al., 2000). L'HP a la capacité de former des souvenirs contextuels qui requiert une exploratoire et une intégration cognitive, indépendamment du contexte émotionnel ou motivationnel (Eichenbaum, 1997, 2000; Fanselow, 1986, 1990). Dans le modèle classique de la mémoire, l'HP est un lieu de création des souvenirs, qui sont ensuite transférés au cortex pendant le sommeil lent pour une intégration à long terme (Nadel & Moscovitch, 1997; Siapas & Wilson, 1998; Sirota et al., 2003; Squire & Zola-Morgan, 1991).

Parallèlement, l'HP est impliqué dans les comportements émotionnels. James W. Papez, a proposé une hypothèse neuroanatomique influente, suggérant pour la première fois que l'hippocampe est une structure d'un circuit cérébral constituant la base anatomique des émotions (Papez, 1937). Une étude a rapidement supporté cette hypothèse en montrant que l'ablation du lobe temporal chez les singes entraînait des changements émotionnels significatifs incluant la perte de la peur (Klüver & Bucy, 1937). Le système septo-hippocampique a initialement été proposé comme étant le complexe régulateur de la peur et l'anxiété (Gray, 1982; Gray & McNaughton, 2003), mais cette théorie a été révisée pour inclure l'amygdale et d'autres structures cérébrales, en raison de leur rôle établi dans la modulation de la peur et de l'anxiété (McNaughton & Corr, 2004). L'implication de l'hippocampe dans l'anxiété était soutenue par les effets similaires des médicaments anxiolytiques et des lésions hippocampiques dans certaines tâches de mémoire (Gray & McNaughton, 2003; McNaughton & Morris, 1987, 1992). Chez l'humain, des anomalies de l'HP, telles que la réduction de volume et l'altération de la connectivité, sont liées à divers troubles psychologiques, y compris les troubles bipolaires (Frey et al., 2007), la dépression (Frodl et al., 2002, 2010) et certains troubles anxieux (Bossini et al., 2008; H. Cui et al., 2016; Kolesar et al., 2019; Smith, 2005). L'HP semble également impliqué dans la régulation par rétroaction négative de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien, le système principal contrôlant la réponse hormonale au stress (Dedovic et al., 2009; Jacobson & Sapolsky, 1991)

1.3.3 Division dorso-ventrale de l'hippocampe

Moser et Moser, dans une revue de la littérature en 1998, ont proposé que l'hippocampe ne fonctionne pas comme une entité uniforme, mais que ses parties dorsale (HPd, HP postérieur chez l'humain) et ventrale (HPv, HP antérieur chez l'humain) assument des rôles distincts (M.-B. Moser & Moser, 1998). Ils ont appuyé leur théorie sur trois ensembles de données. Premièrement, les connexions afférentes et efférentes de l'HPd et l'HPv sont distinctes (Andersen et al., 1971; Swanson & Cowan, 1977). Deuxièmement, l'HPd est essentiel pour la mémoire spatiale, contrairement à l'HPv (Hughes, 1965; M. B. Moser et al., 1995a; Sinnamon et al., 1978). Troisièmement, les réponses hormonales au stress et les comportements émotionnels dépendent de l'HPv, mais pas de l'HPd (Henke, 1990; Herman et al., 1998).

1.3.3.1 Hippocampe dorsal

Les connexions positionnent de l'HPd au cœur d'un réseau cérébral essentiel pour la mémoire et la navigation. Ses afférences proviennent majoritairement du cortex entorhinal qui intègre et relaie les informations multisensorielles des aires associatives et du néocortex (Burwell, 2000; Dolorfo & Amaral, 1998; Insausti et al., 1997; Lavenex & Amaral, 2000). L'HPd envoient des efférences au noyau antérieur du thalamus, au noyau mamillaire médian et au septum latéral (Ishizuka, 2001; Swanson & Cowan, 1975), des régions impliquées dans l'orientation et la navigation (Taube, 2007). L'HPd envoie aussi des projections à des aires corticales liées au traitement visuel et à la mémoire, comme le cortex rétrosplénial et le cortex antérieur cingulaire (Cenquizca & Swanson, 2007; Vogt & Miller, 1983).

L'HPd a un rôle majeur dans la mémoire et l'apprentissage spatiale. Des lésions de l'HPd, mais pas de l'HPv, entraînent des déficits de mémoire et d'apprentissage spatial dans des tâches comme le labyrinthe de Morris (E. Moser et al., 1993; M. B. Moser et al., 1995b) et le labyrinthe à bras radial (Pothuizen et al., 2004). Ces résultats ont été répliqués dans de nombreuses études d'apprentissage et de mémoire spatiale (Bannerman et al., 1999, 2002; Zhang et al., 2004). Par ailleurs, les cellules de lieu sont présente en plus grande densité et ont plus de précision spatiale dans l'HPd, que HPv (Jung et al., 1994). Ces cellules de lieu encodent la position spatiale de l'animal et contribuent à la création d'une carte cognitive de l'environnement lors de la navigation (O'Keefe & Dostrovsky, 1971). Chez les humains, des études chez des étudiants en santé ont

montré une corrélation entre la taille et la quantité de matière grise de leur HP postérieur (analogue à l'HPd) et leur performance dans des tâches d'apprentissage spatial (Schinazi et al., 2013; Sherrill et al., 2018).

1.3.3.2 Hippocampe ventral

L'HPv est étroitement lié au système limbique, partageant des connexions réciproques avec l'amygdale (Cenquizca & Swanson, 2007; Kishi et al., 2006; Petrovich et al., 2001; Pitkänen et al., 2000). Les régions prélimbique et infralimbique du mPFC reçoivent des afférences importantes de l'HPv et revoient des connexions indirectes via le thalamus (Hoover & Vertes, 2007; Jay et al., 1989; Thierry et al., 2000; Vertes, 2006). L'HPv envoient aussi des afférences à plusieurs autres structures du système limbique comme le bulbe olfactif (Cenquizca & Swanson, 2007), le noyau accumbens (Kelley & Domesick, 1982), l'hypothalamus (Kishi et al., 2000) et le BNST (Canteras & Swanson, 1992).

L'HPv serait, quant à lui, davantage impliqué dans les comportements de peur et d'anxiété, les réponses au stress, ainsi que les comportements sociaux. Des lésions à l'HPv, et non dorsal, ont montré un effet anxiolytique dans différents paradigmes d'approche-évitement (EPM, SA, OF, labyrinthe en forme de T), d'interactions sociales, d'hyponéophagie, d'exploration lumière/obscurité (« light-dark box ») (Bannerman et al., 2003; Kjelstrup et al., 2002; McHugh et al., 2004; Trivedi & Coover, 2004; Weeden et al., 2015). Par ailleurs, les souris avec des lésions à l'HPv présentent des signes de stress diminués dans un espace illuminé comme une baisse de défécations et de sécrétion de corticostérone, une hormone relié au stress (Kjelstrup et al., 2002). La région CA1 de l'HPv contient aussi des cellules qui s'activent préférentiellement dans les bras ouverts, plus aversifs, de l'EPM (Jimenez et al., 2018). Chez les patients atteints de troubles anxieux, la taille de l'hippocampe antérieur (analogue de l'HPv) est réduite (Badarnee et al., 2023). L'HPv serait aussi impliqué dans le conditionnement à la peur. Dans ces tests, les rongeurs sont placés dans un environnement où ils recevront des chocs électriques pairés à un son. Après un certain délai, le rongeur est remis dans le contexte et sera réexposé au son. Le temps passé à être figé lorsqu'il est de retour dans le contexte et suite à la réexposition du son seront mesurés (Bouton & Bolles, 1980). Suite à une lésion dans l'HPv, les souris ont un comportement de gel réduit suite à la réexposition au contexte et/ou au son (Czerniawski et al., 2009; Maren & Holt, 2004;

Richmond et al., 1999; Rodgers & Cole, 1993; Trivedi & Coover, 2004; Yoon & Otto, 2007). L'HPv est également impliqué dans les réponses défensives face à des prédateurs ou à leurs odeurs (Pentkowski et al., 2006). Ainsi, l'HPv est essentiel à la modulation des comportements de peur et d'anxiété.

1.3.4 Sérotonine et hippocampe ventral

La sérotonine influence fortement les fonctions émotionnelles de l'HPv. Une augmentation de 5-HT dans l'HPv est observée chez les rongeurs en réponses à des interactions sociales (Cadogan et al., 1994) ou à divers stimuli aversifs ou anxiogènes, tels que l'EPM (Rex et al., 2005; Voigt et al., 1999; Wright et al., 1992) et des chocs électriques (Hajós-Korcsok et al., 2003). Par ailleurs, les comportements anxieux chez les rongeurs sont corrélés à des changements présynaptique et postsynaptique dans l'hippocampe, tels que la diminution de ARNm des récepteurs 5-HT_{1A} et une augmentation de l'expression ou du nombre de sites de liaison SERT (Keck et al., 2005; Paré & Tejani-Butt, 1996). Chez les rongeurs, la majorité des types de récepteurs 5-HT sont exprimés dans l'HPv (Berumen et al., 2012). Les récepteurs postsynaptiques 5-HT_{1A} et 5-HT_{2C} semblent jouer un rôle important dans la modulation des comportements anxieux associés à l'HPv. Un effet anxiolytique est observé suite à l'administration d'un antagoniste 5-HT_{1A} (Nunes-de-Souza et al., 2002), tandis que l'administration d'un agoniste 5-HT_{2C} induit un effet anxiogène (S. H. Alves et al., 2004), ces effets étant spécifiques à l'HPv.

Les afférences sérotoninergiques de l'HPv proviennent majoritairement du MnR et un peu du DR (Muzerelle et al., 2016). Par ailleurs, comme mentionné plus tôt, l'activation spécifique du MnR, mais pas du DR, est anxiogène et augmente la relâche de 5-HT dans l'HPv (Ohmura et al., 2014). L'activation optogénétique des terminaisons sérotoninergiques dans l'HPv diminue le temps passé dans les bras ouverts d'un EPM (Ohmura et al., 2020). Ces résultats suggèrent que les projections 5-HT du MnR à l'HPv modulerait les comportements d'évitement chez les rongeurs.

1.3.5 Rôle du rythme thêta dans l'HPv

La réalisation de tâches cognitives complexes par le cerveau implique la coordination synchronisée de nombreux neurones répartis dans diverses régions cérébrales. Les oscillations cérébrales offrent un mécanisme essentiel pour cette coordination, en synchronisant l'activité de

groupes de neurones liés. Parmi ces rythmes, le rythme thêta, caractérisé par des oscillations sinusoïdale entre environ 4 et 12 Hz, est notamment présent pendant la locomotion, le sommeil paradoxal et les comportements anxieux (Colgin, 2013, 2016). Le rythme thêta faciliterait la coordination et la communication entre plusieurs régions du système limbique comme l'amygdale, le mPFC et l'HPv, régulant ainsi les comportements anxieux (Adhikari, 2014).

Dans l'hippocampe, toutes les classes d'anxiolytiques, peu importe leur cible ou leur mécanisme, réduisent la fréquence du rythme thêta. À l'inverse, les médicaments non anxiolytiques, tels que les sédatifs ou les antipsychotiques n'ont aucun effet sur le rythme thêta (McNaughton et al., 2007). L'effet d'un médicament sur la fréquence du rythme thêta peut aussi servir d'indicateur du potentiel anxiolytique du traitement (Yeung et al., 2012, 2013). En outre, les propriétés du rythme thêta dans l'HPv sont modulées lors de comportements anxieux. Par exemple, la puissance du rythme thêta augmente dans un environnement anxiogène comme un EPM ou un labyrinthe ouvert. Cet effet n'est pas reproduit dans un environnement familier (Adhikari et al., 2010).

1.3.5.1 Couplage de l'HPv, le mPFC et la BLA

Lors de tests d'anxiété, comme l'EPM et l'OF, la puissance du rythme thêta dans le mPFC est augmentée et est corrélée au niveau d'anxiété des souris. Le rythme thêta du mPFC est aussi plus fortement synchronisé avec les oscillations de l'HPv dans ces labyrinthes aversifs, comparativement à un environnement familier (Adhikari et al., 2010). L'inhibition des projections de l'HPv vers le mPFC réduit les comportements anxieux et la synchronie du rythme thêta dans un environnement anxiogène (Padilla-Coreano et al., 2016). La perturbation du rythme thêta de l'HPv, et non l'HPd, par blocage pharmacologique des jonctions lacunaires diminue les comportements anxieux dans des environnements aversifs. Par ailleurs, la désynchronisation de la cohérence entre le mPFC et l'HPv par l'administration unilatérale de bloqueurs de jonctions lacunaires dans le vHP et le mPFC controlatéral réduit l'activité thêta dans ces deux régions, ainsi que les comportements anxieux (Schoenfeld et al., 2014). Inversement, l'activation des projections de l'HPv vers le mPFC à une fréquence de 8 Hz spécifiquement, entraîne une synchronisation accrue du rythme thêta qui est corrélée à une augmentation des comportements d'évitement (Padilla-Coreano et al., 2019). Chez les souris knock-out pour le récepteur 5-HT1A, modèle

génétique d'anxiété, la cohérence thêta entre l'HPv et le mPFC est plus grande (Adhikari et al., 2010). Dans le mPFC, certains neurones encodent spécifiquement les bras ouverts ou fermés de l'EPM. Ces neurones spécifiques à la tâche ont une synchronisation accrue avec le rythme thêta provenant de l'HPv, suggérant que l'HPv facilite la représentation des éléments d'un environnement aversif dans le mPFC (Adhikari et al., 2011). La synchronisation entre l'hippocampe et l'amygdale pourrait aussi influencer les comportements anxieux. Suite à un conditionnement de peur, la corrélation de l'activité thêta entre la BLA et l'HPv augmente, principalement lors de la réexposition au signal sonore et lors des comportements de gel (Seidenbecher et al., 2003). Pendant l'extinction de ce conditionnement, les périodes de gel spontané sont associées à la synchronisation des rythmes thêta entre le mPFC, l'HPv et la BLA (Lesting et al., 2013). Ainsi, l'HPv semble être importante pour la transmission de signaux anxiogènes au mPFC et BLA et la connectivité des projections de l'HPv au mPFC et à la BLA est impliquée dans la modulation des comportements d'anxiété.

À l'inverse, les rythmes thêta du mPFC semblent envoyer un signal de sécurité à la BLA. La synchronisation accrue entre les rythmes thêta de la BLA et du mPFC, entraînée par le mPFC, est observée lorsque l'animal est dans une zone sécuritaire et cette cohérence est corrélée à une augmentation des comportements d'aversion (Likhtik et al., 2014). Par ailleurs, la direction et la cohérence du rythme thêta entre l'HPv, le mPFC et la BLA varie selon l'interprétation du contexte. Par exemple, suite à une extinction réussie de l'apprentissage de peur, les décharges du mPFC précèdent les oscillations de l'HPv et de la BLA, suggérant que le mPFC dirige désormais le rythme thêta (Lesting et al., 2013). Inversement, lors de la période d'extinction, des pulses de stimulation à la fréquence du rythme thêta ont été appliqués à l'HPv et la BLA dans le but de reproduire le couplage HPv-BLA lors du conditionnement et empêcher l'activité du mPFC de précéder leurs oscillations. Ces stimulations ont augmenté les comportements de gel et altéré le processus d'extinction de l'apprentissage (Lesting et al., 2011). Ainsi, le rythme thêta au sein du circuit vHP-mPFC-BLA est impliqué dans la régulation des comportements anxieux et contribue à l'intégration des signaux de menace ou de sécurité dans notre environnement.

1.4 Différences mâles et femelles

Plusieurs phénomènes neurobiologiques sont influencés par le sexe. Dans le cadre de la recherche, tenir compte du sexe en tant que variable biologique est essentiel pour mieux comprendre le cerveau sain et malade. Malheureusement, la prédominance du sexe masculin a caractérisé la recherche en neurosciences fondamentale et clinique pendant des décennies, excluant les femmes et les femelles (Beery & Zucker, 2011; A. M. Kim et al., 2010; Woodruff, 2014; Zucker & Beery, 2010). Pourtant, identifier les similitudes et les différences entre les sexes permettra une meilleure réplique et généralisation des résultats obtenus en recherche.

En outre, le sexe représente un facteur de risque significatif pour la majorité des maladies neuropsychiatriques et neurologiques en influençant leur prévalence, la sévérité des symptômes, la progression de la maladie, ainsi que les réponses aux traitements (Figure 4) (Lee, 2018; McCarthy, 2016). Par exemple, la prévalence des troubles affectifs comme la dépression, le trouble de stress-post-traumatique et les troubles anxieux est jusqu'à deux fois plus importante chez les femmes que chez les hommes (Altemus, 2006; Breslau, 2009; Kilpatrick et al., 2003).

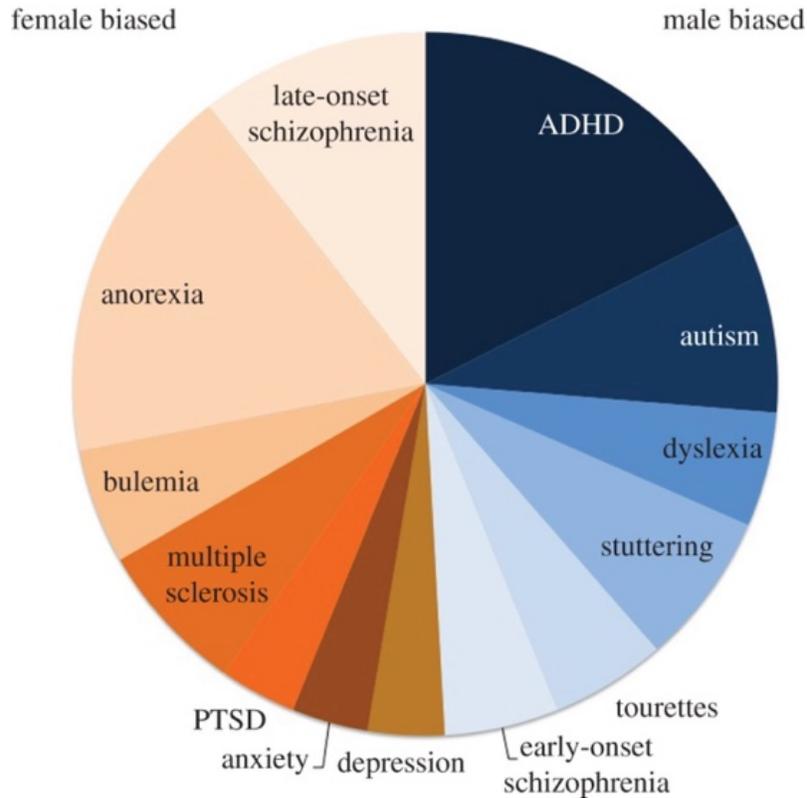


Figure 4. Représentation des différents biais sexuels dans plusieurs maladies neuropsychiatriques ou neurologiques. Ce schéma illustre seulement quelques-unes des maladies qui présentent des disparités de fréquence entre les hommes et les femmes. La taille de la section d'une maladie indique le biais relatif de la prévalence chez les femmes (à gauche) ou chez les hommes (à droite). ADHD, trouble déficitaire de l'attention avec hyperactivité; PTSD, trouble de stress post-traumatique. Modifiée de (McCarthy, 2016).

1.4.1 Hormones sexuelles

Les hormones sexuelles exercent des effets pléiotropiques variés sur le cerveau et entraînent des différences entre les sexes au niveau cellulaire, structurel, fonctionnel et cognitif. Les hormones masculines, présentes en plus grande concentration chez les hommes, sont les androgènes, surtout la testostérone, alors que les hormones féminines sont les estrogènes et la progestérone (Delchev et al., 2017). De la puberté à la ménopause, les niveaux d'hormones ovariennes varient selon le cycle menstruel chez la femme et le cycle œstral chez les souris femelles (Figure 5). Ces fluctuations hormonales influenceraient la morphologie, la structure, les fonctions et la neurochimie du cerveau, et seraient un facteur de risque potentiel pour certains troubles affectifs tels que la dépression et les troubles anxieux (Kundakovic & Rocks, 2022).

Les différences de résultats dues aux cycles ovariens constituent une des raisons pour lesquelles les femmes et les animaux femelles ont été traditionnellement écartées des études scientifiques. Ceci est dû à la complexité accrue dans l'interprétation des résultats ou au besoin d'un plus grand nombre de sujets femelles pour obtenir des données fiables (Wald & Wu, 2010). Cependant, malgré le fait que les hommes et les animaux mâles possèdent aussi des hormones agissant en tant que neuromodulateurs, cela ne suscite pas les mêmes préoccupations quant à la validité des résultats (Shansky, 2019). La variabilité circadienne de la température corporelle et de la locomotion des souris mâles est plus marquée que celle des femelles (Smarr et al., 2017). En outre, des méta-analyses d'études en neurosciences sur les rongeurs ont révélé que, même sans tenir compte du cycle œstral chez les femelles, les fluctuations de diverses mesures telles que les paramètres physiologiques, hormonaux ou comportementaux variaient autant chez les mâles que chez les femelles. Dans certains cas, ces variations étaient même plus prononcées chez les mâles (Becker et al., 2016; Kaluve et al., 2022; Prendergast et al., 2014). Par exemple, la situation

d'hébergement, en groupe ou seuls, des souris mâles et femelles, est un facteur entraînant de la variabilité, avec une spécificité chez les mâles en groupe qui forment une hiérarchie de dominance. Cette hiérarchie affecte les niveaux de testostérone, qui sont cinq fois plus élevés chez les mâles dominants comparés aux subordonnés, ce qui pourrait expliquer la variabilité des données chez les mâles (Machida et al., 1981). En somme, les hormones sexuelles, tant féminines que masculines, constituent des facteurs essentiels et influents dans la compréhension et l'explication des diverses différences entre les sexes.

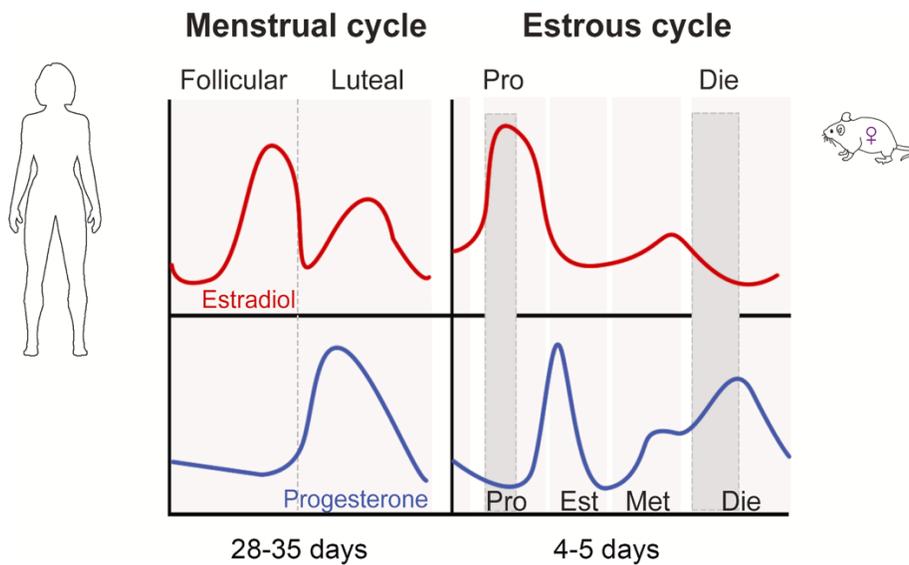


Figure 5. Variation des hormones ovariennes lors du cycle menstruel de la femme et le cycle œstral de la souris femelle. Le cycle menstruel est composé de deux phases : folliculaire et lutéale. Le cycle œstral possède 4 phases : Pro, proestrus; Est, estrus; Met, métoestrus et Die, diestrus. Modifié de (Kundakovic & Rocks, 2022).

1.4.2 Dimorphisme sexuel en anxiété

Tel que mentionné précédemment, les troubles anxieux sont plus fréquents chez les femmes que chez les hommes (Craske & Stein, 2016; Kessler et al., 2005, 2010). Bien que les différences entre les sexes dans les troubles anxieux puissent être attribuées à divers facteurs psychosociaux, culturels ou socio-économiques (Bekker & van Mens-Verhulst, 2007), plusieurs facteurs biologiques sont aussi impliqués. Par exemple, les différences entre les sexes pourraient être influencées par les fluctuations hormonales, tels que les hormones sexuelles. Par exemple, des

femmes souffrant de troubles anxieux ont tendance à avoir une amplification de leurs symptômes pendant la phase prémenstruelle de leur cycle (Sigmon et al., 2004; Van Veen et al., 2009). Lors d'une tâche de stress, les femmes ayant des niveaux estradiol, une forme d'œstrogène, plus élevés ont mieux performé en montrant moins de détresse que les femmes ayant des niveaux plus faibles d'estradiol (Albert et al., 2015). Chez les rongeurs, une baisse des niveaux d'œstrogène pendant la phase diestrus de leur cycle est associée à une diminution des comportements d'anxiété (Jaric et al., 2019; Mora et al., 1996).

La corticostérone et l'hormone adrénocorticotrophique (ACTH), sont des hormones de stress, qui pourraient aussi être impliquée dans le dimorphisme sexuel observé dans les troubles anxieux. Par exemple, chez les rongeurs, les femelles semblent avoir une concentration basale de corticostérone plus élevée que chez les mâles (Luo et al., 2013). Suite à des paradigmes d'anxiété ou de stress, les femelles ont aussi des augmentations plus importantes des taux d'ACTH et de corticostérone que les mâles (Duchesne et al., 2009; Wilson et al., 2004). Les comportements anxieux chez les mâles seraient plutôt médiés par des hormones peptidiques comme l'arginine vasopressine ou l'ocytocine (Bredewold et al., 2014; K. Li et al., 2016). Par conséquent, les hormones semblent sous-tendre les différences entre les sexes dans les comportements anxieux.

1.4.2.1 Raphé

Les hormones sexuelles féminine sont impliquées dans la modulation du système sérotoninergique, en influençant notamment la synthèse, la libération et la recapture de la 5-HT (T. G. C. S. Andrade et al., 2005). Les récepteurs pour l'œstrogène (alpha et bêta) ainsi que le récepteur de la progestérone sont présents dans différentes sous-divisions du raphé (S. E. Alves et al., 1998, 2000; Leranth et al., 1999; Nomura et al., 2005; P. Shughrue et al., 1997; P. J. Shughrue et al., 1999). En outre, l'administration d'œstrogène réduirait les comportements anxieux en activant les récepteurs 5-HT_{1A} dans le raphé médian chez des rats femelles (T. G. C. S. Andrade et al., 2005, 2009). Ces rats auraient d'ailleurs moins de comportements de gel suite à un conditionnement à la peur suite à l'administration d'estradiol dans le MnR, cet effet est inversé par l'ajout d'un agoniste aux récepteurs 5-HT_{1A} (T. G. C. S. de Andrade et al., 2017; T. G. C. S. Andrade et al., 2009). Ce dimorphisme sexuel dans le MnR pourrait expliquer les différences observées dans le comportement anxieux.

1.4.2.2 Hippocampe

L'hippocampe est aussi une région qui présente un dimorphisme sexuel dans la modulation des comportements anxieux. L'hippocampe, ainsi que l'amygdale et le PFC, sont des régions qui contiennent une forte concentration de récepteurs pour l'œstrogène, la progestérone et les androgènes (J. Cui et al., 2013; Guerra-Araiza et al., 2002; Simerly et al., 1990). Des études ont montré que dans l'hippocampe, des aspects cruciaux tels que la densité dendritique, la plasticité synaptique et la neurogénèse dans le gyrus dentelé sont sensibles aux fluctuations d'œstrogène liées au cycle œstral (Jaric et al., 2019; Koss & Frick, 2017; Tanapat et al., 1999; Warren et al., 1995; Woolley et al., 1990; Woolley & McEwen, 1992). Chez les rongeurs exposés à un stress chronique, la complexité dendritique et la densité dendritique est aussi réduite dans l'hippocampe (Duman & Duman, 2015). Parallèlement, chez les femmes, le volume de l'hippocampe fluctue au cours des différentes phases du cycle menstruel (Lisofsky et al., 2015), et la connectivité fonctionnelle avec entre l'HP et le PFC est également affectée (Arélin et al., 2015). Chez les rongeurs, la synchronie du rythme thêta entre le mPFC et l'HPv varie selon le sexe, avec une synchronie plus élevée chez les mâles. Cette synchronie est aussi modulée par les différentes phases du cycle œstral de la femelle (Schoepfer et al., 2020). En outre, l'administration d'estradiol dans le MnR altère l'innervation dans l'hippocampe (Prange-Kiel et al., 2004) et l'expression des gènes sérotoninergiques dans l'HPv fluctue en fonction du cycle œstral (Jaric et al., 2019). Ces découvertes suggèrent que l'hippocampe, potentiellement influencé par ses afférences sérotoninergiques, pourrait être impliqué dans les différences sexuelles observées dans les comportements anxieux.

2 Objectifs et hypothèses

Cette vaste littérature suggère que les neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv pourraient sous-tendre les différences sexuelles observées dans les comportements anxieux. Par ailleurs, des résultats préliminaires obtenus par notre laboratoire montrent que l'activation optogénétique des neurones 5-HT du raphé qui projettent à l'HPv influence le niveau d'anxiété des souris femelles, mais pas des mâles. En se basant sur ces résultats, l'objectif de mon projet de recherche est la réplication de ces résultats, en particulier l'effet de l'activation de la projection sérotoninergique raphé-HPv sur les comportements anxieux chez les femelles, tout en identifiant les causes sous-possibles de ce dimorphisme sexuel. À cette fin, j'analyserai l'expression du marqueur d'activation c-Fos après un test d'anxiété, avec ou sans activation optogénétique de la voie 5-HT raphé-HPv.

Notre hypothèse est qu'il existe une différence mâle-femelle dans l'excitabilité des neurones 5-HT projetant à l'HPv, avec une sollicitation plus importante des neurones 5-HT du raphé chez les femelles. Les résultats de cette étude fourniront une compréhension plus approfondie de l'expression de c-fos dans les neurones 5-HT projetant vers l'HPv sous conditions basales chez les mâles et les femelles, et permettront de mettre en lumière les différences de l'expression de c-fos suite à une activation optogénétique des neurones 5-HT raphé-HPv en fonction du sexe.

3 Matériel et méthodes

3.1 Modèle animal

Toutes les procédures effectuées ont été préalablement approuvées par le Comité Institutionnel de Bonnes Pratiques Animales en Recherche (CIBPAR) du Centre de Recherche du CHU de Sainte-Justine, selon les normes du Conseil Canadien de Protection des Animaux. Les souris utilisées provenaient de la lignée B6.FVB(Cg)-Tg(Slc6a4-cre)ET33Gsat/Mmucd (MMRC, #031028-UCD ; fond génétique C57BL/6J), qui est communément appelée la lignée Sert-CRE. Les souris transgéniques Sert-CRE sont issues de l'insertion sélective de la CRE-recombinase via un BAC (*Bacterial Artificial Chromosome*) sous le promoteur du transporteur de sérotonine SERT (gène *Slc6a4*) (Gong et al., 2007). Pour le maintien d'une expression hémizygote dans la lignée, les souris Sert-CRE ont été croisées avec des souris contrôles de souche C57BL/6J (Jackson Laboratory, #000664). Le génotypage des souris fut vérifié grâce à une PCR (*Polymerase Chain Reaction*) et les souris qui ne possédaient pas le transgène ont été utilisées comme partenaire de cage. Les souris mâles et femelles étaient âgées entre 60 à 90 jours au début des expérimentations et étaient hébergées dans des cages de 2 à 3 souris. Les souris ont eu un accès *ad libitum* à de l'eau et de la nourriture. La salle d'hébergement suivait un cycle lumière/obscurité de 12h :12h (7h30 :19h30) et était régulée à une température de 24 °C.

3.2 Injections virales

Les souris ont été anesthésiées en administrant par voie respiratoire de l'oxygène à une vitesse de 2L/min et de l'isoflurane à 5% (CDMV). L'anesthésie a ensuite été maintenue en gardant le niveau d'isoflurane à 1-1,5%. Les souris ont été placées sur un appareil stéréotaxique à affichage numérique (Kopf) avant d'être analgésifiées par injection sous-cutanée de 0,1-0,15 ml de carprofène (*Rimadyl* ; CDMV). La température corporelle des souris est maintenue de manière constante à 37°C grâce à un block chauffant (Stoelting). Une incision a été effectuée sur leur tête, puis des trous dans le crâne ont été faits aux coordonnées d'injections (voir détails plus loin) grâce à une perceuse (Stoelting).

Les souris ont reçu des injections intra-cérébrales d'un vecteur viral (AAV) rétrograde dépendant de l'enzyme CRE-recombinase, soit l'AAV2/9-EF1a-DIO-hChR2(E123T/T159C)-

eYFP (2.8×10^{13} GC/mL ; Addgene, #35509-AAV9). Les injections ont été faites bilatéralement dans l'HPv pour avoir une expression spécifique de l'opsine hChR2_{E123T/T159C} (ChETA) (Berndt et al., 2011), une opsine excitatrice qui réagit à la lumière bleue (450 nm), dans les neurones sérotoninergiques qui projettent à l'HPv.

Le groupe de souris témoins a reçu des injections aux mêmes sites (voir les détails plus loin), mais le vecteur viral n'incluait pas l'opsine. La construction de l'AAV pour le groupe contrôle était simplement : AA2/9-EF1a-DIO-eYFP (2.2×10^{13} GC/mL; Addgene, #27056-AAV9). L'expression du virus contrôle est tout de même CRE-dépendante et les neurones transfectés vont exprimer la protéine fluorescente eYFP.

Toutes les souris ont reçu deux injections bilatérales dans les HPv aux coordonnées suivantes : -3,52 antéro-postérieur (AP), +/-3,25 médio-latéral (ML) et -4,17; -3,47 dorso-ventral (DV) par rapport à Bregma (mm) (Paxinos & Franklin, 2012). Pour ce faire, une pipette de micro-injection (Nanoject III, Drummond Scientific) est chargée d'un capillaire en verre étiré (grâce au Flaming/Brown Micropipette puller, model P-1000) rempli d'huile minérale. La quantité nécessaire de virus est alors chargée dans le capillaire et la micropipette est descendue aux coordonnées d'injection. Le virus a été injecté à un débit de 1 nL/s. À chaque site d'injection, 400 nL de virus a été injecté pour un total de 1600 nL par souris. À la fin de la chirurgie, une seconde dose de 1-1,5 mL de carprofène a été donnée aux souris. Les souris sont monitorées pendant au moins 3 jours post-chirurgie. Une période d'attente de 5 semaines a été allouée avant le début des tests comportementaux pour permettre une bonne expression virale dans les neurones transfectés (Mattis et al., 2012).

3.3 Préparation et implantations des fibres optiques

Des implants de fibre optiques personnalisés ont été fabriqués en utilisant des segments de fibre optique de 250 µm de diamètre (Thorlabs, #FG200UEA). Ces segments sont dénudés de leur revêtement et coupés à une longueur de 12-13 mm, avant d'être insérés dans une ferrule de céramique noire (Neurophotometrics) pour éviter les pertes lumineuses. Finalement, l'efficacité de chaque implant a été testée et toutes les fibres optiques ayant une perte lumineuse supérieure à 30% ont été automatiquement retirées.

Les implantations ont lieu 3 semaines après les injections virales. Les souris ont été anesthésiées et analgésifiées en suivant le même protocole que pour les chirurgies d'injections, et le même équipement chirurgical a été utilisé. Une fois la peau coupée, le crâne fut rayé pour permettre une meilleure adhésion de l'implant et fut nettoyé à l'éthanol 100% (VWR). Pour permettre l'installation de micro-vis d'ancrage (1/16 pouce de diamètre ; Antrine Miniature Screws) qui aide au support et à la stabilité de l'implant, des petits trous ont été effectués aux coordonnées d'implantations des vis (voir Tableau 1) grâce à la perceuse. Une craniotomie supplémentaire un peu plus large (jusqu'à environ -4,15 AP, -0,75 ML) a été effectuée aux coordonnées de la fibre optique (voir Tableau 1) pour permettre sa descente en angle. Une fois les vis et la fibre optique placées, l'implant est fixé au crâne grâce à du ciment de scellement dentaire (C&B-Metabond ; Patterson Dental) et est stabilisé avec de l'acrylique rose et noire (Patterson Dental). Avant leur réveil, les souris ont reçu leur seconde dose de carprofène ainsi qu'une injection sous-cutanée de saline (Chlorure de sodium 0,9%; ICU Medical Canada) pour les réhydrater. Leur récupération a ensuite été monitorée une période minimale de 72h pour éviter les inconforts et les complications post-chirurgies.

| | Distance AP de Bregma (mm) | Distance ML de Bregma (mm) | Distance DV de Bregma (mm) | Angle (°) sur l'axe ML |
|----------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| Fibre optique | -4,35 | -0,55 | -3,23 | 7 |
| Vis #1 | +1,5 | +1,5 | N/A | 0 |
| Vis #2 | -1,0 | -3,15 | N/A | 0 |
| Vis #3 | -5,15 | +1,5 | N/A | 0 |

Tableau 2. Coordonnées d'implantations des vis et de la fibre optique

3.4 Tests comportementaux

Toutes les souris ont eu une période de récupération post-implantation de deux semaines avant de commencer leur période d'habituation pour les tests comportementaux. Les souris se sont fait manipuler environ 10 minutes pendant 5 jours afin de minimiser le stress relié à l'expérimentateur, la salle de comportement ou le branchement de la fibre optique le jour de l'expérience. Les souris ont ensuite passé à travers trois différents paradigmes comportementaux dans l'ordre suivant : Open Field (OF), Elevated Plus Maze (EPM) et Successive Alley (SA). Un intervalle de 48h a été accordé entre chaque test. Il est important de noter qu'environ la moitié des

souris présentées dans la section Résultats ont été manipulées par un autre expérimentateur du sexe opposé (Félix Perreault) en suivant exactement le même protocole.

Le protocole fût le même pour les trois paradigmes. Au moins une heure avant le début des tests, les souris sont amenées dans une salle d'expérimentation isolée du bruit et des variations lumineuses. Les expérimentations se sont déroulées exclusivement entre 9h et 13h pour limiter l'influence du cycle circadien. Les arènes sont nettoyées avec de l'alcool 70% (VWR) entre chaque souris pour éliminer les traces olfactives laissées par les souris précédentes (Hershey et al., 2018; Himanshu et al., 2020; Kraeuter et al., 2019). Par la suite, la fibre optique de la souris est branchée et la souris est isolée dans une cage d'attente 5 minutes avant le début du test comportemental. Tous les tests sont réalisés sur une durée de 12 minutes séparée en trois périodes alternées de 4 minutes (« OFF-ON-OFF ») : pas de stimulation laser (période de pré-stimulation), stimulation laser (stimulation) et pas de stimulation laser (post-stimulation). Lors de la période de stimulation, l'intensité du laser a été réglée à 12-15 mW au bout de l'implant. Le laser (Doric) était de 450 nm et envoyait des pulses carrés de 10 ms à une fréquence de 20 Hz (10 ms ON, 40 ms OFF) (Garcia-Garcia et al., 2018; Zhao et al., 2011).

3.4.1 Open Field

L'Open Field (OF) est un test comportemental utilisé principalement pour évaluer l'activité locomotrice des souris. L'OF est une arène circulaire de 39 cm de diamètre avec une paroi de 30 cm de hauteur où les souris se promènent librement. Le jour du test, l'intensité lumineuse a été mesurée au centre du module pour être réglée à 70 ± 5 lux partout dans l'arène. Les souris sont individuellement déposées au centre de l'arène en faisant face au même mur de la salle de comportement (gauche). L'activité locomotrice a été évaluée en mesurant la distance parcourue, la vitesse de locomotion, le nombre d'épisodes de course, l'accélération, ainsi que les périodes d'immobilité pour chaque période de stimulation (Pré-Stim-Post).

3.4.2 Elevated Plus Maze

Le labyrinthe de croix surélevée (à 80 cm du sol) (EPM) est un paradigme communément utilisé dans la littérature pour évaluer le niveau d'anxiété chez les souris (Lister, 1987; Pellow & File, 1986). L'EPM consiste en une arène opposant deux bras ouverts et deux bras fermés, chacun

d'une longueur de 30 cm de long et d'une largeur de 5 cm. La hauteur des parois des bras fermés est de 19,8 cm comparativement à 0,9 cm dans les bras ouverts. La luminosité a été mesurée dans le centre de l'arène pour obtenir 70 ± 5 lux. La souris est initialement déposée au centre de l'arène en faisant face à un bras fermé. Le niveau d'anxiété de chaque souris a été évalué en mesurant le temps passé dans les bras ouverts et le centre, ainsi qu'en comptant le nombre d'entrées dans les bras ouverts pendant les trois différentes périodes de stimulation (Pré-Stim-Post).

3.4.3 Successive Alleys

Le *Successive Alleys* (SA) est aussi un test pour évaluer le niveau d'anxiété des souris. Le module du SA consiste en une allée linéaire de 1 mètre de long séparée en 4 zones successives allant de la moins aversive (zone 1) à la plus aversive (zone 4) (voir Tableau 2). Dans le test de l'EPM, la zone au centre est difficile à interpréter puisqu'elle peut être incluse avec les bras fermés ou ouverts. Le paradigme du SA a été inspiré de l'EPM en se base aussi sur l'aversion des souris pour les endroits ouverts et éclairés, mais le SA ne contient pas de zone ambiguë (Deacon, 2013). Lors du test, la souris est placée à la délimitation entre la zone 1 et 2 en faisant face à la zone 1. Le niveau d'anxiété des souris a été évalué en mesurant le temps passé dans chaque zone et en comptant le nombre de transitions entre les zones durant les trois périodes de stimulation (Pré-Stim-Post).

| | Longueur (cm) | Largeur (cm) | Hauteur des murs (cm) | Couleur |
|---------------|---------------|--------------|-----------------------|------------|
| Zone 1 | 25 | 8,5 | 25 | Noir |
| Zone 2 | 25 | 8,5 | 5 | Gris foncé |
| Zone 3 | 25 | 3,5 | 0,9 | Gris clair |
| Zone 4 | 25 | 2,3 | 0,2 | Blanc |

Tableau 3. Caractéristiques des zones du SA

3.5 Histologie

Toutes les souris ont été sacrifiées exactement 70 minutes après leur passage dans le SA pour permettre une expression optimale de la protéine *c-fos*, un *immediate early gene* (IEG) marqueur de l'activation des neurones (Lara Aparicio et al., 2022). Les souris ont été anesthésiées par injection intra-péritonéale d'une solution saline (Chlorure de Sodium 0,9% ; ICU Medical

Canada) de Xylazine-Ketamine-Acepromazine (Xylazine 12,5 mg/kg (CDMV) + Ketamine 80 mg/kg (CDMV) + Acepromazine 2,5 mg/kg (CDMV)) à 20 mL/kg, avant d'être sacrifiées par perfusion intracardiaque de paraformaldéhyde (Sigma) 4% dans du PBS 1X. Les cerveaux extraits ont ensuite été baignés dans la même solution de paraformaldéhyde 4% dans du PBS pendant 48h à 4°C. Les cerveaux fixés ont été coupés en tranches coronales de 40µm au vibratome (Leica BioSystems, modèle VT1200). Les coupes de cerveaux ont été conservées dans des puits contenant une solution de 0,02% azide et de PBS 1X.

Un triple marquage immunohistochimique a été effectué pour marquer les neurones qui exprime du c-Fos, de la Tph2 et/ou de la eYFP, couplée ou non à l'opsine ChETA. Pour ce faire, les coupes de cerveaux ont été rincées dans une solution de PGT (0,45% de gélatine (Sigma) et 0,25% de Triton X-100 (Sigma) dans du PBS 1X) pendant 3x45 minutes. Les tranches ont ensuite été incubées dans une solution d'anticorps primaires pendant 2h à température ambiante sous légère agitation, puis pendant 48h à 4 °C. La solution d'anticorps primaire contenait de l'Anti-cFos chez le lapin (1 :2000; Cell Signalling, #2250), de l'Anti-Tph2 chez le cochon d'inde (1 :1000; Frontier Institute, #TPH2-GP-Af900) et de l'Anti-GFP chez le poulet (1 :2000; Invitrogen, #A10262) dans le PGT. Les coupes ont été rincées dans du PGT pour 3 rinçages de 45, 30 et 15 minutes, avant d'être incubés dans la solution d'anticorps secondaire pour 2h à température ambiante sous légère agitation. La solution d'anticorps secondaire contenait de l'Anti-lapin A555 (1 :2000; Life Technologies, #A31572), de l'Anti-poulet A488 (1 :2000; Jackson Immunoresearch, #703-545-155) et de l'Anti-GP A647 (1 :2000; ThermoFisher, #A21450) dans du PGT. Les sections ont été lavées 3x5 minutes dans la solution de PBS 1X, puis montées sur des lames en utilisant le milieu de montage Fluoromount-G (ThermoFisher) contenant le marqueur de noyaux cellulaires DAPI. Les lames ont finalement été conservées à 4 °C. Toutes les images ont été capturées avec un microscope à fluorescence inversé de champ large Leica DMI8, équipé d'une caméra Leica DFC9000, en utilisant le logiciel d'acquisition d'image LasX (Leica). Les images ont été acquises avec un objectif de 20X et en faisant des « z-stacks » (saut de 2µm). Les validations de l'emplacement de la fibre optique et de l'expression virale ont été effectuées systématiquement pour l'ensemble des souris.

3.6 Analyses

3.6.1 Tracking

Les vidéos des tests comportementaux et leur horodatage associé ont été enregistrées à ~30 images par seconde à l'aide d'une caméra et du logiciel *Imetronic*. La position de la souris a été suivie à l'aide d'un modèle DeepLabCut (version 2.3rc3). DeepLabCut est un outil disponible en « open source », basé sur un réseau neuronal de 50 couches (ResNet-50), utilisé pour détecter et suivre des points d'intérêt anatomiques dans des vidéos, facilitant ainsi l'analyse du comportement des souris à partir de données visuelles (Mathis et al., 2018; Nath et al., 2019). Deux modèles ont été entraînés pour suivre le positionnement de la souris dans les paradigmes comportementaux : un pour l'OF et l'EPM (modèle DLC_{OF+EPM}), ainsi qu'un spécifiquement pour le SA (DLC_{SA}). Il est important de mentionner que les modèles ont été entraînés par un autre membre du laboratoire. Dans les deux modèles, neuf parties du corps ont été étiquetées soient : l'oreille gauche, l'oreille droite, le nez, l'implant sur la tête, le centre du corps, l'arrière-train, la base de la queue, la patte arrière gauche et droite. Le modèle DLC_{OF+EPM} a été entraîné à partir de 1340 trames tirées de 67 vidéos (20 trames/vidéo) de 15 animaux différents (des deux sexes confondus). Le modèle DLC_{SA} a été entraîné en utilisant 360 trames tirées de 18 vidéos, chacune provenant d'un animal différent. L'entraînement des deux modèles ont été réalisé sur 1 000 000 itérations, permettant au réseau de généraliser efficacement la reconnaissance des parties du corps d'intérêts des souris.

Les positions extraites ont été soumises à un double filtre basé sur leur réalisme et le seuil de confiance qui leur était associé. En d'autres termes, si les positions se situaient en dehors des limites des arènes (OF, EPM, SA) ou si leur indice de confiance de détection, évalué par DeepLabCut, était inférieur à un seuil (positions des pattes postérieures $< 0,7$, toutes les autres positions $< 0,95$), elles ont été identifiées comme indéfinies (NaN). Pour remédier au problème des données manquantes résultant de ces corrections, toutes les lacunes de données < 1 seconde ont été interpolées. Le centre de la tête a été identifié sur chaque trame en utilisant le point médian entre les positions des oreilles gauche et droite. Les vecteurs de positions x et y pour chaque partie du corps ont été alignés avec les horodatages associés. En outre, afin d'éviter une surestimation de la distance parcourue par les souris, tout tremblement ou instabilité dans le suivi, défini comme un

mouvement d'une trame à l'autre de $<0,25$ cm/s, a été éliminé. Toutes ces analyses ont été effectuées sur Matlab (version R2022b).

3.6.2 Locomotion

La distance parcourue a été calculée en pixels, en faisant la distance Euclidienne entre deux trames consécutives. Ensuite, les extrémités de chaque arène, marquées manuellement par l'expérimentateur, et les dimensions théoriques des arènes ont été utilisées comme échelle pour obtenir distance parcourue en cm. La vitesse a été extraite en calculant la distance parcourue sur une période donnée ($v = \Delta d / \Delta t$, où d est la distance et t est le temps). Toutes les vitesses supérieures à 50 cm/s ont été exclues pour calculer la vitesse moyenne. Le temps total de déplacement ou de course a été calculé en utilisant une valeur seuil prédéfinie de >10 cm/s. Le temps total d'immobilité était défini comme l'inverse avec un seuil pour les déplacements <2 cm/s. Le nombre de périodes de course a été déterminé en trouvant toutes les trames où la vitesse était >10 cm/s, et ce pendant plus de 30 trames consécutives (1 seconde). Finalement, l'accélération a été calculée en faisant la dérivée discrète de la vitesse lissée (filtre Gaussien sur des périodes d'une seconde). Toutes ces variables ont été calculées et séparées par période (Pré-Stim-Post) et par ROI (seulement pour l'EPM et le SA).

3.6.3 Comportement d'anxiété

Pour le SA et l'EPM, les différentes zones (ROIs) ont été identifiées et délimitées manuellement. Le temps passé dans chaque ROI par période (Pré-Stim-Post) a été analysé en comptabilisant le nombre de trames que la souris passe dans chaque ROI prédéfini en utilisant les vecteurs de positions du centre du corps (Temps passé dans ROI = Nombre de trames dans ROI/30Hz (Fréquence d'enregistrement)). Pour l'EPM le temps passé dans les bras ouverts et le centre, ainsi que le temps passé dans les bras fermés ont été mesurés. Le temps passé dans chaque zone du SA a été utilisé pour créer un score d'anxiété (« Anxiety score ») variant entre 0 et 1. Cet indice d'anxiété est défini par la formule suivante : Anxiety score = % temps passé dans la zone 1*1 + % temps zone 2*0,66 + % temps zone 3*0,33 + % temps zone 4*0. Les souris qui passent plus de temps dans les zones moins aversives (zone 1) auront un score d'anxiété près de 1, alors que les souris passant plus de temps dans les zones aversives (zone 4) auront un indice qui tend

vers 0. Le nombre d'entrées et de transitions dans les ROIs ont aussi été comptabilisés, en excluant les moments d'hésitations, définis comme les entrées d'une durée <400 ms.

Le comptage des comportements éthologiques des souris a été réalisée à l'aide d'un code personnalisé développé en Matlab. Ce code a permis de marquer différents comportements observés dans les vidéos enregistrées, en les comparant au temps de la vidéo pour obtenir une chronologie précise de chaque comportement identifié. De plus, les moments de début et de fin des comportements de toilettage ont été notés, permettant ainsi le calcul de la durée totale des séances de toilettage pour chaque sujet étudié. Les comportements comptés étaient les suivants : les toilettages (« groomings »), les redressements (« rearings »), les étirements (« stretchings ») et les plongées de tête (« head-dips »). Les plongées de tête se réfèrent aux moments où la souris baisse sa tête pour regarder en bas du module de comportement. Chez les rongeurs, des variations dans la fréquence des toilettages peuvent indiquer une fluctuation de stress ou d'anxiété (Kalueff & Tuohimaa, 2004, 2005). Par ailleurs, des changements dans la fréquence des redressements, des étirements ou des plongées de tête sont associés au comportement exploratoire de la souris dans un nouvel environnement (De Jesús-Burgos et al., 2012; Rodgers & Cole, 1993; Walf & Frye, 2007). Si ces comportements sont observés de manière excessive, ils pourraient également être interprétés comme des signes d'une hausse d'anxiété chez les souris.

3.6.4 Comptage neuronal

Les quantifications des neurones ont été effectuées manuellement grâce au logiciel FIJI (ImageJ, version 2.14.0). Le marquage Tph2 a été utilisé pour se localiser et délimiter les différents noyaux du raphé (Hale & Lowry, 2011; Paxinos & Franklin, 2012). Le comptage des neurones a été effectué sur le tiers des coupes de cerveaux, à intervalle régulier de 120 μm .

3.6.5 Statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel *Prism* (GraphPad Prism, version 10.0.3). Les tests statistiques utilisés seront spécifiés pour chaque figure dans la section Résultats. Le seuil pour qu'un résultat soit considéré significatif est $p < 0,05$.

4 Résultats

4.2 Activation des neurones sérotoninergiques du raphé qui projettent à l'HPv

L'utilisation d'un modèle de souris SERT-Cre, caractérisé par l'expression de l'enzyme CRE-recombinase dans les neurones sérotoninergiques, conjointement avec l'injection d'un virus rétrograde CRE-dépendant dans l'HPv (Figure 6A, B), permet une expression spécifique de l'opsine ChETA dans les neurones 5-HT projetant vers l'HPv. Les souris SERT-Cre permettent d'exprimer la construction génique de notre vecteur sous contrôle du promoteur de la protéine SERT, le transporteur de la sérotonine, ce qui permet de cibler de manière sélective les neurones 5-HT. Une immunohistochimie réalisée sur tout l'axe antéro-postérieur du raphé d'un animal injecté révèle la localisation de l'opsine ChETA, visualisée par son couplage avec le marqueur fluorescent eYFP (Figure 6C). Les neurones transfectés par le virus sont majoritairement 5-HT, comme le confirme la co-expression le marqueur sérotoninergique TpH2 (tryptophane hydroxylase 2), une enzyme clé dans la synthèse de sérotonine, dans les corps cellulaires (Figure 6C). Conforme à la littérature, l'expression virale prédomine dans les sous-régions du B9, du MnR et le DRI (Muzerelle et al., 2016). Il est d'ailleurs important de mentionner que la spécificité du virus a préalablement été vérifiée par un autre membre de notre laboratoire. Ces résultats, publiés dans le mémoire de Félix Perreault, montrent que seulement 0,21% des neurones exprimant la protéine fluorescente eYFP ne sont pas sérotoninergiques et que la distribution des neurones marqués est similaire entre les sexes.

Toutes les souris ont été implantées au-dessus du raphé, à des coordonnées identiques (Figure 6D). Une vérification systématique de l'emplacement des fibres optiques a été réalisée pour l'ensemble des souris. Le positionnement incorrect de l'implant aurait été un critère d'exclusion, mais heureusement, aucune souris n'a été exclue. Malgré des emplacements légèrement plus antérieurs des implants chez les souris Sert-951, 1151 et 1157 par rapport aux autres, aucune divergence comportementale n'a été observée par rapport aux autres souris du même groupe, justifiant ainsi leur maintien dans l'étude. Par ailleurs, la distribution des positions des fibres optiques ne présente pas de différences en fonction du groupe (ChETA et eYFP) ou du sexe (femelles et mâles) (Figure 6E). Ainsi, notre stratégie nous permet d'activer de manière spécifique les neurones sérotoninergiques du raphé projetant vers l'HPv.

A

AAV2/9-EF1a-DIO-hChr2(E123T/T159C)-eYFP (groupe ChETA)
 AAV2/9-EF1a-DIO-eYFP (groupe eYFP)

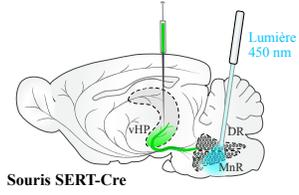
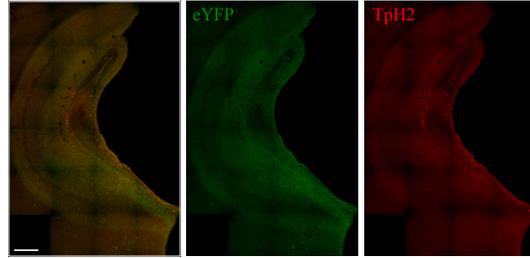
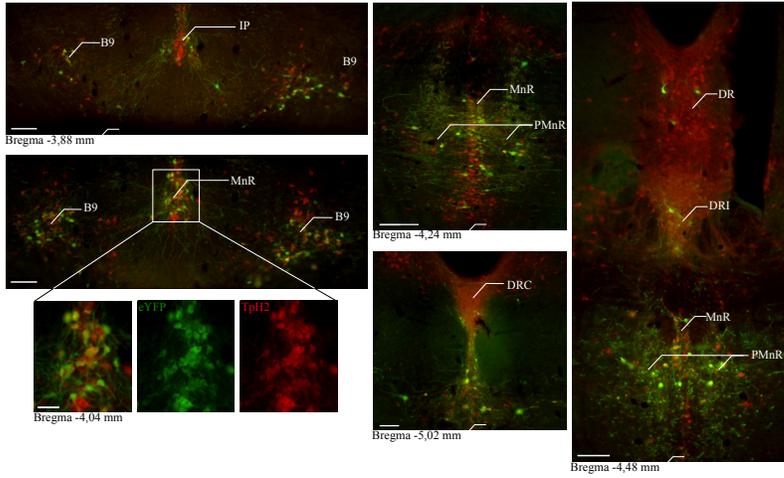
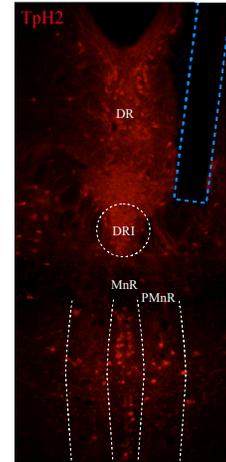
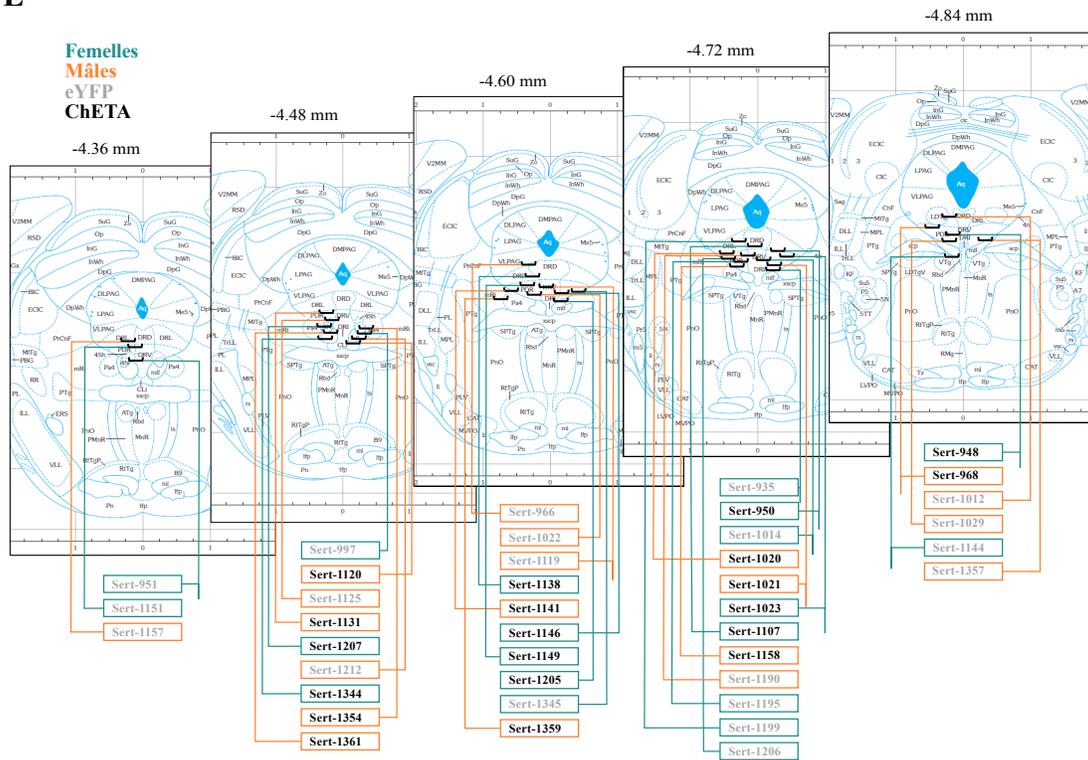
**B****C****D****E**

Figure 6. Expression sélective de l'opsine et de la protéine fluorescente dans les neurones 5-HT de l'HPv avec confirmation de la localisation des fibres optiques. (A) Schéma de l'injection virale rétrograde dans l'HPv et de l'implantation d'une fibre optique dans le raphé d'une souris SERT-Cre. (B) Exemple de fibres 5-HT (TpH2, rouge) sur une coupe coronale de l'HPv d'une souris eYFP, montrant l'expression virale (eYFP, vert). Barre d'échelle = 500 μ m. (C) Exemple d'expression virale dans des coupes coronales de plusieurs sous-régions du raphé et de corps cellulaire coexprimant le marqueur sérotoninergiques (TpH2) et la protéine fluorescente (eYFP). Barre d'échelle = 200 μ m pour les images des sous-régions du raphé, sauf pour celle du DRC, barre d'échelle = 50 μ m. Barre d'échelle = 20 μ m pour l'image de grossissement des corps cellulaires dans le MnR. (D) Exemple de l'emplacement d'une fibre optique sur une coupe coronale de raphé. (E) Schéma de l'emplacement de toutes les fibres optiques pour les groupes mâles (orange; n = 10 ChETA (écriture noire), n = 10 eYFP (écriture grise)) et femelles (turquoise; n = 10 ChETA, n = 10 eYFP).

4.2 Effet de l'activation des neurones sérotoninergiques raphé-HPv sur l'anxiété selon le sexe

Les neurones 5-HT du raphé projetant à l'HPv ont été activés par optogénétique lors d'un test d'exploration ouvert (OF) pour évaluer l'activité locomotrice des souris. Par la suite, les souris ont été soumises à deux tests d'anxiété soient l'EPM et le SA. Les neurones 5-HT du MnR projetant à l'HPv semblent être bien positionné pour influencer les comportements anxieux chez les rongeurs (Ohmura et al., 2020). Les résultats des comportements d'aversion seront présentés pour le paradigme de l'EPM (Figure 7), ainsi que du SA (Figure 8). Tous les tests ont suivi le même protocole de stimulations de 4 périodes alternées « OFF-ON-OFF ». La stimulation se caractérisait par des impulsions de 10 ms à une fréquence de 20 Hz, avec une longueur d'onde de 450 nm, optimale pour l'activation de l'opsine excitatrice ChETA (Figure 7A, 8A).

4.2.1 Augmentation des comportements d'aversion dans le paradigme de l'EPM chez les femelles

Durant l'épreuve de l'EPM, la mesure du temps passé dans les bras ouverts et au centre, des zones considérées comme plus aversives, a été effectuée sur les trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » (Figure 7A, B). En comparaison avec la période précédant la stimulation, les souris femelles exprimant ChETA ont significativement réduit le temps passé dans les zones aversives de l'EPM pendant et après la stimulation. De même, les souris femelles eYFP ont également réduit le temps passé dans les bras ouverts et au centre, mais seulement en comparant la période post-stimulation par rapport à la période pré-stimulation. À l'inverse, les souris mâles exprimant ChETA n'ont pas réduit leur présence dans les zones aversives, tandis que les souris

mâles exprimant eYFP ont significativement réduit le temps passé dans les zones aversives pendant et après la stimulation (Figure 7C). Par ailleurs, l'analyse de la différence absolue entre le temps passé dans les bras ouverts et le centre pendant la stimulation et pour la période pré-stimulation révèle une différence significative entre les souris femelles ChETA et celles exprimant eYFP ($p = 0,0413$), ainsi que les souris femelles ChETA avec les mâles ChETA ($p = 0,0139$) (Figure 7D).

Le décompte du nombre d'entrées dans les bras ouverts et fermés a également été effectué pour évaluer le niveau d'exploration des souris. Une entrée est considérée lorsque le centre du corps de la souris traverse franchement la délimitation d'une zone. Bien que tous les groupes aient réduit le nombre d'entrées dans les bras ouverts pendant et après la stimulation, les mâles ChETA ont montré une diminution plus progressive, devenant significative uniquement pendant la période post-stimulation (Figure 7E, haut). L'analyse de la différence absolue entre le nombre d'entrées dans les bras ouverts pendant et avant la stimulation révèle que la diminution du nombre d'entrées dans les bras ouverts est plus marquée pour les femelles ChETA, présentant une différence significative avec les femelles du groupe contrôle ($p = 0,0049$), ainsi que les mâles eYFP et ChETA ($p = 0,0034$ et $p = 0,0029$ respectivement) (Figure 7F, haut). En outre, le nombre d'entrées dans les bras fermés a significativement baissé pour les souris mâles ChETA et souris femelles contrôles entre la période pré-stimulation et pendant, ainsi qu'après la stimulation. Les souris femelles ChETA, tant qu'à elles, ont réduites significativement leur nombre d'entrées dans les bras fermés entre la période pré et post-stimulation (Figure 7E, bas). En revanche, aucune différence n'a été observée entre les groupes lors de l'analyse de la différence absolue entre le nombre d'entrées dans les bras fermés entre la période de stimulation et la période pré-stimulation (Figure 7F, bas). Ces résultats suggèrent que la stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv augmente les comportements d'aversion dans le paradigme de l'EPM, mais ce uniquement chez les souris femelles.

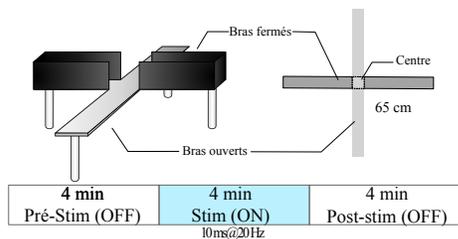
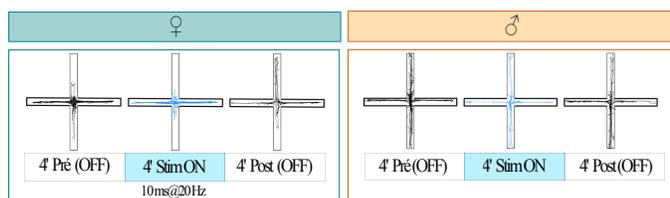
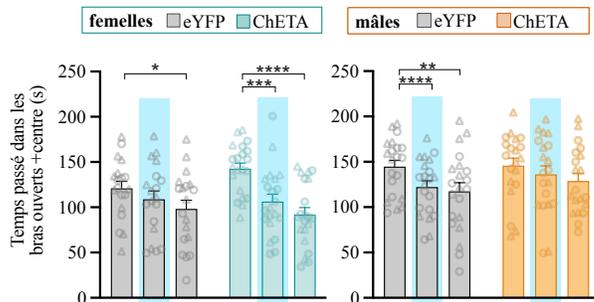
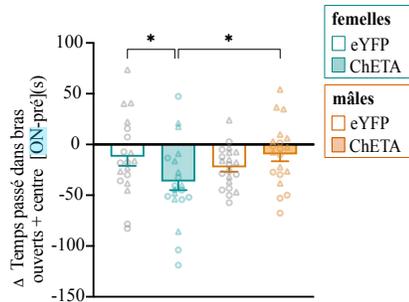
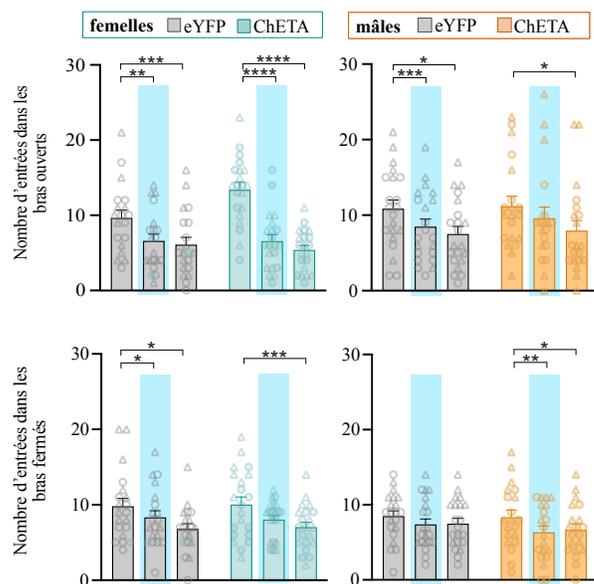
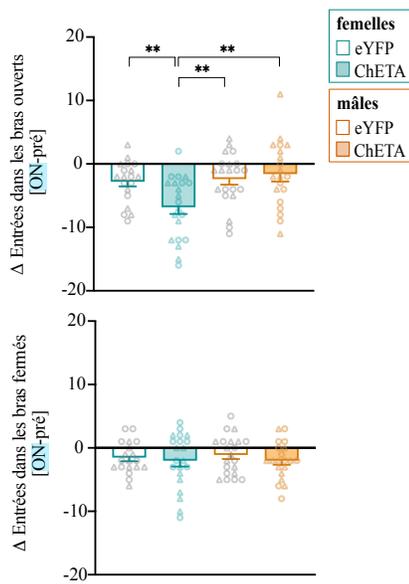
A**B****C****D****E****F**

Figure 7. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente les comportements d'aversion dans l'EPM chez les souris femelles. **(A)** Schémas du test de l'EPM et protocole de stimulation optogénétique comportant trois périodes d'illumination alternées de 4 minutes (« OFF-ON-OFF »). **(B)** Exemples de trajectoires d'une souris ChETA femelle (gauche) et mâle (droite), avant, pendant et après la stimulation optogénétique. **(C)** Temps passé dans les bras ouverts et le centre de l'EPM lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. **(D)** Différence absolue entre le temps passé dans les bras ouverts et le centre pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. **(E)** Nombre d'entrées dans les bras ouverts (haut) et fermés (bas) de l'EPM lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. **(F)** Différence absolue du nombre d'entrées dans les bras ouverts (haut) et fermés (bas) de l'EPM pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, $n = 19$ eYFP, $n = 21$ ChETA; chez les mâles, $n = 21$ eYFP, $n = 20$ ChETA. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$.

4.2.2 Augmentation des comportements d'aversion dans le paradigme du SA chez les femelles

Les souris ont aussi été soumises au test du SA pour évaluer leur niveau d'anxiété. Le paradigme du SA, comme celui de l'EPM, se base sur l'aversion des souris pour les endroits ouverts et éclairés, mais le SA ne contient pas de zone ambiguë et difficile à interpréter (Deacon, 2013). Le module du SA est composé de 4 zones successives allant de la moins aversive (zone 1) à la plus aversive (zone 4). La projection 5-HT du raphé à l'HPv a été activée par optogénétique en suivant le même protocole de stimulations « OFF-ON-OFF » (Figure 8A).

Le temps passé dans chaque zone pour les trois périodes de stimulation a été mesuré. L'écart absolu entre le temps passé dans chaque zone comparant la période de stimulation et de pré-stimulation révèle que les femelles ChETA passent significativement plus de temps dans la zone considérée sécuritaire (zone 1) ($p = 0,0063$) et significativement moins de temps dans les

zones perçues comme plus aversives (zone 2 et 3) ($p = 0,0142$ et $p = 0,0005$ respectivement). Les souris femelles eYFP semblent aussi montrer une augmentation significative, bien que moins marquée que les femelles exprimant ChETA, du temps passé dans la zone 1 ($p = 0,0304$) et une réduction du temps passé dans la zone 3 ($p = 0,0122$) (Figure 8C, gauche). Les mâles eYFP et ChETA, à l'inverse, ne manifestent aucun changement dans leurs comportements d'évitement (Figure 8C, droite). Le temps passé dans les 3 zones considérées comme plus aversives (2, 3 et 4) ont été cumulé afin d'observer la différence entre le temps passé dans les zones aversives pendant et avant la stimulation. Les souris femelles ChETA ont réduit significativement le temps passé dans ces zones pendant la stimulation comparativement aux mâles eYFP et ChETA ($p = 0,0020$ et $p = 0,0071$ respectivement) (Figure 8D). En outre, les temps consacrés aux 4 zones ont été employés pour calculer un score d'anxiété variant de 0 à 1. Plus une souris présente des comportements d'évitement, plus son indice d'anxiété tendra vers 1; inversement, une souris exhibant moins de comportements anxieux aura un score se rapprochant de 0. L'écart absolu du score d'anxiété entre la période de stimulation et la période de pré-stimulation révèle que les souris femelles ChETA ont montré significativement plus de comportements d'évitement que les souris mâles ChETA et eYFP ($p = 0,0283$ et $0,0031$ respectivement) (Figure 8E). Comme le score d'anxiété a été généré par une formule élaborée au sein de notre laboratoire, la corrélation entre ce score et le temps passé dans les bras ouverts et le centre de l'EPM a été examinée, exclusivement pendant la période antérieure à la stimulation. En effet, une corrélation a été observée entre le temps qu'une souris passe dans les zones aversives de l'EPM et son score d'anxiété dans le test du SA. Les souris qui consacrent davantage de temps aux zones aversives de l'EPM semblent généralement présenter un score d'anxiété plus bas, indiquant ainsi un comportement global moins anxieux (Figure 8F).

Le nombre de transitions a également été enregistré pendant les trois périodes de stimulation. Toutes les transitions, entre n'importe quelle zone, ont été cumulées, reflétant ainsi le niveau d'exploration global de la souris. Une fois de plus, tous les groupes ont manifesté une réduction du nombre de transitions pendant et après la stimulation, les femelles ChETA présentant la réduction la plus prononcée tandis que les mâles ChETA ont montré une diminution plus graduelle, devenant significative uniquement pendant la période post-stimulation (Figure 8G). De plus, la différence absolue entre la période de stimulation et celle d'avant révèle une disparité significative entre les souris ChETA femelles et mâles (Figure 8H). Ces résultats suggèrent une modulation des comportements anxieux par la voie 5-HT raphé-HPv qui varie en fonction du sexe.

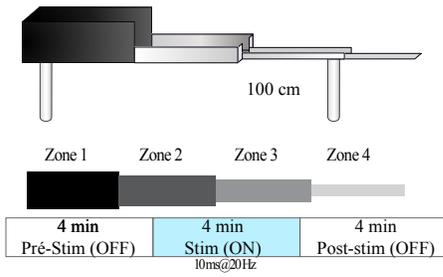
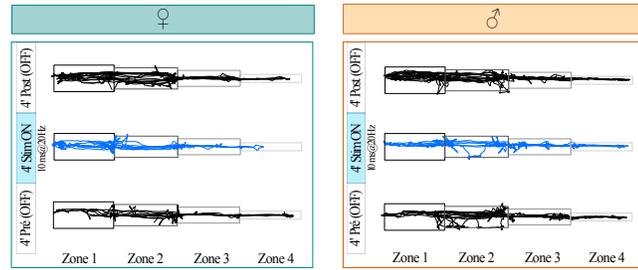
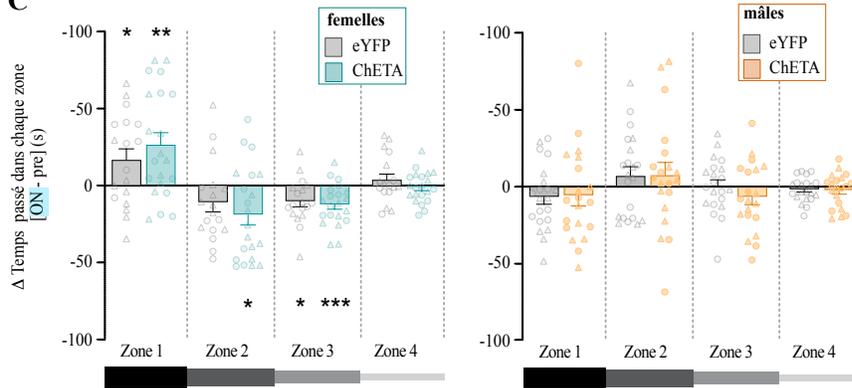
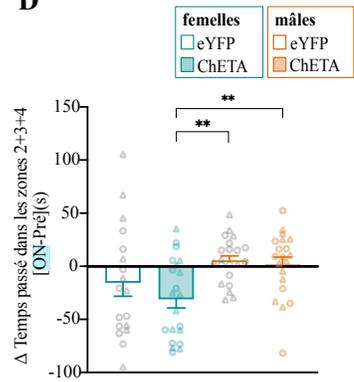
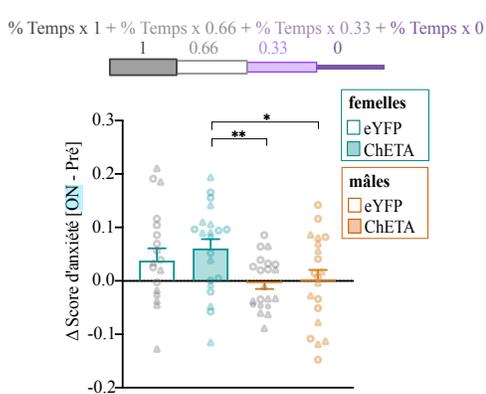
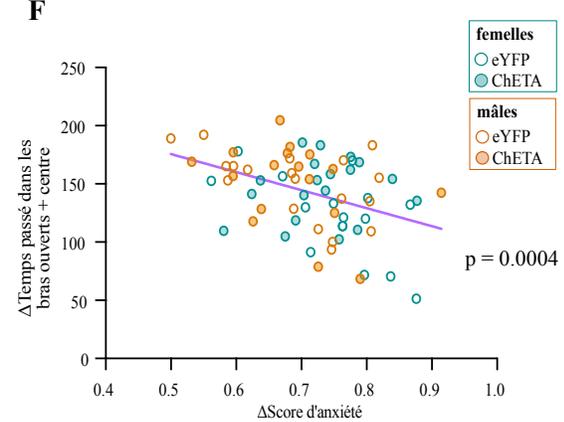
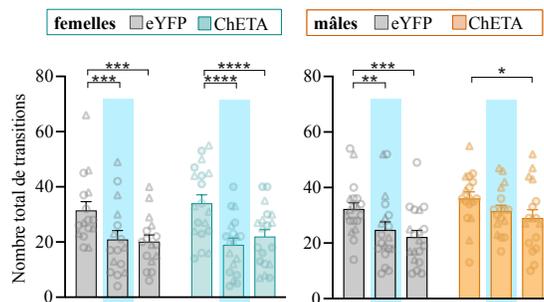
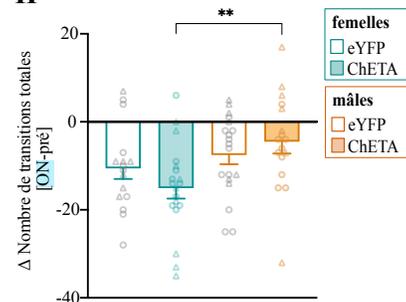
A**B****C****D****E****F****G****H**

Figure 8. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente les comportements d'aversion dans le test du SA chez les souris femelles. **(A)** Schémas du test du SA et protocole de stimulation optogénétique comportant trois périodes d'illumination alternées de 4 minutes (« OFF-ON-OFF »). **(B)** Exemples de trajectoires d'une souris ChETA femelle (gauche) et mâle (droite), avant, pendant et après la stimulation optogénétique. **(C)** Différence absolue du temps passé dans chaque zone du SA pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison de chaque groupe avec une valeur théorique de 0 à l'aide du test de Wilcoxon signé-rangé. Moyenne \pm erreur type. **(D)** Différence absolue entre le temps passé dans les zones plus aversives du SA (zones 2, 3 et 4) pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. **(E)** Formule du score d'anxiété et différence absolue entre le score d'anxiété pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. **(F)** Corrélation entre le score d'anxiété du SA et le temps passé dans les bras ouverts et le centre de l'EPM avant la stimulation (pré). **(G)** Nombre de transitions dans toutes les zones du SA lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. **(H)** Différence absolue du nombre de transitions dans toutes les zones du SA pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, n = 18 eYFP, n = 21 ChETA; chez les mâles, n = 21 eYFP, n = 20 ChETA. * : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001.

4.2.3 Augmentation de la fréquence des toilettages dans l'EPM et le SA chez les femelles

Certains comportements éthologiques, qui sont des indicateurs du niveau d'anxiété ou d'exploration chez les souris, ont également été compabilisés pour l'EPM et le SA. Les comportements pris en compte comprenaient le toilettage, où la souris se nettoie, les redressements, impliquant que la souris se lève sur ses pattes postérieures, les étirements, indiquant un allongement du corps, et les plongées de tête, où la souris incline sa tête pour observer en bas du module. Pour les toilettages, le temps total passé à se toiletter ainsi que la durée moyenne de chaque toilettage fût aussi mesurée pour chaque souris.

Dans le paradigme de l'EPM, les souris femelles ChETA ont manifesté une hausse significative du nombre de toilettages pendant et après la stimulation par rapport à la période pré-stimulation (Figure 9A), suggérant une élévation de leur niveau d'anxiété. La différence absolue entre la période de stimulation et celle d'avant révèle aussi une différence significative entre les souris ChETA femelles et les trois autres groupes, soient les femelles eYFP, les mâles eYFP et les mâles ChETA ($p < 0,0001$; $p = 0,0004$ et $p = 0,0004$ respectivement) (Figure 9B). De surcroît, une différence significative a également été observée dans le temps total consacré au toilettage entre les femelles ChETA et leur groupe témoin ($p = 0,0009$), ainsi qu'avec les mâles eYFP et ChETA ($p = 0,0041$ et $0,0002$ respectivement (Figure 9C). Cependant, aucune disparité n'a été constatée entre les différents groupes dans l'analyse de l'écart absolu de la durée de chaque séance de toilettage entre la période de stimulation et celle précédant (Figure 9D). Il est important de noter que le nombre de souris dans chaque groupe est réduit pour l'analyse de la durée moyenne de chaque toilettage (chez les femelles, $n = 14$ eYFP, $n = 9$ ChETA; chez les mâles, $n = 10$ eYFP, $n = 11$ ChETA). Les souris n'ayant pas du tout effectué de toilettage pendant l'une ou l'autre des périodes ont été exclues afin d'obtenir une caractérisation et une moyenne du temps fiables de chaque séance de toilettage ayant eu lieu. En ce qui concerne les comportements exploratoires, aucune disparité entre les groupes n'a été remarqué pour le nombre de redressement pendant et avant la stimulation (Figure 9E). En revanche, les souris femelles ChETA ont démontré une réduction plus prononcée dans le nombre d'étirements par rapport aux autres groupes pendant la stimulation. La différence absolue entre le nombre d'étirements pendant et avant la stimulation révèle une différence significative entre les femelles ChETA et leur contrôle (femelles eYFP), ainsi qu'avec les mâles eYFP et ChETA ($p < 0,0001$; $p = 0,0002$ et $p = 0,0002$ respectivement) (Figure 9F). De plus, une différence significative a également été observée entre les deux groupes témoins, indiquant une réduction plus marquée du nombre d'étirements chez les mâles pendant la stimulation ($p = 0,0455$). Enfin, le nombre de plongées de tête, un autre comportement d'approche, semble diminuer pour tous les groupes pendant la stimulation, avec une réduction plus marquée chez les femelles ChETA. L'écart absolu entre le nombre de plongées de tête pendant et avant la période de stimulation révèle une différence significative entre les femelles ChETA et leur groupe témoin ($p = 0,0142$), ainsi qu'avec les mâles ChETA ($p = 0,0273$) (Figure 9G). Ces résultats suggère une possible augmentation du niveau d'anxiété des souris femelles ChETA dans l'EPM suivant la stimulation de la voie 5-HT raphé-HPv.

De manière similaire à ce qui a été observé dans l'EPM, lors du test du SA, les souris femelles ChETA ont présenté une augmentation significative du nombre de comportements de toilettage, mais uniquement pendant la période de stimulation (Figure 10A). Surprenamment, les mâles ChETA ont montré une réduction significative du nombre de toilettage entre la période de stimulation et celle qui a suivi. L'écart absolu du nombre de comportements de toilettage pendant et avant la stimulation a montré une différence significative entre les souris ChETA femelles et les trois autres groupes : les femelles eYFP, les mâles eYFP ainsi que les mâles ChETA ($p = 0,0044$; $p = 0,0015$ et $p = 0,0053$ respectivement) (Figure 10B). Dans le même ordre d'idées, le temps consacré au toilettage a également révélé des tendances similaires, montrant une augmentation plus importante chez les femelles ChETA. L'écart absolu en entre le temps total consacré à se toiletter pendant et avant la stimulation révèle une différence significative entre les femelles ChETA, ainsi que les mâles eYFP et ChETA ($p = 0,0015$ et $p = 0,0090$ respectivement) (Figure 10C). Cependant, aucune disparité n'a été constatée dans l'écart absolu de la durée de chaque toilettage entre la période de stimulation et celle précédant, entre les différents groupes (Figure 10D). Encore une fois, il est important de noter que le nombre de souris dans chaque groupe est réduit pour l'analyse de la durée moyenne de chaque toilettage (chez les femelles, $n = 13$ eYFP, $n = 16$ ChETA; chez les mâles, $n = 10$ eYFP, $n = 12$ ChETA). Pour les comportements exploratoires, les femelles ChETA semble démontrer une réduction plus prononcée pendant la stimulation pour les trois types de comportements analysés : les redressements, les étirements et les plongées de tête. La différence absolue entre le nombre de redressements pendant et avant la stimulation indique une différence significative entre les femelles ChETA et leur groupe témoin ($p = 0,0078$) (Figure 10E). De même, l'écart absolu entre le nombre d'étirements pendant et avant la stimulation montre une différence significative entre les femelles ChETA et les groupes eYFP femelles et mâles ($p = 0,0108$ et $p < 0,0001$ respectivement) (Figure 10F). Enfin, l'écart absolu entre le nombre de plongées de tête pendant et avant la période de stimulation révèle une différence significative entre les femelles ChETA et les mâles eYFP et ChETA ($p = 0,0157$ et $p = 0,0086$ respectivement) (Figure 10G). Tous ces résultats suggèrent une augmentation globale du niveau d'anxiété et une baisse d'exploration des souris femelles exclusivement, suite à la stimulation de la projection 5-HT du raphé vers l'HPv.

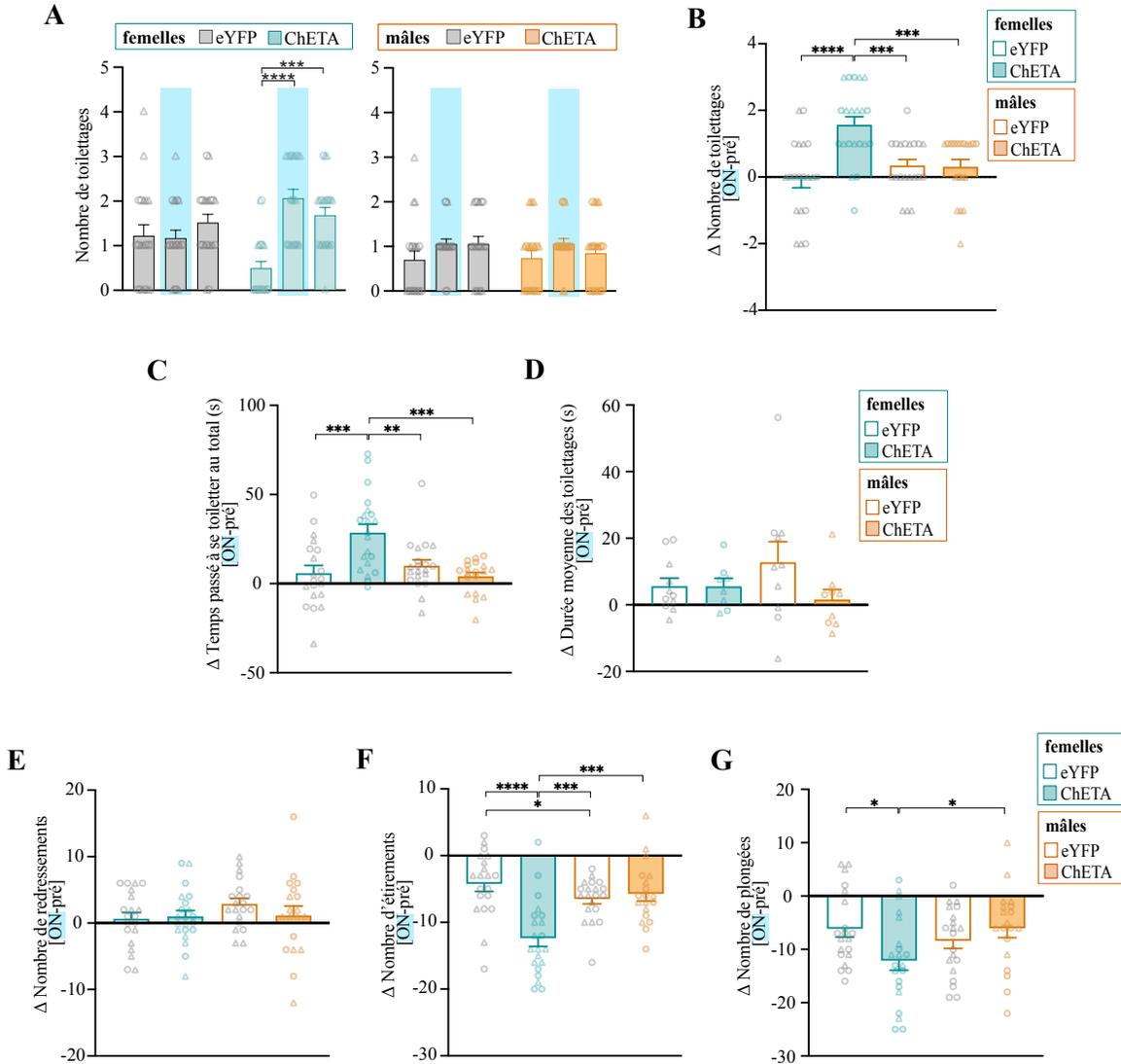


Figure 9. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv augmente la fréquence des toilettes et diminue les comportements exploratoires dans l'EPM chez les souris femelles. (A) Nombre de toilettes lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. Différence absolue entre le nombre de toilettes (B), le temps passé à se toiletter au total (C), la durée moyenne de chaque toilette (D), le nombre de redressements (E), d'étirements (F) et de plongées (G) pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, $n = 20$ eYFP, $n = 21$ ChETA; chez les mâles, $n = 20$ eYFP, $n = 19$ ChETA. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$.

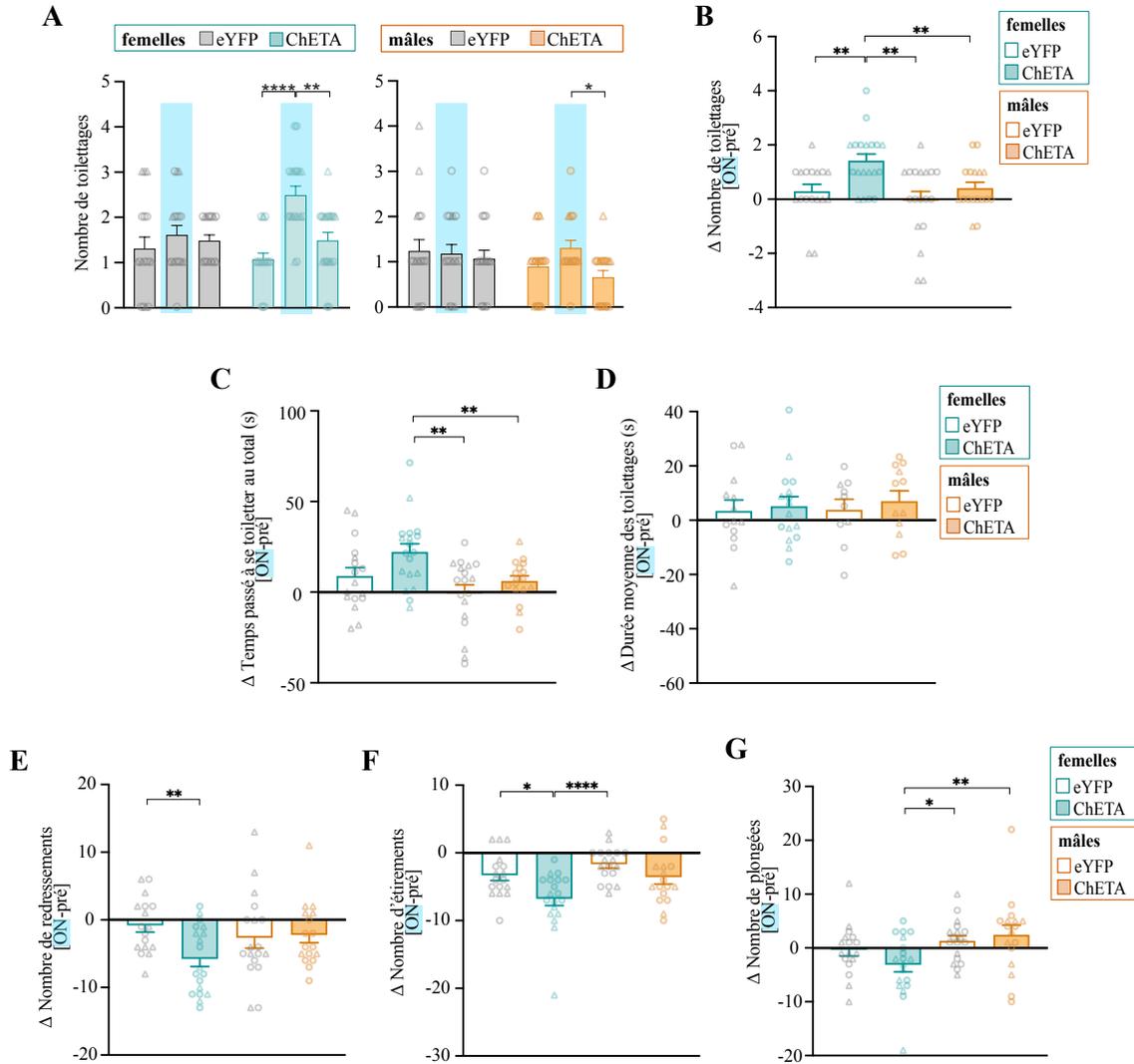


Figure 10. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPV augmente la fréquence des toilettes et diminue les comportements exploratoires dans le test du SA chez les souris femelles. (A) Nombre de toilettes lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. Différence absolue entre le nombre de toilettes (B), le temps passé à se toiletter au total (C), la durée moyenne de chaque toilette (D), le nombre de redressements (E), d'étirements (F) et de plongées (G) pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, $n = 17$ eYFP, $n = 19$ ChETA; chez les mâles, $n = 18$ eYFP, $n = 17$ ChETA. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$.

4.3 Effet de l'activation des neurones sérotoninergiques raphé-HPv sur la locomotion

4.3.1 Baisse de la locomotion dans le test de l'OF

Les neurones 5-HT du raphé, principalement du DR, semblent être impliqués dans la modulation de la locomotion des rongeurs (Correia et al., 2017; Ohmura et al., 2014; Seo et al., 2019). Pour évaluer l'activité locomotrice en réponse à la stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv, les souris ont été exposées à un OF. Le protocole utilisé était le même, comprenant trois périodes alternées de 4 minutes et suivant un schéma « OFF-ON-OFF » (Figure 11A). L'activité locomotrice a été évaluée en mesurant divers paramètres, dont la distance totale parcourue, la vitesse de locomotion, l'accélération, le temps consacré à la course ou à l'immobilité, ainsi que le nombre d'épisodes de course.

Dans le contexte de l'OF, la distance totale parcourue semble avoir été significativement réduite pendant et après la stimulation pour les groupes ChETA, tant chez les mâles que chez les femelles. De plus, les souris mâles du groupe témoin présentent également une réduction significative de leur distance parcourue pendant la période post-stimulation (Figure 11C). Par ailleurs, l'écart absolu entre la distance parcourue pendant et avant la stimulation révèle une réduction significative pour les femelles ChETA ($p = 0,0005$), les mâles ChETA ($p = 0,0007$), et, bien que de manière moins prononcée, les mâles du groupe eYFP ($p = 0,0371$) (Figure 11D). La vitesse moyenne de locomotion a également été mesurée pour les trois périodes de stimulations. Comme pour la distance, les deux groupes ChETA, tant chez les femelles que chez les mâles, présentent une baisse significative de leur vitesse moyenne de locomotion pendant et après la stimulation (Figure 11E, G). Cette diminution est mise en évidence dans l'analyse de la différence absolue entre la période de stimulation et celle d'avant, montrant une réduction significative pour les deux groupes ChETA, tant chez les femelles que chez les mâles ($p < 0,0001$ et $p = 0,0008$, respectivement) (Figure 11F). Il est important de souligner qu'aucune différence significative n'a été observée dans la différence absolue de la distance parcourue et de la vitesse moyenne de déplacement lors de la comparaison entre tous les groupes (test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney). En revanche, aucune différence dans l'accélération moyenne de la locomotion n'a été observée pour chaque groupe entre les périodes de stimulations (résultats non présentés) ni pour les différences absolues pendant et avant la stimulation (Figure 11H).

Le nombre d'épisodes de course et la durée totale passée à courir ont également été mesurés. La course est définie par une vitesse de locomotion supérieure à 10 cm/s, et le nombre d'épisodes de course correspond au décompte de toutes les occurrences où la souris maintient cette vitesse pendant plus d'une seconde. L'écart absolu entre le nombre d'épisodes de course pendant et avant la stimulation révèle une différence significative pour tous les groupes, à savoir les femelles et les mâles du groupe témoin ($p = 0,0064$ et $p = 0,0147$ respectivement), ainsi que les femelles et les mâles ChETA ($p < 0,0001$ et $p = 0,0005$ respectivement), bien que cette différence soit plus marquée chez les ChETA (Figure 11I). De manière similaire, la différence absolue pour la durée totale passée à courir pendant la période de stimulation par rapport à avant la période de stimulation est également significativement réduite pour les groupes ChETA, tant chez les femelles que chez les mâles ($p < 0,0001$ et $p = 0,0005$ respectivement), ainsi que, dans une moindre mesure, pour les mâles témoins ($p = 0,0261$) (Figure 11J). Enfin, le temps passé immobile par chaque souris a été mesuré, défini par les périodes présentant une vitesse inférieure à 2 cm/s. Les souris ChETA, qu'elles soient femelles ou mâles ($p < 0,0001$ et $p = 0,0027$ respectivement), ainsi que, de manière moins prononcée, les mâles du groupe eYFP ($p = 0,0361$), semblent passer significativement plus de temps immobiles pendant la stimulation par rapport à avant la stimulation (Figure 11K). Ces résultats indiquent que la projection 5-HT du raphé vers l'HPv semblent être impliquée dans la modulation de la locomotion, tant pour les mâles que pour les femelles.

Tout comme dans les tests de l'EPM et du SA, divers comportements éthologiques ont été comptabilisés pour le test de l'OF. Pour ce paradigme, seuls les épisodes de toilettage et les redressements ont été pris en compte. Aucune disparité n'a été observé entre les groupes en comparant l'écart absolu entre les périodes de stimulation et celles précédant pour le nombre de comportements de toilettage, le temps consacré au toilettage, ainsi que la durée moyenne de chaque toilettage (Figure 12 A, B et C). De même, la différence absolue du nombre de redressements entre la période pendant et avant la stimulation ne montre aucune disparité entre les groupes (Figure 12D). Par conséquent, la réduction de l'activité locomotrice observée après la stimulation de la projection 5-HT du raphé vers l'HPv ne semble pas être causée par une augmentation du toilettage, ni être accompagnée de changements dans les comportements exploratoires des souris.

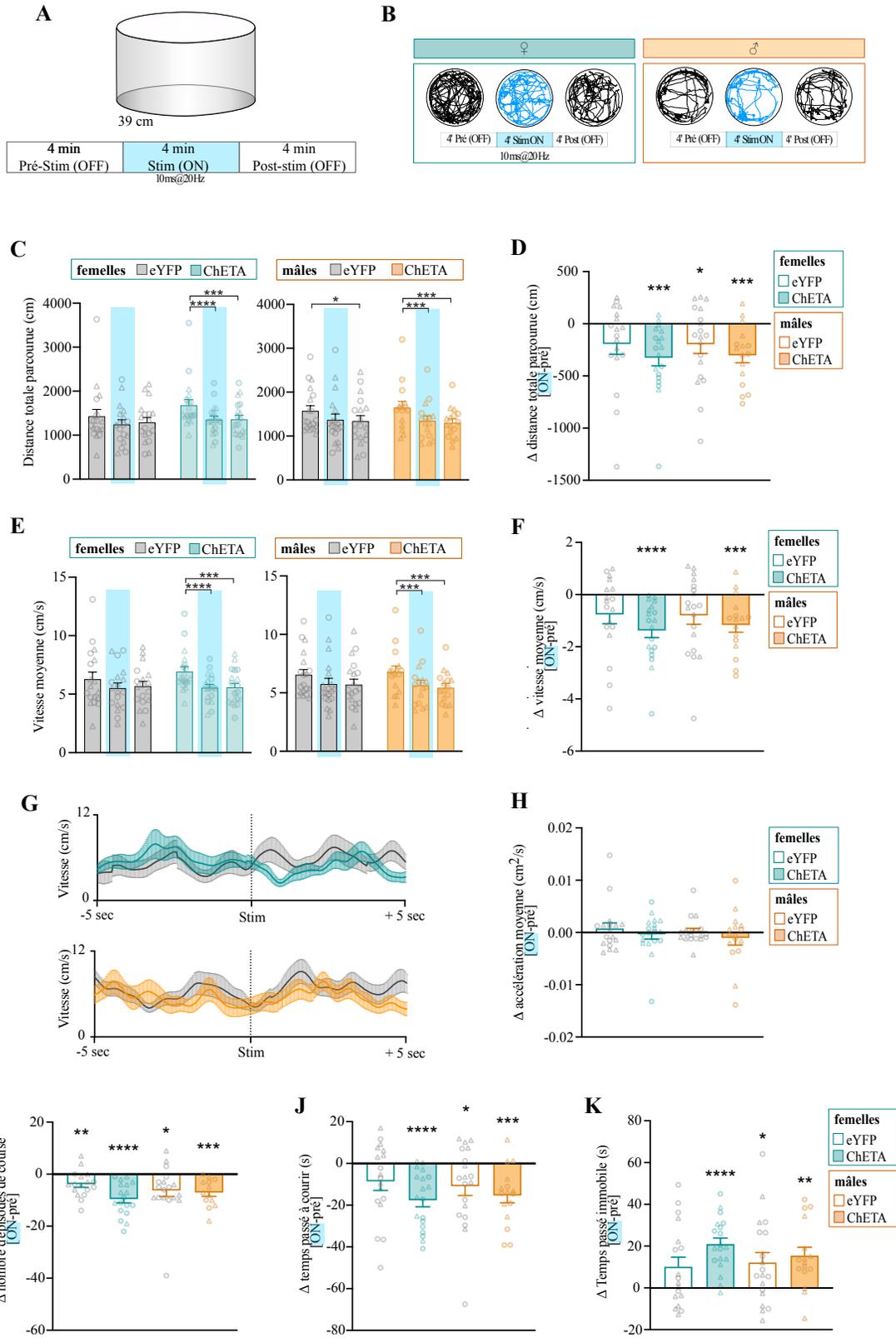


Figure 11. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv diminue la locomotion dans le test de l'OF. **(A)** Schémas du test de l'OF et protocole de stimulation optogénétique comportant trois périodes d'illumination alternées de 4 minutes (« OFF-ON-OFF »). **(B)** Exemples de trajectoires d'une souris ChETA femelle (gauche) et mâle (droite), avant, pendant et après la stimulation optogénétique. **(C)** Distance totale parcourue dans l'OF lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. **(D)** Différence absolue entre la distance totale parcourue pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison de chaque groupe avec une valeur théorique de 0 à l'aide du test de Wilcoxon signé-rangé. Moyenne \pm erreur type. **(E)** et **(F)**, comme (C) et (D) pour la vitesse moyenne. **(G)** Vitesse moyenne 5 secondes avant et après le début de la stimulation (Stim). Moyenne \pm erreur type. Différence absolue entre l'accélération moyenne **(H)**, le nombre d'épisodes de course **(I)**, le temps passé à courir **(J)** ou immobile **(K)** pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison de chaque groupe avec une valeur théorique de 0 à l'aide du test de Wilcoxon signé-rangé. Moyenne \pm erreur type. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, n = 18 eYFP, n = 19 ChETA; chez les mâles, n = 19 eYFP, n = 16 ChETA. * : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001.

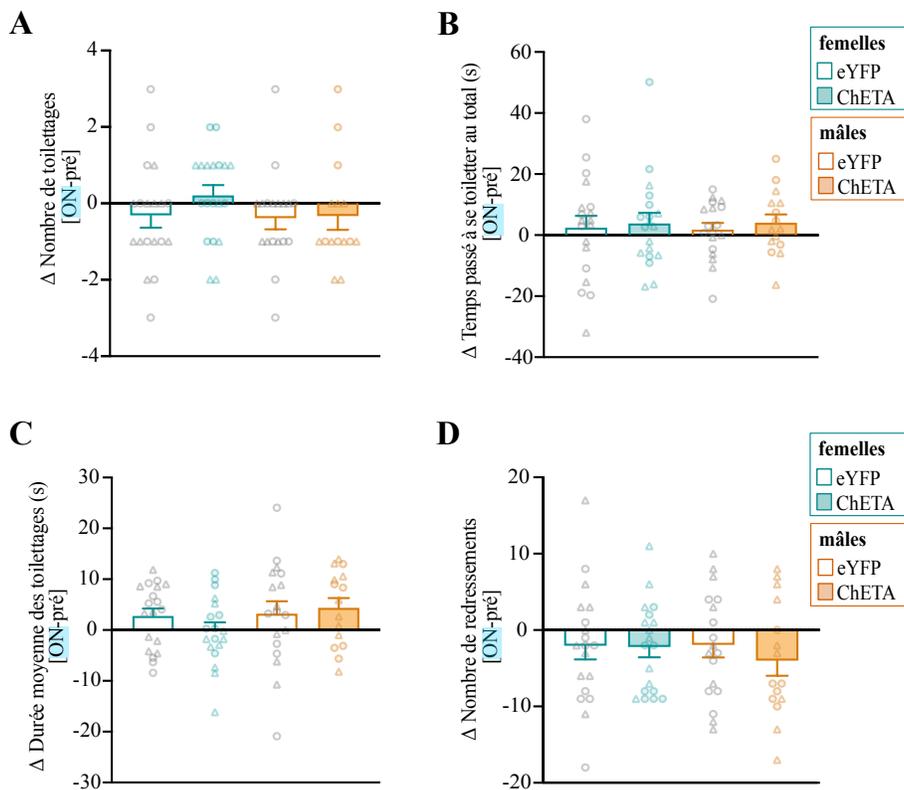


Figure 12. Comportements éthologiques dans le test de l'OF. Différence absolue entre le nombre de toilettages (**A**), le temps passé à se toiletter (**B**), la durée moyenne de chaque toilettage (**C**) et le nombre de redressements (**D**) pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, n = 19 eYFP, n = 19 ChETA; chez les mâles, n = 18 eYFP, n = 15 ChETA. * : $p < 0,05$.

4.3.1 Effet sur la locomotion dans les paradigmes de l'EPM et du SA

À la lumière des résultats obtenus dans le test de l'OF sur l'activité locomotrice, divers paramètres liés à la locomotion ont été évalués dans les tests de l'EPM et du SA. L'objectif était de vérifier que les résultats concernant les comportements d'évitement dans ces paradigmes ne pouvaient pas être attribués à une modulation de la locomotion, en particulier en examinant la distance parcourue et la vitesse moyenne de locomotion.

Dans le cadre du test de l'EPM, tous les groupes semblent présenter une diminution de leur distance totale parcourue pendant et après la stimulation (Figure 13A). Cependant, la différence absolue de la distance parcourue pendant et avant la période de stimulation révèle une disparité significative entre les souris femelles et mâles du groupe ChETA ($p = 0,0184$) (Figure 13B). De plus, tous les groupes présentent une réduction significative de leur vitesse pendant et après la stimulation (Figure 13C). L'écart absolu entre la période de stimulation et la période pré-stimulation révèle également une différence qui atteint tout juste le seuil de signification entre les groupes ChETA ($p = 0,0452$) (Figure 13D).

De manière similaire, la distance parcourue pendant le test du SA diminue de manière significative pour tous les groupes pendant et après la stimulation (Figure 14A). Cependant, aucune disparité n'est observée lors de l'analyse de la différence absolue entre la période de stimulation et celle d'avant (Figure 14B). L'analyse de la vitesse moyenne révèle également une diminution significative de la locomotion pour tous les groupes (Figure 14C). Comme dans l'EPM, l'écart absolu entre la vitesse pendant et avant la stimulation montre une différence notable, juste au seuil de la significativité, entre les femelles et les mâles du groupe ChETA ($p = 0,0449$) (Figure 14D). Bien que les tests de l'EPM et du SA ne soient pas considérés comme des évaluations de la

locomotion mais plutôt de l'anxiété, la constatation d'une diminution dans les groupes ChETA et témoins suggère que cette réduction reflète le comportement naturel d'exploration des souris dans ces paradigmes. Par ailleurs, les réductions plus marquées de l'activité locomotrice dans les groupes de femelles ChETA pourraient s'expliquer par une augmentation du toilettage, un comportement qui peut prolonger le temps d'immobilité des souris.

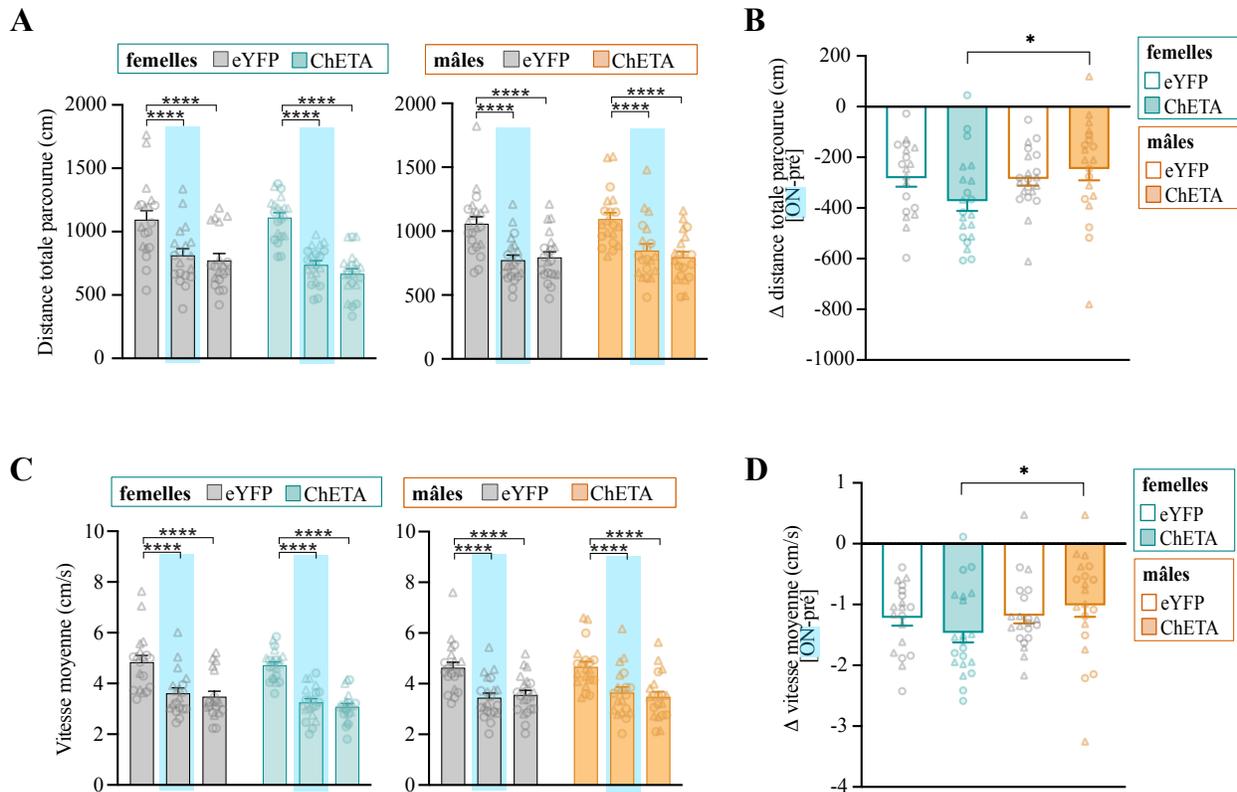


Figure 13. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv diminue la locomotion dans l'EPM. **(A)** Distance totale parcourue lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. **(B)** Différence absolue entre la distance totale pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. **(C)** et **(D)** comme **(A)** et **(B)** pour la vitesse moyenne. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, $n = 19$ eYFP, $n = 21$ ChETA; chez les mâles, $n = 21$ eYFP, $n = 20$ ChETA. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$.

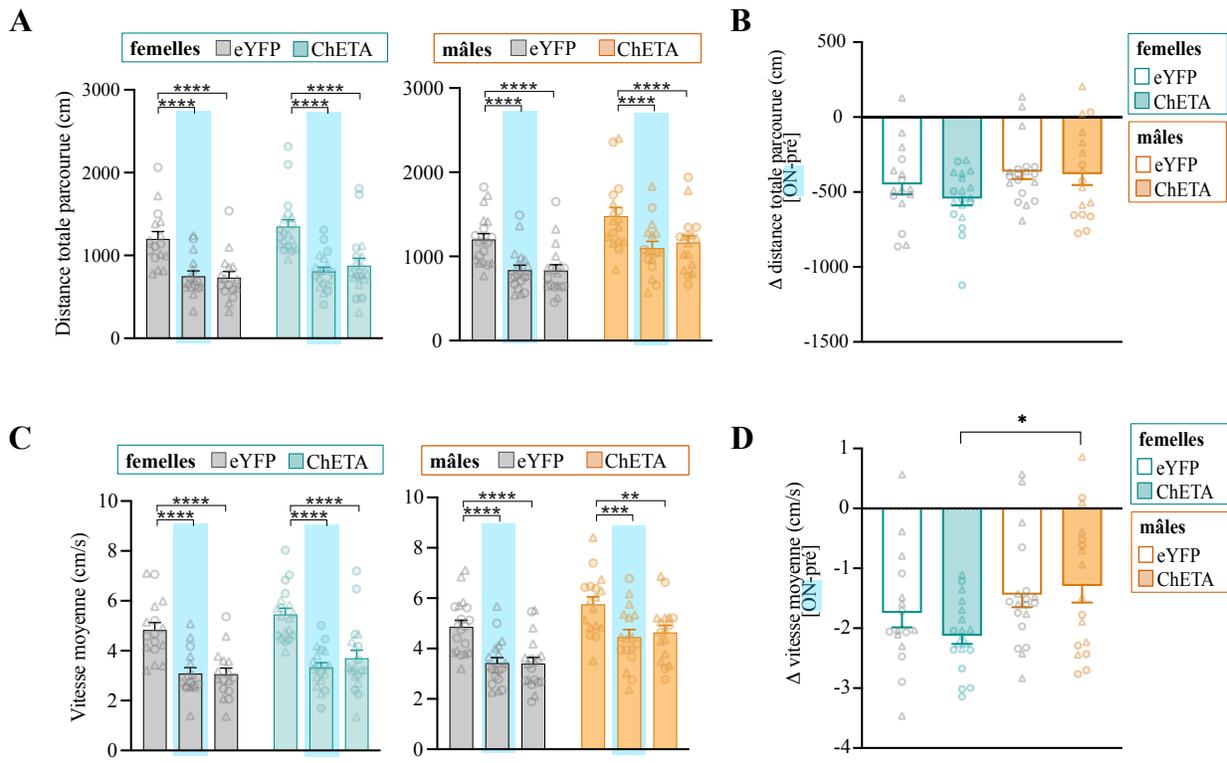


Figure 14. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPv diminue la locomotion dans le test du SA. **(A)** Distance totale parcourue lors des trois périodes de stimulation « OFF-ON-OFF » chez les femelles (gauche; eYFP : gris; ChETA : turquoise) et mâles (droite; eYFP : gris; ChETA : orange). Comparaison des échantillons appariés entre les trois périodes de stimulation pour chaque groupe avec un test de Wilcoxon. Moyenne \pm erreur type. **(B)** Différence absolue entre la distance totale pendant la période de stimulation (« ON ») et avant la période de stimulation (pré) pour les femelles (turquoise) et les mâles (orange). Comparaison entre eYFP et ChETA, ainsi qu'entre femelles et mâles, à l'aide du test de Kruskal-Wallis suivi du test post hoc de Mann-Whitney. Moyenne \pm erreur type. **(C)** et **(D)** comme **(A)** et **(B)** pour la vitesse moyenne. Les symboles de triangle représentent les souris ayant été manipulées par un expérimentateur du sexe opposé. Chez les femelles, $n = 18$ eYFP, $n = 21$ ChETA; chez les mâles, $n = 21$ eYFP, $n = 20$ ChETA. * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$; **** : $p < 0,0001$.

4.4 Effet de l'activation des neurones sérotoninergiques raphé-HPv sur l'expression du marqueur d'activité neuronale c-Fos

4.4.1 Augmentation de l'expression de c-Fos dans différentes sous-régions du raphé suite à un test d'anxiété en fonction du sexe

Pour évaluer s'il existe une différence mâle-femelle dans l'excitabilité des neurones 5-HT projetant à l'HPv, l'analyse de l'expression du marqueur d'activation c-Fos a été réalisée après la soumission des souris à un test d'anxiété, en l'occurrence le test du SA (Figure 15A). Une expérience antérieure réalisée dans le laboratoire, détaillée dans le mémoire de Félix Perreault, a démontré que l'activation de la projection 5-HT du raphé vers l'HPv pendant 5 minutes dans une cage induisait une augmentation de l'expression du marqueur c-Fos dans les neurones 5-HT de différentes sous-régions du raphé, de manière variable selon le sexe. La stimulation de la projection a provoqué une augmentation de l'expression de c-Fos dans les noyaux B9, le DR et le DRI, pour les deux sexes, mais dans le MnR uniquement chez les femelles, suggérant que le MnR pourrait être impliqué dans les différences observées entre les sexes dans la modulation des comportements anxieux.

La proportion de neurones exprimant c-Fos parmi les neurones transfectés par le virus a été quantifiée après passage dans le test du SA. Dans les deux sexes, une augmentation du pourcentage de neurones exprimant à la fois la protéine fluorescente eYFP, ainsi que le marqueur c-Fos, par rapport aux souris contrôles, a été observée dans les noyaux du B9, du DR et du DRI. Cependant, une augmentation du pourcentage de neurones coexprimant c-Fos a été constatée dans les noyaux du MnR, PMnR et dans le noyau de l'IP, mais exclusivement chez les souris ChETA femelles (Figure 15B). Ces résultats laissent envisager que les disparités entre les sexes dans les tests d'anxiété, induites par l'activation de la projection 5-HT du raphé vers l'HPv, pourraient être liées à des différences d'excitabilité selon le sexe dans les noyaux du MnR, du PMnR, ainsi que de l'IP.

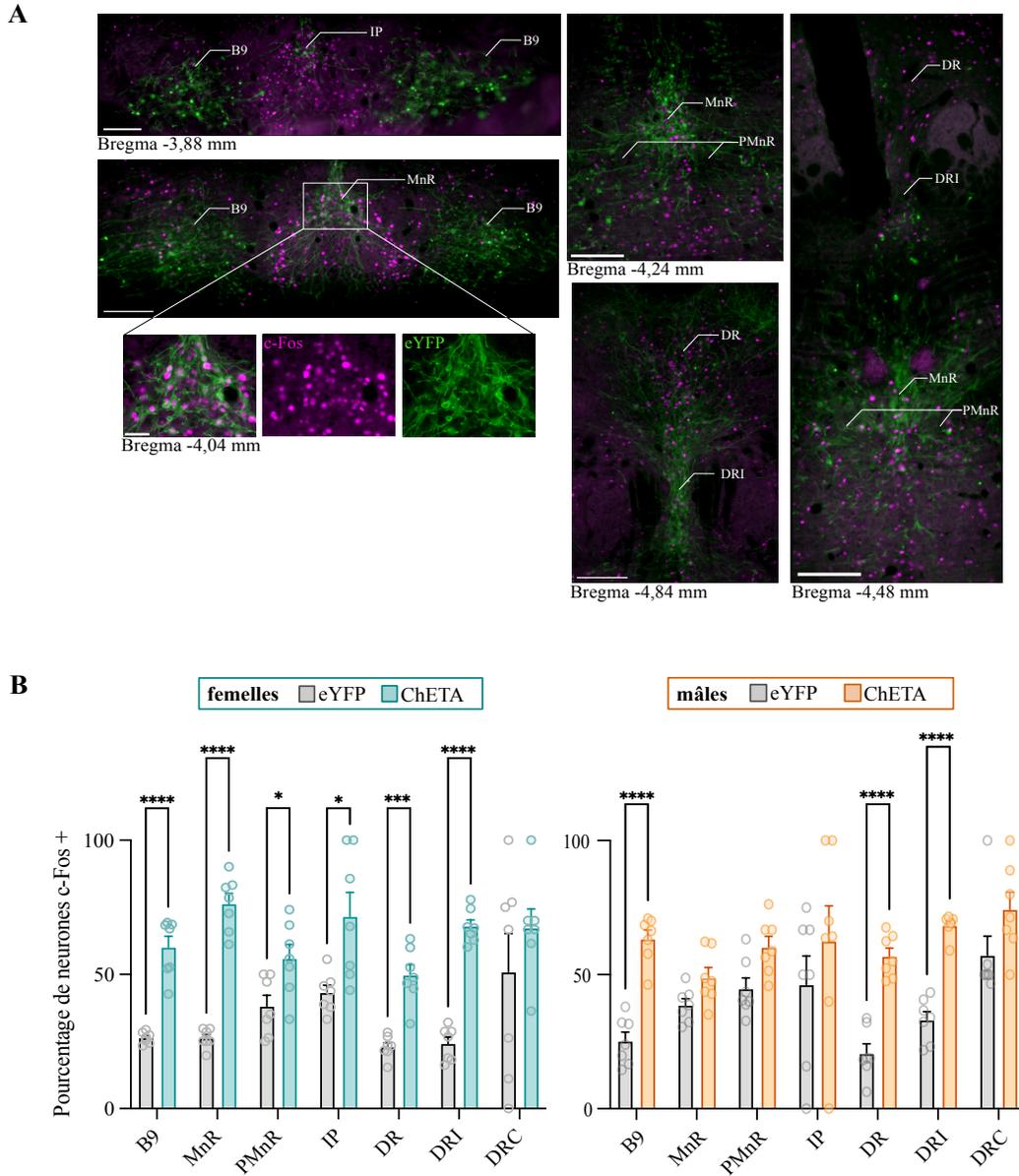


Figure 15. L'activation optogénétique des neurones sérotoninergiques du raphé projetant à l'HPV pendant un test d'anxiété augmente l'expression du marqueur d'activité neuronale c-Fos. **(A)** Exemple d'expression du marqueur d'activité neuronale c-Fos (violet) dans des coupes coronales de plusieurs sous-régions du raphé et de corps cellulaire coexprimant la protéine fluorescente eYFP (vert), chez une souris ChETA. Barre d'échelle = 200 μ m pour les images des sous-régions du raphé. Barre d'échelle = 20 μ m pour l'image de grossissement des corps cellulaires dans le MnR. **(B)** Pourcentage de neurones eYFP positifs qui coexpriment c-Fos pour les femelles (gauche) et les mâles (droite). Comparaison entre les groupes eYFP et ChETA à l'aide d'un test t non apparié multiple, avec correction de Holm-Sidak. Moyenne \pm erreur type. Chez les femelles, n = 7 eYFP, n = 7 ChETA; chez les mâles, n = 7 eYFP, n = 7 ChETA. * : p < 0,05; ** : p < 0,01; *** : p < 0,001; **** : p < 0,0001.

5 Discussion

Ce projet visait à élucider le rôle de la voie 5-HT du raphé projetant vers l'HPv dans la modulation des comportements anxieux en fonction du sexe, tout en approfondissant la compréhension des causes du dimorphisme sexuel associé à ces comportements. L'utilisation de la stimulation optogénétique de la projection 5-HT raphé-HPv a conduit à une augmentation des comportements d'évitement et de la fréquence des toilettages, spécifiquement chez les femelles. Une réduction de la locomotion a également été observée, indépendamment du sexe des souris. Afin de démystifier les causes de ce dimorphisme sexuel, une quantification du marqueur c-Fos a été réalisée après un test d'anxiété, mettant en évidence des réponses différentes dans les noyaux du raphé entre les mâles et les femelles. Les deux sexes ont présenté une augmentation du marquage de c-Fos dans les noyaux du B9, DR, et DRI, tandis qu'une hausse a été observée dans les noyaux du MnR, PMnR, et de l'IP exclusivement chez les femelles.

5.1 Modèle animal et mutant SERT-Cre

Une grande partie de notre compréhension des mécanismes neuronaux liés aux troubles anxieux découle d'études utilisant des modèles animaux, lesquels reproduisent divers aspects de l'étiologie présumée, de la physiologie, ou de l'expression comportementale à l'anxiété. L'identification des circuits médiateurs de ces comportements demeure une étape cruciale pour appréhender les mécanismes neurobiologiques sous-jacents à l'anxiété. Ces modèles comportementaux jouent également un rôle essentiel en tant qu'outils de dépistage pour repérer des médicaments ou traitements susceptibles d'avoir une action anxiolytique. Cependant, il est crucial de reconnaître les limites inhérentes à ces modèles. Par exemple, les mesures utilisées pour évaluer les comportements anxieux chez les rongeurs, bien que destinées à refléter ces comportements, ne permettent pas de distinguer les différents troubles anxieux ou à rendre compte de leur complexité (Shekhar et al., 2001). Dans les tests d'approche-évitement, la classification des comportements peut être ambiguë, la temporalité limitée des tests peut ne pas refléter adéquatement la nature continue de l'anxiété, et les aspects sociaux, souvent présents dans les troubles anxieux, ne sont pas pris en considération (Shemesh & Chen, 2023). Enfin, entre différents laboratoires, le comportement des souris peut être affecté par des variables telles que la souche, l'âge, le sexe, ainsi que des facteurs externes comme la luminosité et le sexe de

l'expérimentateur (Bourin et al., 2007; Hogg, 1996; Shekhar et al., 2001; Sorge et al., 2014). Dans le cadre de nos expériences, une moitié des souris a été manipulée par une femme et l'autre moitié par un homme.

La lignée de souris utilisée dans cette étude, un mutant transgénique SERT-Cre, a été spécifiquement conçue pour intégrer le gène Cre dans un chromosome artificiel bactérien (BAC) après le promoteur du gène SERT, situé sur le chromosome 18. Cette insertion stratégique permet d'ajouter une cassette Cre intronique au gène SERT (*Slc6a4*), tout en préservant les deux copies endogènes du gène. Dans la lignée SERT-Cre, l'expression de Cre est généralement très spécifique, ciblant principalement les neurones sérotoninergiques. Cependant, une exception est observée chez les neurones exprimant transitoirement le gène *Slca4* pendant le développement, où une expression ectopique peut se produire dans des régions spécifiques comme les neurones cortico-thalamiques (Gong et al., 2007). Il est important de souligner que cette modification génétique n'affecte pas directement la séquence codante du gène SERT. Cependant, il est envisageable que cette manipulation puisse influencer l'expression du transporteur en réduisant les facteurs de transcription. Étant donné que des altérations dans le gène SERT ont été associées à des variations comportementales résultant d'une augmentation de la 5-HT extracellulaire (Jennings et al., 2006), une évaluation pertinente pourrait consister à mesurer la concentration de sérotonine extracellulaire, par exemple, via microdialyse (Mathews et al., 2004). Nos analyses comparent chaque résultat à la ligne de base au sein de la même souris, garantissant ainsi la validité de nos interprétations, même en présence de potentielles altérations dans l'expression de SERT.

5.2 Injections virales rétrograde dans l'HPv

L'expression bilatérale des injections virales dans l'HPv a été confirmée dans chaque animal (Figure 6C). Il est essentiel de souligner que la spécificité du virus a été préalablement validée par un autre membre de notre laboratoire. Les résultats, détaillés dans le mémoire de Félix Perreault, révèlent que seulement 0,21% des neurones exprimant la protéine fluorescente eYFP ne sont pas sérotoninergiques, et la distribution des neurones marqués est similaire entre les sexes. La distribution virale est prédominante dans les sous-régions du B9, du MnR et du DRI. Il est bien établi que l'HPv reçoit principalement ses afférences 5-HT du MnR (Muzerelle et al., 2016). En outre, les noyaux du B9, moins étudiés dans la littérature, envoient aussi d'importantes projections

5-HT à l'HPv (Köhler & Steinbusch, 1982; Muzerelle et al., 2016). Les neurones 5-HT du DRC et DRI, bien que faisant partis du DR, présentent des caractéristiques morphologiques, de connectivité et développementales plus proches du MnR (Commons, 2015; Hale & Lowry, 2011; Jacobs & Azmitia, 1992). Ces neurones sont également reconnus pour projeter à l'hippocampe (McKenna & Vertes, 2001; Vertes, 1991). Ainsi, l'ensemble ou certaines de ces différentes sous-populations du raphé projetant à l'HPv pourraient être impliqués dans la modulation des comportements anxieux. Ces diverses noyaux du raphé envoient aussi des projections glutamatergiques à l'HPv suivant un patron de connexion semblable (Fortin-Houde et al., 2023). Bien que la possibilité que les neurones transfectés par le virus coexpriment VGLUT3 ne soit pas exclue, les neurones 5-HT du MnR chevauchent très peu les neurones exprimant VGLUT3 (Sos et al., 2017).

Par ailleurs, le construit viral utilisé incluait l'opsine excitatrice hChR2_{E123T/T159C} (ChETA) qui répond à la lumière bleue. Les channelrhodopsines sont des canaux cationiques qui, lorsqu'ils sont activés par la lumière, peuvent provoquer une dépolarisation neuronale. La Channelrhodopsine-2 (ChR2), extraite de l'algue *Chlamydomonas reinhardtii*, a la capacité de déclencher des potentiels d'action neuronale de manière précise et synchronisée (Mattis et al., 2012). Une limitation important de l'utilisation de l'opsine excitatrice ChR2 est sa diminution du niveau de repolarisation membranaire entre les potentiels d'action successifs, limitant ainsi son efficacité à des fréquences élevées (Grossman et al., 2011). Le mutant ChETA, une variante de ChR2 (Channelrhodopsine-2), fût utilisé pour contourner cette limitation et suivre notre protocole de stimulation à 20 Hz, une fréquence à laquelle les neurones 5-HT du raphé peuvent suivre la encore stimulation lumineuse (Liu et al., 2014). ChETA offre plusieurs avantages : une meilleure efficacité de stimulation neuronale à des fréquences élevées et une réduction du risque d'effets indésirables liés à la repolarisation membranaire, permettant ainsi une stimulation plus précise et efficace des neurones. Cependant, il est important de noter que ChETA présente une forte désensibilisation à la lumière et une sensibilité réduite à l'intensité lumineuse (Berndt et al., 2011; Gunaydin et al., 2010; J. Y. Lin, 2011; Mattis et al., 2012). Bien que cela puisse être bénéfique pour éviter l'activation de neurones non désirés ou permettre une meilleure sélectivité de la stimulation, ces aspects doivent être pris en considération lors de l'interprétation des résultats.

5.3 Positionnement de la fibre optique dans le raphé

La confirmation de la localisation des fibres optiques a été réalisée pour l'ensemble des souris (Figure 6), montrant une dispersion entre 4,36 et 4,84 mm postérieurs de bregma. Afin de garantir une activation optogénétique adéquate malgré cette variabilité dans le positionnement des fibres, une expérience du laboratoire, présentée dans le mémoire de Félix Perreault, a été menée pour illustrer l'étendue de l'effet activateur de la lumière avec les mêmes positions de fibres. Les expériences ont été conduites sur des souris exprimant le contrôle eYFP ou l'opsine ChETA dans les neurones 5-HT projetant à l'HPv. Après l'activation optogénétique de la projection pendant 5 minutes dans une cage, les souris ont été sacrifiées 70 minutes plus tard pour permettre l'expression de la protéine c-Fos. Une quantification des neurones exprimant la protéine fluorescente eYFP et le marqueur d'activation c-Fos a été réalisée chez les souris exprimant l'opsine ChETA ou seulement l'eYFP. Les résultats obtenus ont confirmé l'efficacité de notre technique de stimulation optogénétique, montrant une augmentation des neurones coexprimant eYFP et c-Fos chez les souris ChETA par rapport aux contrôles. De plus, les résultats ont démontré que la photostimulation touchait non seulement le site d'implantation, mais également l'étendue rostro-caudale du raphé. Par conséquent, la variabilité de la position des fibres optiques entre 4,36 et 4,84 mm postérieurs de bregma ne va pas compromettre l'efficacité de la stimulation optogénétique.

5.4 La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv entraîne l'augmentation des comportements anxieux exclusivement chez les souris femelles

Les résultats des tests d'anxiété suggèrent une augmentation des comportements d'évitement chez les femelles après la photo-stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv. Dans l'EPM, cette élévation des comportements anxieux chez les souris femelles se manifestait par une diminution marquée du temps passé dans les zones considérées comme aversives, à savoir les bras ouverts et le centre, ainsi qu'une réduction du nombre d'entrées dans les bras ouverts (Figure 7). De manière surprenante, une diminution du temps passé dans les bras ouverts et le centre a également été observée chez les souris mâles du groupe témoin. Toutefois, cette diminution ne diffère pas de manière significative de celle observée chez les souris mâles exprimant ChETA. Les observations relatives aux comportements anxieux dans les groupes témoins soulèvent des interrogations quant à l'impact de l'administration de lumière bleue sur le cerveau. Même en

l'absence d'opsine, la lumière bleue exerce des effets significatifs sur le SNC des souris. Son utilisation peut induire une élévation de la température tissulaire, susceptible de causer des lésions permanentes, d'altérer l'excitabilité neuronale et de favoriser la circulation sanguine dans ces régions (Christie et al., 2013; Peixoto et al., 2020; Rungta et al., 2017; Stujenske et al., 2015). De plus, elle peut stimuler l'expression de gènes régulateurs de l'activité neuronale, comme cFos, ainsi que des gènes anti-inflammatoires dans la microglie (Cheng et al., 2016; Tyssowski & Gray, 2019). Tous ces effets pourraient potentiellement influencer l'activité neuronale des souris témoins et impacter leur comportement.

Dans le SA, les souris femelles exprimant ChETA ont également présenté une augmentation de leur niveau d'anxiété, passant plus de temps dans la zone considérée comme sécuritaire (zone 1) par rapport aux zones aversives (2, 3 et 4) (Figure 8). De plus, les souris femelles exprimant ChETA ont montré une diminution plus prononcée de leur niveau d'exploration, reflétée par une réduction du nombre de transitions après la stimulation de la projection. Il est intéressant de noter que, dans ce test, les mâles des groupes témoins n'ont pas manifesté une augmentation des comportements d'évitement, contrairement à ce qui a été observé dans l'EPM, et ils ne présentaient toujours pas de différences par rapport aux mâles du groupe ChETA. En revanche, les souris femelles témoins semblent présenter une légère augmentation de leur comportement d'évitement. La disparité de comportement entre les femelles et les mâles des groupes témoins suggère la possibilité que l'expression des comportements anxieux puisse différer entre les sexes pour ces tests. Les paradigmes utilisés en recherche ont été établis et validés en utilisant presque exclusivement des souris mâles. Cependant, les mesures utilisées sont restées les mêmes entre les sexes pour établir une variation de comportement. Par exemple, lors des comportements de peur, la mesure couramment employée est l'évaluation du temps passé immobile, car les mâles adoptent une posture figée. Cependant, les femelles ont tendance à tenter de fuir, ce qui pourrait influencer l'interprétation des résultats. (Shansky & Murphy, 2021). La possibilité que la stratégie d'exploration dans le SA, ou même dans l'EPM, soit différente entre les femelles et les mâles n'est pas à exclure.

Le dimorphisme sexuel observé dans les comportements anxieux dans nos résultats concorde avec la disparité de prédisposition aux troubles anxieux entre les hommes et les femmes. La prévalence plus élevée de l'anxiété chez les femmes est bien documentée (Craske & Stein,

2016; Kessler et al., 2005, 2010), malgré l'exclusion fréquente des femmes, ou des modèles animaux féminins, dans la recherche clinique et fondamentale (Beery & Zucker, 2011). Par ailleurs, ces résultats pourraient aussi être expliqués par les différences hormonales entre les sexes. Les niveaux d'œstrogène semblent moduler les comportements de peur et d'anxiété chez les rongeurs via les récepteurs 5-HT_{1A} du MnR (T. G. C. S. de Andrade et al., 2017; T. G. C. S. Andrade et al., 2005). De plus, l'administration d'estradiol dans le MnR provoque des altérations dans l'innervation de l'hippocampe (Prange-Kiel et al., 2004), tandis que l'expression des gènes sérotoninergiques dans l'HPv fluctue en fonction du cycle œstral (Jaric et al., 2019). La concentration des hormones ovariennes fluctuent pendant le cycle œstral des femelles et influence les comportements anxieux des rongeurs (Jaric et al., 2019; Mora et al., 1996). Malheureusement, le stade du cycle menstruel n'a pas été pris en compte ou établi le jour de chaque test. Il aurait été pertinent de réaliser au moins une évaluation visuelle ou un prélèvement vaginal pour déterminer le stade du cycle œstral (Ajayi & Akhigbe, 2020). Au moins, le cycle œstral des souris a une durée de 4 à 5 jours, et les tests, réalisés à des intervalles de 48 heures, garantissent la couverture de différents stades pour chaque cohorte de souris.

5.5 La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv entraîne une augmentation de la fréquence des toilettages et une diminution des comportements exploratoires exclusivement chez les souris femelles

La quantification des comportements éthologiques pendant les tests d'anxiété a révélé une augmentation des comportements anxieux exclusivement chez les femelles ChETA (Figures 9 et 10). Ces souris femelles ChETA ont présenté une augmentation du nombre de toilettages et du temps consacré aux toilettages pendant l'EPM et le SA, ainsi qu'une diminution des comportements exploratoires suivant la stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv. Ces résultats suggèrent une augmentation générale du niveau d'anxiété des souris femelles ChETA. Il est important de souligner que l'interprétation des comportements éthologiques des rongeurs peut être sujette à ambiguïté et demeure controversée (Adamec et al., 2004; De Jesús-Burgos et al., 2012; Matsumoto et al., 2021; Rodgers & Cole, 1993). La segmentation des comportements tels que les redressements, les étirements et les plongées de tête en fonction de leur position dans les arènes aurait été pertinente pour savoir le niveau de risque associé à chaque comportement (Adamec et al., 2004). De même, le toilettage des rongeurs peut être augmenté tant dans des situations de stress

élevé que faible. Le toilettage de confort en situation de faible stress est un rituel spontané de soins corporels, tandis que le toilettage induit par le stress se caractérise par des rafales fréquentes de toilettage court et rapide (Kalueff & Tuohimaa, 2004, 2005). En revanche, aucune différence entre les groupes n'a été observée dans la durée de chaque toilettage. Il aurait été intéressant d'analyser d'autres caractéristiques du toilettage des souris, telles que la séquence et le nombre d'interruptions (Kalueff et al., 2016). En outre, plusieurs régions du système limbique, connectées à l'HPv, telles que l'hypothalamus, l'amygdale et le septum latéral, ont été identifiées comme des régulateurs des comportements de toilettage (Mu et al., 2020).

5.6 La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv entraîne une réduction de l'activité locomotrice

Puisque les neurones 5-HT du raphé, principalement du DR, sont impliqués dans la modulation de la locomotion des rongeurs (Correia et al., 2017; Ohmura et al., 2014; Seo et al., 2019; Teissier et al., 2015), l'activité locomotrice des souris a été évaluée. Au cours du test de l'OF, les souris femelles et mâles exprimant ChETA ont présenté une diminution de l'activité locomotrice suivant l'activation de la projection 5-HT raphé-HPv, illustrée par une réduction de la distance parcourue, de la vitesse, du nombre d'épisodes de course, et du temps passé à courir, accompagnée d'une augmentation du temps passé immobile (Figure 11). L'analyse de la spécificité de l'expression virale, détaillée dans le mémoire de Félix, indique que très peu de neurones 5-HT co-expriment eYFP dans le noyau DR. Cependant, la modulation de l'activité locomotrice est associée à la stimulation du DR, et non du noyau du MnR (Ohmura et al., 2014). Nos résultats suggèrent que cette petite sous-population de neurones 5-HT projetant à l'HPv pourrait être suffisante pour influencer l'activité locomotrice des souris.

Dans les tests d'anxiété, suite à la stimulation de la voie 5-HT du raphé projetant à l'HPv, tous les groupes de souris ont présenté une réduction de leur activité locomotrice, évaluée par la distance totale parcourue et la vitesse moyenne de déplacement (Figures 13 et 14). Bien que cette réduction semble légèrement plus marquée chez les femelles exprimant ChETA, elle ne semble pas suffire à expliquer nos résultats dans la modulation des tests anxieux, étant donné que tous les groupes ont montré une réduction de la locomotion. De plus, la diminution plus importante chez les femelles ChETA pourrait être attribué à l'augmentation de la fréquence de toilettage pendant la

photo-stimulation, un comportement statique. Une analyse plus approfondie de la locomotion, incluant le temps passé immobile, serait pertinente pour ces tests.

5.7 La stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv pendant un test d'anxiété augmente l'expression du marqueur d'activité neuronal c-Fos dans les sous-régions du raphé de manière dépendante au sexe

Pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents au dimorphisme sexuel observé dans les comportements anxieux dans nos résultats, une quantification du marqueur d'activation c-Fos a été réalisée. Il est crucial de noter que bien que les gènes immédiats précoces, tels que c-Fos, soient des outils précieux pour évaluer l'activation neuronale, leur utilisation comporte plusieurs limites. Par exemple, l'activation neuronale ne conduit pas toujours à l'expression de ces gènes, et inversement, l'expression de c-Fos peut résulter de facteurs autres que le test comportemental ou la stimulation. De plus, la fenêtre temporelle pour détecter c-Fos est souvent très restreinte et certaines régions cérébrales présentant une expression décalée ou prolongée des gènes immédiats précoces. Cette technique permet simplement d'évaluer la présence ou l'absence de c-Fos sans tenir compte du niveau exact d'expression. Enfin, les neurones actifs de manière chronique peuvent ne pas nécessairement exprimer c-Fos (Cullinan et al., 1995; Hudson, 2018; Kovács, 2008; Lara Aparicio et al., 2022; McReynolds et al., 2018). Les souris ont été sacrifiées 70 minutes après le test d'anxiété, pour permettre l'expression de c-Fos, et un triple marquage immunohistochimique pour c-Fos, eYFP et TpH2 a été effectué (Figure 15). Les souris mâles et femelles ChETA, par rapport à leurs témoins respectifs, ont montré une expression significativement plus élevée de c-Fos dans les noyaux du B9, du DR et du DRI. Cependant, les femelles ChETA ont également présenté une augmentation significative de l'expression de c-Fos dans les noyaux du MnR, du PMnR, ainsi que dans l'IP. Diverses études mettent en avant le rôle du MnR dans la modulation des comportements anxieux (T. G. Andrade & Graeff, 2001; Konno et al., 2007; Ohmura et al., 2014). L'IP a également été suggéré comme un noyau influençant les comportements d'évitement (Hammer & Klingberg, 1990). De manière intéressante, une étude exclusivement réalisée avec des mâles indique que l'inhibition de la voie IP-HPv ne semble pas avoir d'impact sur les comportements anxieux dans un paradigme d'EPM (Sherafat et al., 2020). Par conséquent, ces résultats indiquent que les neurones 5-HT du MnR, PMnR, et de l'IP projetant vers l'HPv pourraient moduler les comportements anxieux, spécifiquement chez les femelles.

6 Perspectives

6.1 Électrophysiologie

Les résultats liés à l'expression du marqueur d'activité neuronale c-Fos suggèrent une piste intéressante pour expliquer le dimorphisme sexuel observé dans les comportements anxieux. Une approche pertinente serait d'enregistrer *in vitro* les neurones 5-HT-vHP provenant des différents noyaux du raphé, dans des coupes de cerveau issues de mâles et de femelles, ChETA et eYFP. Cette expérience permettrait d'explorer d'éventuels changements dans les propriétés électrophysiologiques, qu'ils soient au niveau basal (eYFP) ou résultant de l'activation de la projection, et qui pourraient être associés à ces variations sexuelles dans les comportements d'anxiété.

Par ailleurs, une expérience préliminaire, décrite dans le mémoire d'Alice Gravel-Chouinard, indique que l'activation des neurones 5-HT du raphé à l'HPv semble réduire la fréquence du rythme thêta, une oscillation connue pour son implication dans la modulation de l'anxiété et influencée par le cycle œstral. Il serait judicieux de poursuivre cette expérience en comparant les effets de la stimulation sur les caractéristiques du rythme thêta entre les mâles et les femelles lors des tests d'anxiété.

6.2 Inhibition

L'activation des neurones 5-HT induit des effets intéressants sur les comportements anxieux, ce qui pourrait être complété par des études d'inhibition. Ces études pourraient être menées en utilisant l'opsine inhibitrice Arch, une pompe à proton hyperpolarisant les neurones lorsqu'elle est activée par une lumière verte. Ces expériences pourraient permettre d'évaluer si les effets sont inversés lors de l'inhibition, par exemple, si le blocage des neurones 5-HT du raphé projetant vers l'HPv entraîne une diminution des comportements anxieux chez les femelles. Il serait également pertinent de déterminer si l'absence d'effet observée lors de l'activation chez les mâles représente un effet plateau. Les mêmes paradigmes pour évaluer les comportements anxieux et l'activité locomotrice pourraient être répétées tout en inhibant la projection 5-HT raphé-HPv.

6.3 Mécanismes post-synaptiques

Les récepteurs postsynaptiques 5-HT_{1A} et 5-HT_{2C} semblent exercer une influence significative dans la modulation des comportements anxieux associés à l'HPv. Il serait pertinent d'administrer un antagoniste spécifique à chaque récepteur avant un test d'anxiété où la projection 5-HT raphé-HPv est photo-stimulée, afin d'évaluer si cela abolissait l'augmentation des comportements anxieux chez les femelles.

6.4 Pharmacologie

Les SSRI semblent démontrer un effet thérapeutique plus prononcé chez les femmes que chez les hommes (Sramek et al., 2016). L'administration de fluoxétine, par exemple, avant un test d'anxiété avec la stimulation de la projection 5-HT raphé-HPv, pourrait être une approche intéressante. Ces médicaments pourraient potentiellement inverser l'augmentation des comportements anxieux chez les souris femelles et induire un effet anxiolytique.

7 Conclusion

En conclusion, les travaux de ce projet de maîtrise auront permis d'approfondir la compréhension du rôle de la voie 5-HT du raphé projetant à l'HPv dans la modulation des comportements anxieux selon le sexe. Les résultats obtenus démontrent que l'activation optogénétique de la projection 5-HT du raphé à l'HPv pendant des tests d'anxiété augmente les comportements d'évitement, exclusivement chez les femelles. Parallèlement, les femelles manifestent une augmentation de la fréquence de toilettages et une diminution de la fréquence des redressements, suggérant une augmentation globale du niveau d'anxiété. L'activation de la projection semble également réduire l'activité locomotrice, indépendamment du sexe. Finalement, l'activation optogénétique de la projection 5-HT raphé-HPv pendant un test d'anxiété révèle que les noyaux du B9, du DR et du DRI sont sollicités pour les mâles et les femelles, tandis que, le dimorphisme sexuel dans les comportements d'anxiété pourrait être expliqué par l'activation spécifique des noyaux du MnR, du PMnR et de l'IP chez les femmes. De futures expériences seront nécessaires pour approfondir les mécanismes sous-jacents au dimorphisme sexuel dans les comportements anxieux modulés par la projection 5-HT du raphé à l'HPv.

Références bibliographiques

- Adamec, R., Blundell, J., & Burton, P. (2004). Anxiolytic effects of kindling role of anatomical location of the kindling electrode in response to kindling of the right basolateral amygdala. *Brain Research, 1024*(1), 44-58. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.06.074>
- Adhikari, A. (2014). Distributed circuits underlying anxiety. *Frontiers in Behavioral Neuroscience, 8*, 112. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00112>
- Adhikari, A., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2010). Synchronized Activity between the Ventral Hippocampus and the Medial Prefrontal Cortex during Anxiety. *Neuron, 65*(2), 257-269. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.12.002>
- Adhikari, A., Topiwala, M. A., & Gordon, J. A. (2011). Single Units in the Medial Prefrontal Cortex with Anxiety-Related Firing Patterns Are Preferentially Influenced by Ventral Hippocampal Activity. *Neuron, 71*(5), 898-910. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.07.027>
- Ajayi, A. F., & Akhigbe, R. E. (2020). Staging of the estrous cycle and induction of estrus in experimental rodents: An update. *Fertility Research and Practice, 6*(1), 5. <https://doi.org/10.1186/s40738-020-00074-3>
- Albert, K., Pruessner, J., & Newhouse, P. (2015). Estradiol levels modulate brain activity and negative responses to psychosocial stress across the menstrual cycle. *Psychoneuroendocrinology, 59*, 14-24. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.04.022>
- Alheid, G. F., Beltramino, C. A., De Olmos, J. S., Forbes, M. S., Swanson, D. J., & Heimer, L. (1998). The neuronal organization of the supracapsular part of the stria terminalis in the rat: The dorsal component of the extended amygdala. *Neuroscience, 84*(4), 967-996. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(97\)00560-5](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(97)00560-5)
- Alheid, G. F., & Heimer, L. (1988). New perspectives in basal forebrain organization of special relevance for neuropsychiatric disorders: The striatopallidal, amygdaloid, and corticopetal components of substantia innominata. *Neuroscience, 27*(1), 1-39. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90217-5](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90217-5)
- Altemus, M. (2006). Sex differences in depression and anxiety disorders: Potential biological determinants. *Hormones and Behavior, 50*(4), 534-538. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2006.06.031>
- Alves, S. E., Mcewen, B. S., Hayashi, S., Korach, K. S., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. (2000).

- Estrogen-regulated progesterin receptors are found in the midbrain raphe but not hippocampus of estrogen receptor alpha (ER α) gene-disrupted mice. *Journal of Comparative Neurology*, 427(2), 185-195. [https://doi.org/10.1002/1096-9861\(20001113\)427:2<185::AID-CNE2>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1096-9861(20001113)427:2<185::AID-CNE2>3.0.CO;2-G)
- Alves, S. E., Weiland, N. G., Hayashi, S., & McEwen, B. S. (1998). Immunocytochemical localization of nuclear estrogen receptors and progesterin receptors within the rat dorsal raphe nucleus. *The Journal of Comparative Neurology*, 391(3), 322-334.
- Alves, S. H., Pinheiro, G., Motta, V., Landeira-Fernandez, J., & Cruz, A. P. M. (2004). Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT_{2C} agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behavioural Pharmacology*, 15(1), 37.
- Amano, T., Duvarci, S., Popa, D., & Paré, D. (2011). The fear circuit revisited : Contributions of the basal amygdala nuclei to conditioned fear. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(43), 15481-15489. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3410-11.2011>
- Ammar, G., Naja, W. J., & Pelissolo, A. (2015). Troubles anxieux résistants : Revue des stratégies de traitements médicamenteux. *L'Encéphale*, 41(3), 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.encep.2013.11.002>
- Andersen, P., Bliss, T. V. P., & Skrede, K. K. (1971). Lamellar organization of hippocampal excitatory pathways. *Experimental Brain Research*, 13(2), 222-238. <https://doi.org/10.1007/BF00234087>
- Anderson, I. (2006). The new guidelines from the British Association for Psychopharmacology for anxiety disorders. *International Journal of Psychiatry in Clinical Practice*, 10(sup3), 10-17. <https://doi.org/10.1080/13651500600933984>
- Andrade, T. G. C. S. de, Silva, J. V. dos S., Batistela, M. F., Frei, F., & Sant'Ana, A. B. (2017). Interaction between estradiol and 5-HT_{1A} receptors in the median raphe nucleus on acquisition of aversive information and association to the context in ovariectomized rats. *Neurobiology of Stress*, 7, 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2017.05.003>
- Andrade, T. G. C. S., Avanzi, V., & Graeff, F. G. (2009). Effect of estradiol benzoate microinjection into the median raphe nucleus on contextual conditioning. *Behavioural Brain Research*, 204(1), 112-116. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.05.029>
- Andrade, T. G. C. S., Nakamuta, J. S., Avanzi, V., & Graeff, F. G. (2005). Anxiolytic effect of

- estradiol in the median raphe nucleus mediated by 5-HT1A receptors. *Behavioural Brain Research*, 163(1), 18-25. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.04.015>
- Andrade, T. G., & Graeff, F. G. (2001). Effect of electrolytic and neurotoxic lesions of the median raphe nucleus on anxiety and stress. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 70(1), 1-14. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(01\)00512-3](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00512-3)
- Angoa-Pérez, M., Kane, M. J., Briggs, D. I., Sykes, C. E., Shah, M. M., Francescutti, D. M., Rosenberg, D. R., Thomas, D. M., & Kuhn, D. M. (2012). Genetic depletion of brain 5HT reveals a common molecular pathway mediating compulsivity and impulsivity. *Journal of Neurochemistry*, 121(6), 974-984. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07739.x>
- Arélin, K., Mueller, K., Barth, C., Rekkas, P. V., Kratzsch, J., Burmann, I., Villringer, A., & Sacher, J. (2015). Progesterone mediates brain functional connectivity changes during the menstrual cycle-a pilot resting state MRI study. *Frontiers in Neuroscience*, 9, 44. <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00044>
- Artigas, F., Bortolozzi, A., & Celada, P. (2018). Can we increase speed and efficacy of antidepressant treatments? Part I: General aspects and monoamine-based strategies. *European Neuropsychopharmacology*, 28(4), 445-456. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2017.10.032>
- Azmitia, E. C. (2020). Evolution of serotonin : Sunlight to suicide. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 3-22). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00001-3>
- Azmitia, E. C., & Segal, M. (1978). An autoradiographic analysis of the differential ascending projections of the dorsal and median raphe nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 179(3), 641-667. <https://doi.org/10.1002/cne.901790311>
- Badarnee, M., Wen, Z., Nassar, N., & Milad, M. R. (2023). Gray matter associations with extinction-induced neural activation in patients with anxiety disorders. *Journal of Psychiatric Research*, 162, 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2023.05.015>
- Bandelow, B., Michaelis, S., & Wedekind, D. (2017). Treatment of anxiety disorders. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 19(2), 93-107. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.2/bbandelow>
- Bannerman, D. M., Deacon, R. M. J., Offen, S., Friswell, J., Grubb, M., & Rawlins, J. N. P. (2002). Double dissociation of function within the hippocampus: Spatial memory and

- hyponeophagia. *Behavioral Neuroscience*, 116(5), 884-901. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.116.5.884>
- Bannerman, D. M., Grubb, M., Deacon, R. M. J., Yee, B. K., Feldon, J., & Rawlins, J. N. P. (2003). Ventral hippocampal lesions affect anxiety but not spatial learning. *Behavioural Brain Research*, 139(1-2), 197-213. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(02\)00268-1](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(02)00268-1)
- Bannerman, D. M., Yee, B. K., Good, M. A., Heupel, M. J., Iversen, S. D., & Rawlins, J. N. (1999). Double dissociation of function within the hippocampus : A comparison of dorsal, ventral, and complete hippocampal cytotoxic lesions. *Behavioral Neuroscience*, 113(6), 1170-1188. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.113.6.1170>
- Beaulieu, J.-M., Zhang, X., Rodriguiz, R. M., Sotnikova, T. D., Cools, M. J., Wetsel, W. C., Gainetdinov, R. R., & Caron, M. G. (2008). Role of GSK3 β in behavioral abnormalities induced by serotonin deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(4), 1333-1338. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711496105>
- Becker, J. B., Prendergast, B. J., & Liang, J. W. (2016). Female rats are not more variable than male rats : A meta-analysis of neuroscience studies. *Biology of Sex Differences*, 7, 34. <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>
- Beery, A. K., & Zucker, I. (2011). Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(3), 565-572. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.07.002>
- Behzadi, G., Kalén, P., Parvopassu, F., & Wiklund, L. (1990). Afferents to the median raphe nucleus of the rat : Retrograde cholera toxin and wheat germ conjugated horseradish peroxidase tracing, and selective D-[3H]aspartate labelling of possible excitatory amino acid inputs. *Neuroscience*, 37(1), 77-100. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(90\)90194-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(90)90194-9)
- Bekker, M. H. J., & van Mens-Verhulst, J. (2007). Anxiety disorders : Sex differences in prevalence, degree, and background, but gender-neutral treatment. *Gender Medicine*, 4 Suppl B, S178-193. [https://doi.org/10.1016/s1550-8579\(07\)80057-x](https://doi.org/10.1016/s1550-8579(07)80057-x)
- Berger, M., Gray, J. A., & Roth, B. L. (2009). The expanded biology of serotonin. *Annual Review of Medicine*, 60, 355-366. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.60.042307.110802>
- Berger, S. M., Weber, T., Perreau-Lenz, S., Vogt, M. A., Gartside, S. E., Maser-Gluth, C., Lanfumey, L., Gass, P., Spanagel, R., & Bartsch, D. (2012). A Functional Tph2 C1473G Polymorphism Causes an Anxiety Phenotype via Compensatory Changes in the

- Serotonergic System. *Neuropsychopharmacology*, 37(9), Article 9.
<https://doi.org/10.1038/npp.2012.46>
- Berndt, A., Schoenenberger, P., Mattis, J., Tye, K. M., Deisseroth, K., Hegemann, P., & Oertner, T. G. (2011). High-efficiency channelrhodopsins for fast neuronal stimulation at low light levels. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(18), 7595-7600.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1017210108>
- Berumen, L. C., Rodríguez, A., Miledi, R., & García-Alcocer, G. (2012). Serotonin Receptors in Hippocampus. *The Scientific World Journal*, 2012, 823493.
<https://doi.org/10.1100/2012/823493>
- Bianco, I. H., & Wilson, S. W. (2008). The habenular nuclei : A conserved asymmetric relay station in the vertebrate brain. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1519), 1005-1020. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0213>
- Blanchard, D. C. (2017). Translating dynamic defense patterns from rodents to people. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 76, 22-28.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.11.001>
- Blanchard, D. C., & Blanchard, R. J. (2008). Chapter 2.4 Defensive behaviors, fear, and anxiety. In R. J. Blanchard, D. C. Blanchard, G. Griebel, & D. Nutt (Éds.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 17, p. 63-79). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1569-7339\(07\)00005-7](https://doi.org/10.1016/S1569-7339(07)00005-7)
- Boehme, S., Ritter, V., Tefikow, S., Stangier, U., Strauss, B., Miltner, W. H. R., & Straube, T. (2014). Brain activation during anticipatory anxiety in social anxiety disorder. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 9(9), 1413-1418.
<https://doi.org/10.1093/scan/nst129>
- Bossini, L., Tavanti, M., Calossi, S., Lombardelli, A., Polizzotto, N. R., Galli, R., Vatti, G., Pieraccini, F., & Castrogiovanni, P. (2008). Magnetic resonance imaging volumes of the hippocampus in drug-naïve patients with post-traumatic stress disorder without comorbidity conditions. *Journal of Psychiatric Research*, 42(9), 752-762.
<https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2007.08.004>
- Bourin, M. (2015). Animal models for screening anxiolytic-like drugs : A perspective. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 17(3), 295-303.
<https://doi.org/10.31887/DCNS.2015.17.3/mbourin>

- Bourin, M., Petit-Demoulière, B., Nic Dhonnchadha, B., & Hascöet, M. (2007). Animal models of anxiety in mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 21(6), 567-574. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2007.00526.x>
- Bouton, M. E., & Bolles, R. C. (1980). Conditioned fear assessed by freezing and by the suppression of three different baselines. *Animal Learning & Behavior*, 8(3), 429-434. <https://doi.org/10.3758/BF03199629>
- Bozzi, Y., Maddaloni, G., & Pasqualetti, M. (2020). Serotonin in seizures and epilepsy: A neurodevelopmental perspective. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 981-988). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00051-7>
- Bredewold, R., Smith, C. J. W., Dumais, K. M., & Veenema, A. H. (2014). Sex-specific modulation of juvenile social play behavior by vasopressin and oxytocin depends on social context. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8, 216. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00216>
- Breslau, N. (2009). The epidemiology of trauma, PTSD, and other posttrauma disorders. *Trauma, Violence & Abuse*, 10(3), 198-210. <https://doi.org/10.1177/1524838009334448>
- Brinkmann, L., Buff, C., Feldker, K., Tupak, S. V., Becker, M. P. I., Herrmann, M. J., & Straube, T. (2017). Distinct phasic and sustained brain responses and connectivity of amygdala and bed nucleus of the stria terminalis during threat anticipation in panic disorder. *Psychological Medicine*, 47(15), 2675-2688. <https://doi.org/10.1017/S0033291717001192>
- Bryant, R. A., Kemp, A. H., Felmingham, K. L., Liddell, B., Olivieri, G., Peduto, A., Gordon, E., & Williams, L. M. (2008). Enhanced amygdala and medial prefrontal activation during nonconscious processing of fear in posttraumatic stress disorder: An fMRI study. *Human Brain Mapping*, 29(5), 517-523. <https://doi.org/10.1002/hbm.20415>
- Buff, C., Brinkmann, L., Bruchmann, M., Becker, M. P. I., Tupak, S., Herrmann, M. J., & Straube, T. (2017). Activity alterations in the bed nucleus of the stria terminalis and amygdala during threat anticipation in generalized anxiety disorder. *Social Cognitive and Affective Neuroscience*, 12(11), 1766-1774. <https://doi.org/10.1093/scan/nsx103>
- Buff, C., Schmidt, C., Brinkmann, L., Gathmann, B., Tupak, S., & Straube, T. (2018). Directed threat imagery in generalized anxiety disorder. *Psychological Medicine*, 48(4), 617-628. <https://doi.org/10.1017/S0033291717001957>
- Burwell, R. D. (2000). The parahippocampal region: Corticocortical connectivity. *Annals of the*

- New York Academy of Sciences*, 911, 25-42. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06717.x>
- Butler, R. K., White, L. C., Frederick-Duus, D., Kaigler, K. F., Fadel, J. R., & Wilson, M. A. (2012). Comparison of the activation of somatostatin- and neuropeptide Y-containing neuronal populations of the rat amygdala following two different anxiogenic stressors. *Experimental Neurology*, 238(1), 52-63. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2012.08.002>
- Cadogan, A. K., Kendall, D. A., Fink, H., & Marsden, C. A. (1994). Social interaction increases 5-HT release and cAMP efflux in the rat ventral hippocampus in vivo. *Behavioural Pharmacology*, 5(3), 299-305. <https://doi.org/10.1097/00008877-199406000-00007>
- Calhoun, G. G., & Tye, K. M. (2015). Resolving the neural circuits of anxiety. *Nature Neuroscience*, 18(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/nn.4101>
- Canteras, N. S., & Swanson, L. W. (1992). Projections of the ventral subiculum to the amygdala, septum, and hypothalamus : A PHAL anterograde tract-tracing study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 324(2), 180-194. <https://doi.org/10.1002/cne.903240204>
- Carvalho, M. C., Moreira, C. M., Zanoveli, J. M., & Brandão, M. L. (2012). Central, but not basolateral, amygdala involvement in the anxiolytic-like effects of midazolam in rats in the elevated plus maze. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 26(4), 543-554. <https://doi.org/10.1177/0269881110389209>
- Cazalets, J. R., Sqalli-Houssaini, Y., & Clarac, F. (1992). Activation of the central pattern generators for locomotion by serotonin and excitatory amino acids in neonatal rat. *The Journal of Physiology*, 455(1), 187-204. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1992.sp019296>
- Cenquizca, L. A., & Swanson, L. W. (2007). Spatial organization of direct hippocampal field CA1 axonal projections to the rest of the cerebral cortex. *Brain Research Reviews*, 56(1), 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.05.002>
- Chen, Y., Hu, N., Yang, J., & Gao, T. (2022). Prefrontal cortical circuits in anxiety and fear : An overview. *Frontiers of Medicine*, 16(4), 518-539. <https://doi.org/10.1007/s11684-022-0941-2>
- Cheng, K. P., Kiernan, E. A., Eliceiri, K. W., Williams, J. C., & Watters, J. J. (2016). Blue Light Modulates Murine Microglial Gene Expression in the Absence of Optogenetic Protein Expression. *Scientific Reports*, 6(1), 21172. <https://doi.org/10.1038/srep21172>
- Chocyk, A., Majcher-Maślanka, I., Dudys, D., Przyborowska, A., & Wędzony, K. (2013). Impact

- of early-life stress on the medial prefrontal cortex functions – a search for the pathomechanisms of anxiety and mood disorders. *Pharmacological Reports*, 65(6), 1462-1470. [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(13\)71506-8](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(13)71506-8)
- Christie, I. N., Wells, J. A., Southern, P., Marina, N., Kasparov, S., Gourine, A. V., & Lythgoe, M. F. (2013). fMRI response to blue light delivery in the naïve brain : Implications for combined optogenetic fMRI studies. *NeuroImage*, 66, 634-641. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2012.10.074>
- Ciocchi, S., Herry, C., Grenier, F., Wolff, S. B. E., Letzkus, J. J., Vlachos, I., Ehrlich, I., Sprengel, R., Deisseroth, K., Stadler, M. B., Müller, C., & Lüthi, A. (2010). Encoding of conditioned fear in central amygdala inhibitory circuits. *Nature*, 468(7321), Article 7321. <https://doi.org/10.1038/nature09559>
- Clauss, J. (2019). Extending the neurocircuitry of behavioural inhibition : A role for the bed nucleus of the stria terminalis in risk for anxiety disorders. *General Psychiatry*, 32(6), e100137. <https://doi.org/10.1136/gpsych-2019-100137>
- Clauss, J. A., Avery, S. N., Benningfield, M. M., & Blackford, J. U. (2019). Social anxiety is associated with BNST response to unpredictability. *Depression and Anxiety*, 36(8), 666-675. <https://doi.org/10.1002/da.22891>
- Colgin, L. L. (2013). Mechanisms and functions of theta rhythms. *Annual Review of Neuroscience*, 36, 295-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-062012-170330>
- Colgin, L. L. (2016). Rhythms of the hippocampal network. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.21>
- Commons, K. G. (2015). Two major network domains in the dorsal raphe nucleus. *Journal of Comparative Neurology*, 523(10), 1488-1504. <https://doi.org/10.1002/cne.23748>
- Corcoran, K. A., & Quirk, G. J. (2007). Activity in Prelimbic Cortex Is Necessary for the Expression of Learned, But Not Innate, Fears. *Journal of Neuroscience*, 27(4), 840-844. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5327-06.2007>
- Correia, P. A., Lottem, E., Banerjee, D., Machado, A. S., Carey, M. R., & Mainen, Z. F. (2017). Transient inhibition and long-term facilitation of locomotion by phasic optogenetic activation of serotonin neurons. *eLife*, 6, e20975. <https://doi.org/10.7554/eLife.20975>
- Craske, M. G., & Stein, M. B. (2016). Anxiety. *Lancet (London, England)*, 388(10063), 3048-3059. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30381-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30381-6)

- Crawley, J. N. (1981). Neuropharmacologic specificity of a simple animal model for the behavioral actions of benzodiazepines. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 15(5), 695-699. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(81\)90007-1](https://doi.org/10.1016/0091-3057(81)90007-1)
- Cui, H., Zhang, J., Liu, Y., Li, Q., Li, H., Zhang, L., Hu, Q., Cheng, W., Luo, Q., Li, J., Li, W., Wang, J., Feng, J., Li, C., & Northoff, G. (2016). Differential alterations of resting-state functional connectivity in generalized anxiety disorder and panic disorder. *Human Brain Mapping*, 37(4), 1459-1473. <https://doi.org/10.1002/hbm.23113>
- Cui, J., Shen, Y., & Li, R. (2013). Estrogen synthesis and signaling pathways during aging : From periphery to brain. *Trends in Molecular Medicine*, 19(3), 197-209. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2012.12.007>
- Cullinan, W. E., Herman, J. P., Battaglia, D. F., Akil, H., & Watson, S. J. (1995). Pattern and time course of immediate early gene expression in rat brain following acute stress. *Neuroscience*, 64(2), 477-505. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(94\)00355-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(94)00355-9)
- Czerniawski, J., Yoon, T., & Otto, T. (2009). Dissociating space and trace in dorsal and ventral hippocampus. *Hippocampus*, 19(1), 20-32. <https://doi.org/10.1002/hipo.20469>
- Dahlstroem, A., & Fuxe, K. (1964). EVIDENCE FOR THE EXISTENCE OF MONOAMINE-CONTAINING NEURONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. I. DEMONSTRATION OF MONOAMINES IN THE CELL BODIES OF BRAIN STEM NEURONS. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, SUPPL 232:1-55.
- Dale, E., Pehrson, A. L., Jeyarajah, T., Li, Y., Leiser, S. C., Smagin, G., Olsen, C. K., & Sanchez, C. (2016). Effects of serotonin in the hippocampus : How SSRIs and multimodal antidepressants might regulate pyramidal cell function. *CNS Spectrums*, 21(2), 143-161. <https://doi.org/10.1017/S1092852915000425>
- D'Aquila, P. S., Peana, A. T., Carboni, V., & Serra, G. (2000). Exploratory behaviour and grooming after repeated restraint and chronic mild stress : Effect of desipramine. *European Journal of Pharmacology*, 399(1), 43-47. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00332-0](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00332-0)
- David, A., & Pierre, L. (2006). Hippocampal Neuroanatomy. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Éds.), *The Hippocampus Book* (p. 0). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195100273.003.0003>
- De Almeida, R. M., Giovenardi, M., Charchat, H., & Lucion, A. B. (1998). 8-OH-DPAT in the median raphe nucleus decreases while in the medial septal area it may increase anxiety in

- female rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 23(2), 259-264.
[https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(98\)00026-8](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(98)00026-8)
- De Jesús-Burgos, M., Torres-Llenza, V., & Pérez-Acevedo, N. L. (2012). Activation of amygdalar metabotropic glutamate receptors modulates anxiety, and risk assessment behaviors in ovariectomized estradiol-treated female rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 101(3), 369-378. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.01.016>
- Deacon, R. M. J. (2013). The Successive Alleys Test of Anxiety in Mice and Rats. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 76. <https://doi.org/10.3791/2705>
- Deacon, R. M. J., Penny, C., & Rawlins, J. N. P. (2003). Effects of medial prefrontal cortex cytotoxic lesions in mice. *Behavioural Brain Research*, 139(1), 139-155. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(02\)00225-5](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(02)00225-5)
- Dedovic, K., Duchesne, A., Andrews, J., Engert, V., & Pruessner, J. C. (2009). The brain and the stress axis : The neural correlates of cortisol regulation in response to stress. *NeuroImage*, 47(3), 864-871. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.05.074>
- Delchev, S., Georgieva, K., Delchev, S., & Georgieva, K. (2017). Cellular and Molecular Mechanisms of the Effects of Sex Hormones on the Nervous System. In *Sex Hormones in Neurodegenerative Processes and Diseases*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.71140>
- DeMartini, J., Patel, G., & Fancher, T. L. (2019). Generalized Anxiety Disorder. *Annals of Internal Medicine*, 170(7), ITC49-ITC64. <https://doi.org/10.7326/AITC201904020>
- Ding, Y.-Q., Marklund, U., Yuan, W., Yin, J., Wegman, L., Ericson, J., Deneris, E., Johnson, R. L., & Chen, Z.-F. (2003). *Lmx1b* is essential for the development of serotonergic neurons. *Nature Neuroscience*, 6(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/nn1104>
- Dolorfo, C. L., & Amaral, D. G. (1998). Entorhinal cortex of the rat : Organization of intrinsic connections. *The Journal of Comparative Neurology*, 398(1), 49-82. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19980817\)398:1<49::aid-cne4>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19980817)398:1<49::aid-cne4>3.0.co;2-9)
- Du, C. X., Guo, Y., Zhang, Q. J., Zhang, J., Lv, S. X., & Liu, J. (2018). Involvement of prelimbic 5-HT7 receptors in the regulation of anxiety-like behaviors in hemiparkinsonian rats. *Neurological Research*, 40(10), 847-855. <https://doi.org/10.1080/01616412.2018.1493962>
- Duchesne, A., Dufresne, M. M., & Sullivan, R. M. (2009). Sex differences in corticolimbic dopamine and serotonin systems in the rat and the effect of postnatal handling. *Progress in*

- Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33(2), 251-261.
<https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2008.11.012>
- Duman, C. H., & Duman, R. S. (2015). Spine synapse remodeling in the pathophysiology and treatment of depression. *Neuroscience letters*, 601, 20-29.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.01.022>
- Duvarci, S., Bauer, E. P., & Paré, D. (2009). The Bed Nucleus of the Stria Terminalis Mediates Inter-individual Variations in Anxiety and Fear. *Journal of Neuroscience*, 29(33), 10357-10361. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2119-09.2009>
- Eichenbaum, H. (1997). Declarative memory: Insights from cognitive neurobiology. *Annual Review of Psychology*, 48, 547-572. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.48.1.547>
- Eichenbaum, H. (2000). A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 1(1), 41-50. <https://doi.org/10.1038/35036213>
- Fanselow, M. S. (1986). Associative vs topographical accounts of the immediate shock-freezing deficit in rats: Implications for the response selection rules governing species-specific defensive reactions. *Learning and Motivation*, 17(1), 16-39. [https://doi.org/10.1016/0023-9690\(86\)90018-4](https://doi.org/10.1016/0023-9690(86)90018-4)
- Fanselow, M. S. (1990). Factors governing one-trial contextual conditioning. *Animal Learning & Behavior*, 18(3), 264-270. <https://doi.org/10.3758/BF03205285>
- Fanselow, M. S., & Dong, H.-W. (2010). Are the Dorsal and Ventral Hippocampus Functionally Distinct Structures? *Neuron*, 65(1), 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>
- Feola, B., Flook, E. A., Gardner, H., Phan, K. L., Gwirtsman, H., Olatunji, B., & Blackford, J. U. (2023). Altered bed nucleus of the stria terminalis and amygdala responses to threat in combat veterans with posttraumatic stress disorder. *Journal of Traumatic Stress*, 36(2), 359-372. <https://doi.org/10.1002/jts.22918>
- Filip, M., & Bader, M. (2009). Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacological Reports: PR*, 61(5), 761-777. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(09\)70132-x](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(09)70132-x)
- Flaive, A., Fougère, M., van der Zouwen, C. I., & Ryczko, D. (2020). Serotonergic Modulation of Locomotor Activity From Basal Vertebrates to Mammals. *Frontiers in Neural Circuits*, 14. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncir.2020.590299>
- Fortin-Houde, J., Henderson, F., Dumas, S., Ducharme, G., & Amilhon, B. (2023). Parallel streams

- of raphe VGLUT3-positive inputs target the dorsal and ventral hippocampus in each hemisphere. *Journal of Comparative Neurology*, 531(7), 702-719. <https://doi.org/10.1002/cne.25452>
- Fowler, C. D., Lu, Q., Johnson, P. M., Marks, M. J., & Kenny, P. J. (2011). Habenular $\alpha 5$ nicotinic receptor subunit signalling controls nicotine intake. *Nature*, 471(7340), 597-601. <https://doi.org/10.1038/nature09797>
- Fox, A. S., Oler, J. A., Tromp, D. P. M., Fudge, J. L., & Kalin, N. H. (2015). Extending the amygdala in theories of threat processing. *Trends in Neurosciences*, 38(5), 319-329. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2015.03.002>
- Freund, T. F. (1992). GABAergic septal and serotonergic median raphe afferents preferentially innervate inhibitory interneurons in the hippocampus and dentate gyrus. *Epilepsy Research. Supplement*, 7, 79-91.
- Freund, T. F., Gulyás, A. I., Acsády, L., Görcs, T., & Tóth, K. (1990). Serotonergic control of the hippocampus via local inhibitory interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(21), 8501-8505. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.21.8501>
- Frey, B. N., Andreazza, A. C., Nery, F. G., Martins, M. R., Quevedo, J., Soares, J. C., & Kapczinski, F. (2007). The role of hippocampus in the pathophysiology of bipolar disorder. *Behavioural Pharmacology*, 18(5-6), 419-430. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282df3cde>
- Friedel, E., & Heinz, A. (2020). Genetic, epigenetic, and environmental factors in serotonin-associated disease condition. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 923-940). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00047-5>
- Frodl, T., Bokde, A. L. W., Scheuerecker, J., Lisiecka, D., Schoepf, V., Hampel, H., Möller, H.-J., Brückmann, H., Wiesmann, M., & Meisenzahl, E. (2010). Functional connectivity bias of the orbitofrontal cortex in drug-free patients with major depression. *Biological Psychiatry*, 67(2), 161-167. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.08.022>
- Frodl, T., Meisenzahl, E. M., Zetsche, T., Born, C., Groll, C., Jäger, M., Leinsinger, G., Bottlender, R., Hahn, K., & Möller, H.-J. (2002). Hippocampal Changes in Patients With a First Episode of Major Depression. *American Journal of Psychiatry*, 159(7), 1112-1118. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.7.1112>
- Fu, W., Le Maître, E., Fabre, V., Bernard, J.-F., David Xu, Z.-Q., & Hökfelt, T. (2010). Chemical

- neuroanatomy of the dorsal raphe nucleus and adjacent structures of the mouse brain. *Journal of Comparative Neurology*, 518(17), 3464-3494. <https://doi.org/10.1002/cne.22407>
- Furmark, T., Marteinsdottir, I., Frick, A., Heurling, K., Tillfors, M., Appel, L., Antoni, G., Hartvig, P., Fischer, H., Långström, B., Eriksson, E., & Fredrikson, M. (2016). Serotonin synthesis rate and the tryptophan hydroxylase-2 : G-703T polymorphism in social anxiety disorder. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 30(10), 1028-1035. <https://doi.org/10.1177/0269881116648317>
- Garcia-Garcia, A. L., Canetta, S., Stujenske, J. M., Burghardt, N. S., Ansorge, M. S., Dranovsky, A., & Leonardo, E. D. (2018). Serotonin inputs to the dorsal BNST modulate anxiety in a 5-HT1A receptor-dependent manner. *Molecular Psychiatry*, 23(10), Article 10. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.165>
- Gaspar, P., & Lillesaar, C. (2012). Probing the diversity of serotonin neurons. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 367(1601), 2382-2394. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0378>
- Geng, F., Tian, J., Wu, J.-L., Luo, Y., Zou, W.-J., Peng, C., & Lu, G.-F. (2018). Dorsomedial prefrontal cortex 5-HT6 receptors regulate anxiety-like behavior. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 18(1), 58-67. <https://doi.org/10.3758/s13415-017-0552-6>
- Gong, S., Doughty, M., Harbaugh, C. R., Cummins, A., Hatten, M. E., Heintz, N., & Gerfen, C. R. (2007). Targeting Cre Recombinase to Specific Neuron Populations with Bacterial Artificial Chromosome Constructs. *Journal of Neuroscience*, 27(37), 9817-9823. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2707-07.2007>
- Gonzalez, L. E., Rujano, M., Tucci, S., Paredes, D., Silva, E., Alba, G., & Hernandez, L. (2000). Medial prefrontal transection enhances social interaction : I: Behavioral studies. *Brain Research*, 887(1), 7-15. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02931-0](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02931-0)
- Gray, J. A. (1982). *The neuropsychology of anxiety : An enquiry into the functions of the septo-hippocampal system* (p. 548). Clarendon Press/Oxford University Press.
- Gray, J. A., & McNaughton, N. (2003). *The Neuropsychology of Anxiety : An Enquiry into the Functions of the Septo-Hippocampal System* (Second Edition, Second Edition). Oxford University Press.
- Groenewegen, H. J., Ahlenius, S., Haber, S. N., Kowall, N. W., & Nauta, W. J. H. (1986).

- Cytoarchitecture, fiber connections, and some histochemical aspects of the interpeduncular nucleus in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 249(1), 65-102. <https://doi.org/10.1002/cne.902490107>
- Gross, C. T., & Canteras, N. S. (2012). The many paths to fear. *Nature Reviews. Neuroscience*, 13(9), 651-658. <https://doi.org/10.1038/nrn3301>
- Grossman, N., Nikolic, K., Grubb, M. S., Burrone, J., Toumazou, C., & Degenaar, P. (2011). High-frequency limit of neural stimulation with ChR2. *Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual International Conference, 2011*, 4167-4170. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2011.6091034>
- Guerra-Araiza, C., Coyoy-Salgado, A., & Camacho-Arroyo, I. (2002). Sex differences in the regulation of progesterone receptor isoforms expression in the rat brain. *Brain Research Bulletin*, 59(2), 105-109. [https://doi.org/10.1016/s0361-9230\(02\)00845-6](https://doi.org/10.1016/s0361-9230(02)00845-6)
- Gunaydin, L., Yizhar, O., Berndt, A., Sohal, V., Deisseroth, K., & Hegemann, P. (2010). Ultrafast optogenetic control. *Nature neuroscience*, 13, 387-392. <https://doi.org/10.1038/nn.2495>
- Hajós-Korcsok, É., Robinson, D. D., Yu, J. H., Fitch, C. S., Walker, E., & Merchant, K. M. (2003). Rapid habituation of hippocampal serotonin and norepinephrine release and anxiety-related behaviors, but not plasma corticosterone levels, to repeated footshock stress in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 74(3), 609-616. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)01047-X](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)01047-X)
- Halasy, K., Miettinen, R., Szabat, E., & Freund, T. F. (1992). GABAergic Interneurons are the Major Postsynaptic Targets of Median Raphe Afferents in the Rat Dentate Gyrus. *European Journal of Neuroscience*, 4(2), 144-153. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1992.tb00861.x>
- Hale, M. W., & Lowry, C. A. (2011). Functional topography of midbrain and pontine serotonergic systems: Implications for synaptic regulation of serotonergic circuits. *Psychopharmacology*, 213(2), 243-264. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-2089-z>
- Hammack, S. E., Braas, K. M., & May, V. (2021). Chemoarchitecture of the bed nucleus of the stria terminalis: Neurophenotypic diversity and function. *Handbook of Clinical Neurology*, 179, 385-402. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819975-6.00025-X>
- Hammer, K. H., & Klingberg, F. (1990). Active avoidance is permanently abolished after lesions

- of the nucleus interpeduncularis in rat. *Biomedica Biochimica Acta*, 49(6), 489-497.
- Harada, T., Sakamoto, K., & Ishigooka, J. (2008). Incidence and predictors of activation syndrome induced by antidepressants. *Depression and Anxiety*, 25(12), 1014-1019. <https://doi.org/10.1002/da.20438>
- Haun, F., Eckenrode, T. C., & Murray, M. (1992). Habenula and thalamus cell transplants restore normal sleep behaviors disrupted by denervation of the interpeduncular nucleus. *Journal of Neuroscience*, 12(8), 3282-3290. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-08-03282.1992>
- Hemmendinger, L. M., & Moore, R. Y. (1984). Interpeduncular nucleus organization in the rat : Cytoarchitecture and histochemical analysis. *Brain Research Bulletin*, 13(1), 163-179. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(84\)90018-2](https://doi.org/10.1016/0361-9230(84)90018-2)
- Henke, P. G. (1990). Hippocampal pathway to the amygdala and stress ulcer development. *Brain Research Bulletin*, 25(5), 691-695. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(90\)90044-z](https://doi.org/10.1016/0361-9230(90)90044-z)
- Herkenham, M., & Nauta, W. J. H. (1979). Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 187(1), 19-47. <https://doi.org/10.1002/cne.901870103>
- Herman, J. P., Dolgas, C. M., & Carlson, S. L. (1998). Ventral subiculum regulates hypothalamo-pituitary-adrenocortical and behavioural responses to cognitive stressors. *Neuroscience*, 86(2), 449-459. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(98\)00055-4](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(98)00055-4)
- Herrmann, M. J., Katzorke, A., Busch, Y., Gromer, D., Polak, T., Pauli, P., & Deckert, J. (2017). Medial prefrontal cortex stimulation accelerates therapy response of exposure therapy in acrophobia. *Brain Stimulation*, 10(2), 291-297. <https://doi.org/10.1016/j.brs.2016.11.007>
- Hershey, J. D., Gifford, J. J., Zizza, L. J., Pavlenko, D. A., Wagner, G. C., & Miller, S. (2018). Effects of Various Cleaning Agents on the Performance of Mice in Behavioral Assays of Anxiety. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science : JAALAS*, 57(4), 335-339. <https://doi.org/10.30802/AALAS-JAALAS-17-000161>
- Himanshu, Dharmila, Sarkar, D., & Nutan. (2020). A Review of Behavioral Tests to Evaluate Different Types of Anxiety and Anti-anxiety Effects. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 18(3), 341-351. <https://doi.org/10.9758/cpn.2020.18.3.341>
- Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 54(1), 21-30. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)02126-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)02126-4)

- Hoover, W. B., & Vertes, R. P. (2007). Anatomical analysis of afferent projections to the medial prefrontal cortex in the rat. *Brain Structure and Function*, 212(2), 149-179. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0150-4>
- Hornung, J.-P. (2003). The human raphe nuclei and the serotonergic system. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 26(4), 331-343. <https://doi.org/10.1016/j.jchemneu.2003.10.002>
- Hornung, J.-P. (2010). CHAPTER 1.3—The Neuroanatomy of the Serotonergic System. In C. P. Müller & B. L. Jacobs (Éds.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, p. 51-64). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1569-7339\(10\)70071-0](https://doi.org/10.1016/S1569-7339(10)70071-0)
- Hornung, J.-P., & Celio, M. R. (1992). The Selective innervation by serotonergic axons of calbindin-containing interneurons in the neocortex and hippocampus of the marmoset. *Journal of Comparative Neurology*, 320(4), 457-467. <https://doi.org/10.1002/cne.903200404>
- Huang, K. W., Ochandarena, N. E., Philson, A. C., Hyun, M., Birnbaum, J. E., Cicconet, M., & Sabatini, B. L. (2019). Molecular and anatomical organization of the dorsal raphe nucleus. *eLife*, 8, e46464. <https://doi.org/10.7554/eLife.46464>
- Hudson, A. E. (2018). Genetic reporters of neuronal activity : C-Fos and G-CaMP6. *Methods in enzymology*, 603, 197-220. <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2018.01.023>
- Hughes, K. R. (1965). Dorsal and ventral hippocampus lesions and maze learning : Influence of preoperative environment. *Canadian Journal of Psychology*, 19(4), 325-332. <https://doi.org/10.1037/h0082915>
- Ihara, N., Ueda, S., Kawata, M., & Sano, Y. (1988). Immunohistochemical Demonstration of Serotonin-Containing Nerve Fibers in the Mammalian Hippocampal Formation. *Cells Tissues Organs*, 132(4), 335-346. <https://doi.org/10.1159/000146599>
- Ikoma, Y., Kusumoto-Yoshida, I., Yamanaka, A., Ootsuka, Y., & Kuwaki, T. (2018). Inactivation of Serotonergic Neurons in the Rostral Medullary Raphé Attenuates Stress-Induced Tachypnea and Tachycardia in Mice. *Frontiers in Physiology*, 9. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2018.00832>
- Insausti, R., Herrero, M. T., & Witter, M. P. (1997). Entorhinal cortex of the rat : Cytoarchitectonic subdivisions and the origin and distribution of cortical efferents. *Hippocampus*, 7(2), 146-183. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1997\)7:2<146::AID-HIPO4>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1997)7:2<146::AID-HIPO4>3.0.CO;2-L)

- Ishimura, K., Takeuchi, Y., Fujiwara, K., Tominaga, M., Yoshioka, H., & Sawada, T. (1988). Quantitative analysis of the distribution of serotonin-immunoreactive cell bodies in the mouse brain. *Neuroscience Letters*, *91*(3), 265-270. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(88\)90691-X](https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90691-X)
- Ishizuka, N. (2001). Laminar organization of the pyramidal cell layer of the subiculum in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, *435*(1), 89-110. <https://doi.org/10.1002/cne.1195>
- Jackson, J., Bland, B. H., & Antle, M. C. (2009). Nonserotonergic projection neurons in the midbrain raphe nuclei contain the vesicular glutamate transporter VGLUT3. *Synapse*, *63*(1), 31-41. <https://doi.org/10.1002/syn.20581>
- Jacobs, B. L., & Azmitia, E. C. (1992). Structure and function of the brain serotonin system. *Physiological Reviews*, *72*(1), 165-229. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.165>
- Jacobs, B. L., & Fornal, C. A. (1993). 5-HT and motor control: A hypothesis. *Trends in Neurosciences*, *16*(9), 346-352. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(93\)90090-9](https://doi.org/10.1016/0166-2236(93)90090-9)
- Jacobson, L., & Sapolsky, R. (1991). The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrine Reviews*, *12*(2), 118-134. <https://doi.org/10.1210/edrv-12-2-118>
- Jaric, I., Rocks, D., Grealley, J. M., Suzuki, M., & Kundakovic, M. (2019). Chromatin organization in the female mouse brain fluctuates across the oestrous cycle. *Nature Communications*, *10*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10704-0>
- Jay, T. M., Glowinski, J., & Thierry, A.-M. (1989). Selectivity of the hippocampal projection to the prelimbic area of the prefrontal cortex in the rat. *Brain Research*, *505*(2), 337-340. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(89\)91464-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(89)91464-9)
- Jennings, K. A., Loder, M. K., Sheward, W. J., Pei, Q., Deacon, R. M. J., Benson, M. A., Olverman, H. J., Hastie, N. D., Harmar, A. J., Shen, S., & Sharp, T. (2006). Increased Expression of the 5-HT Transporter Confers a Low- Anxiety Phenotype Linked to Decreased 5-HT Transmission. *The Journal of Neuroscience*, *26*(35), 8955-8964. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5356-05.2006>
- Jensen, P., Farago, A. F., Awatramani, R. B., Scott, M. M., Deneris, E. S., & Dymecki, S. M. (2008). Redefining the serotonergic system by genetic lineage. *Nature Neuroscience*, *11*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/nn2050>
- Jimenez, J. C., Su, K., Goldberg, A. R., Luna, V. M., Biane, J. S., Ordek, G., Zhou, P., Ong, S. K.,

- Wright, M. A., Zweifel, L., Paninski, L., Hen, R., & Kheirbek, M. A. (2018). Anxiety Cells in a Hippocampal-Hypothalamic Circuit. *Neuron*, 97(3), 670-683.e6. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.016>
- Jinks, A. L., & McGregor, I. S. (1997). Modulation of anxiety-related behaviours following lesions of the prelimbic or infralimbic cortex in the rat. *Brain Research*, 772(1), 181-190. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)00810-X](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)00810-X)
- Jung, M. W., Wiener, S. I., & McNaughton, B. L. (1994). Comparison of spatial firing characteristics of units in dorsal and ventral hippocampus of the rat. *Journal of Neuroscience*, 14(12), 7347-7356. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-12-07347.1994>
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., Song, C., Berridge, K. C., Graybiel, A. M., & Fentress, J. C. (2016). Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/nrn.2015.8>
- Kalueff, A. V., & Tuohimaa, P. (2004). Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research. *Brain Research. Brain Research Protocols*, 13(3), 151-158. <https://doi.org/10.1016/j.brainresprot.2004.04.002>
- Kalueff, A. V., & Tuohimaa, P. (2005). The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats : Potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of Neuroscience Methods*, 143(2), 169-177. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.10.001>
- Kaluve, A. M., Le, J. T., & Graham, B. M. (2022). Female rodents are not more variable than male rodents : A meta-analysis of preclinical studies of fear and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 143, 104962. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104962>
- Keck, M. E., Sartori, S. B., Welt, T., Müller, M. B., Ohl, F., Holsboer, F., Landgraf, R., & Singewald, N. (2005). Differences in serotonergic neurotransmission between rats displaying high or low anxiety/depression-like behaviour : Effects of chronic paroxetine treatment. *Journal of Neurochemistry*, 92(5), 1170-1179. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02953.x>
- Kelley, A. E., & Domesick, V. B. (1982). The distribution of the projection from the hippocampal formation to the nucleus accumbens in the rat : An anterograde and retrograde-horseradish peroxidase study. *Neuroscience*, 7(10), 2321-2335. <https://doi.org/10.1016/0306->

4522(82)90198-1

- Kerman, I. A., Clinton, S. M., Bedrosian, T. A., Abraham, A. D., Rosenthal, D. T., Akil, H., & Watson, S. J. (2011). High novelty-seeking predicts aggression and gene expression differences within defined serotonergic cell groups. *Brain Research, 1419*, 34-45. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2011.08.038>
- Kessler, R. C., Berglund, P., Demler, O., Jin, R., Merikangas, K. R., & Walters, E. E. (2005). Lifetime Prevalence and Age-of-Onset Distributions of DSM-IV Disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Archives of General Psychiatry, 62*(6), 593-602. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.6.593>
- Kessler, R. C., Ruscio, A. M., Shear, K., & Wittchen, H.-U. (2010). Epidemiology of Anxiety Disorders. In M. B. Stein & T. Steckler (Éds.), *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment* (p. 21-35). Springer. https://doi.org/10.1007/7854_2009_9
- Kilpatrick, D. G., Ruggiero, K. J., Acierno, R., Saunders, B. E., Resnick, H. S., & Best, C. L. (2003). Violence and risk of PTSD, major depression, substance abuse/dependence, and comorbidity : Results from the National Survey of Adolescents. *Journal of Consulting and Clinical Psychology, 71*(4), 692-700. <https://doi.org/10.1037/0022-006x.71.4.692>
- Kim, A. M., Tingen, C. M., & Woodruff, T. K. (2010). Sex bias in trials and treatment must end. *Nature, 465*(7299), Article 7299. <https://doi.org/10.1038/465688a>
- Kim, S.-Y., Adhikari, A., Lee, S. Y., Marshel, J. H., Kim, C. K., Mallory, C. S., Lo, M., Pak, S., Mattis, J., Lim, B. K., Malenka, R. C., Warden, M. R., Neve, R., Tye, K. M., & Deisseroth, K. (2013). Diverging neural pathways assemble a behavioural state from separable features in anxiety. *Nature, 496*(7444), 219-223. <https://doi.org/10.1038/nature12018>
- Kim, Y.-K., Lee, H.-J., Yang, J.-C., Hwang, J.-A., & Yoon, H.-K. (2009). A tryptophan hydroxylase 2 gene polymorphism is associated with panic disorder. *Behavior Genetics, 39*(2), 170-175. <https://doi.org/10.1007/s10519-008-9254-8>
- Kishi, T., Tsumori, T., Ono, K., Yokota, S., Ishino, H., & Yasui, Y. (2000). Topographical organization of projections from the subiculum to the hypothalamus in the rat. *Journal of Comparative Neurology, 419*(2), 205-222. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9861\(20000403\)419:2<205::AID-CNE5>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000403)419:2<205::AID-CNE5>3.0.CO;2-0)
- Kishi, T., Tsumori, T., Yokota, S., & Yasui, Y. (2006). Topographical projection from the hippocampal formation to the amygdala : A combined anterograde and retrograde tracing

- study in the rat. *Journal of Comparative Neurology*, 496(3), 349-368. <https://doi.org/10.1002/cne.20919>
- Kjelstrup, K. G., Tuvnes, F. A., Steffenach, H.-A., Murison, R., Moser, E. I., & Moser, M.-B. (2002). Reduced fear expression after lesions of the ventral hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(16), 10825-10830. <https://doi.org/10.1073/pnas.152112399>
- Klüver, H., & Bucy, P. C. (1937). « Psychic blindness » and other symptoms following bilateral temporal lobectomy in Rhesus monkeys. *American Journal of Physiology*, 119, 352-353.
- Kohl, Z., & Winkler, J. (2020). Serotonin in Parkinson's disease. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 969-979). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00050-5>
- Köhler, C., & Steinbusch, H. (1982). Identification of serotonin and non-serotonin-containing neurons of the mid-brain raphe projecting to the entorhinal area and the hippocampal formation. A combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat brain. *Neuroscience*, 7(4), 951-975. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90054-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90054-9)
- Kolesar, T. A., Bilevicius, E., Wilson, A. D., & Kornelsen, J. (2019). Systematic review and meta-analyses of neural structural and functional differences in generalized anxiety disorder and healthy controls using magnetic resonance imaging. *NeuroImage: Clinical*, 24, 102016. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2019.102016>
- Konno, K., Matsumoto, M., Togashi, H., Yamaguchi, T., Izumi, T., Watanabe, M., Iwanaga, T., & Yoshioka, M. (2007). Early postnatal stress affects the serotonergic function in the median raphe nuclei of adult rats. *Brain Research*, 1172, 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.05.022>
- Koss, W. A., & Frick, K. M. (2017). Sex differences in hippocampal function. *Journal of Neuroscience Research*, 95(1-2), 539-562. <https://doi.org/10.1002/jnr.23864>
- Kovács, K. J. (2008). Measurement of immediate-early gene activation- c-fos and beyond. *Journal of Neuroendocrinology*, 20(6), 665-672. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01734.x>
- Krauter, A.-K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. In P. C. Guest (Éd.), *Pre-Clinical Models : Techniques and Protocols* (p. 69-74). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4

- Kundakovic, M., & Rocks, D. (2022). Sex hormone fluctuation and increased female risk for depression and anxiety disorders: From clinical evidence to molecular mechanisms. *Frontiers in neuroendocrinology*, *66*, 101010. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2022.101010>
- Labuschagne, I., Phan, K. L., Wood, A., Angstadt, M., Chua, P., Heinrichs, M., Stout, J. C., & Nathan, P. J. (2012). Medial frontal hyperactivity to sad faces in generalized social anxiety disorder and modulation by oxytocin. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *15*(7), 883-896. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001489>
- Lacroix, L., Broersen, L. M., Weiner, I., & Feldon, J. (1998). The effects of excitotoxic lesion of the medial prefrontal cortex on latent inhibition, prepulse inhibition, food hoarding, elevated plus maze, active avoidance and locomotor activity in the rat. *Neuroscience*, *84*(2), 431-442. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00521-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00521-6)
- Lanfumeey, L., & Hamon, M. (2000). Central 5-HT_{1A} receptors: Regional distribution and functional characteristics. *Nuclear Medicine and Biology*, *27*(5), 429-435. [https://doi.org/10.1016/S0969-8051\(00\)00107-4](https://doi.org/10.1016/S0969-8051(00)00107-4)
- Lara Aparicio, S. Y., Laureani Fierro, Á. de J., Aranda Abreu, G. E., Toledo Cárdenas, R., García Hernández, L. I., Coria Ávila, G. A., Rojas Durán, F., Aguilar, M. E. H., Manzo Denes, J., Chi-Castañeda, L. D., & Pérez Estudillo, C. A. (2022). Current Opinion on the Use of c-Fos in Neuroscience. *NeuroSci*, *3*(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/neurosci3040050>
- Lavenex, P., & Amaral, D. G. (2000). Hippocampal-neocortical interaction: A hierarchy of associativity. *Hippocampus*, *10*(4), 420-430. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<420::AID-HIPO8>3.0.CO;2-5](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<420::AID-HIPO8>3.0.CO;2-5)
- Lawther, A. J., Hale, M. W., & Lowry, C. A. (2020). Chapter 29—Serotonin and the neurobiology of anxious states. In C. P. Müller & K. A. Cunningham (Éds.), *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 505-520). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00029-3>
- LeDoux, J. E. (2000). Emotion circuits in the brain. *Annual Review of Neuroscience*, *23*, 155-184. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.23.1.155>
- Lee, S. K. (2018). Sex as an important biological variable in biomedical research. *BMB Reports*, *51*(4), 167-173. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2018.51.4.034>
- Leranth, C., Shanabrough, M., & Horvath, T. L. (1999). Estrogen receptor- α in the raphe serotonergic and supramammillary area calretinin-containing neurons of the female rat.

- Experimental Brain Research*, 128(3), 417-420. <https://doi.org/10.1007/s002210050863>
- Lesch, K.-P., Araragi, N., Waider, J., van den Hove, D., & Gutknecht, L. (2012). Targeting brain serotonin synthesis : Insights into neurodevelopmental disorders with long-term outcomes related to negative emotionality, aggression and antisocial behaviour. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1601), 2426-2443. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0039>
- Lesting, J., Daldrup, T., Narayanan, V., Himpe, C., Seidenbecher, T., & Pape, H.-C. (2013). Directional theta coherence in prefrontal cortical to amygdalo-hippocampal pathways signals fear extinction. *PloS One*, 8(10), e77707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077707>
- Lesting, J., Narayanan, R. T., Kluge, C., Sangha, S., Seidenbecher, T., & Pape, H.-C. (2011). Patterns of Coupled Theta Activity in Amygdala-Hippocampal-Prefrontal Cortical Circuits during Fear Extinction. *PLOS ONE*, 6(6), e21714. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021714>
- Lezak, K. R., Missig, G., & Carlezon Jr, W. A. (2017). Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 19(2), 181-191.
- Li, C.-I., Maglinao, T. L., & Takahashi, L. K. (2004). Medial amygdala modulation of predator odor-induced unconditioned fear in the rat. *Behavioral Neuroscience*, 118(2), 324-332. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.2.324>
- Li, G., & Pleasure, S. J. (2014). The development of hippocampal cellular assemblies. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 3(2), 165-177. <https://doi.org/10.1002/wdev.127>
- Li, K., Nakajima, M., Ibañez-Tallon, I., & Heintz, N. (2016). A Cortical Circuit for Sexually Dimorphic Oxytocin-Dependent Anxiety Behaviors. *Cell*, 167(1), 60-72.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.067>
- Likhtik, E., Stujenske, J. M., Topiwala, M. A., Harris, A. Z., & Gordon, J. A. (2014). Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nature Neuroscience*, 17(1), 106-113. <https://doi.org/10.1038/nn.3582>
- Lin, J. Y. (2011). A User's Guide to Channelrhodopsin Variants : Features, Limitations and Future Developments. *Experimental physiology*, 96(1), 19-25. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.051961>

- Lin, Y.-M. J., Ko, H.-C., Chang, F.-M., Yeh, T.-L., & Sun, H. S. (2009). Population-specific functional variant of the TPH2 gene 2755C>A polymorphism contributes risk association to major depression and anxiety in Chinese peripartum women. *Archives of Women's Mental Health, 12*(6), 401-408. <https://doi.org/10.1007/s00737-009-0088-z>
- Lisboa, S. F., Stecchini, M. F., Corrêa, F. M. A., Guimarães, F. S., & Resstel, L. B. M. (2010). Different role of the ventral medial prefrontal cortex on modulation of innate and associative learned fear. *Neuroscience, 171*(3), 760-768. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.09.048>
- Lisofsky, N., Mårtensson, J., Eckert, A., Lindenberger, U., Gallinat, J., & Kühn, S. (2015). Hippocampal volume and functional connectivity changes during the female menstrual cycle. *NeuroImage, 118*, 154-162. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.06.012>
- Lister, R. G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology, 92*(2), 180-185. <https://doi.org/10.1007/BF00177912>
- Liu, Z., Zhou, J., Li, Y., Hu, F., Lu, Y., Ma, M., Feng, Q., Zhang, J., Wang, D., Zeng, J., Bao, J., Kim, J.-Y., Chen, Z.-F., El Mestikawy, S., & Luo, M. (2014). Dorsal Raphe Neurons Signal Reward through 5-HT and Glutamate. *Neuron, 81*(6), 1360-1374. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.02.010>
- Loewy, A. D. (1981). Raphe pallidus and raphe obscurus projections to the intermediolateral cell column in the rat. *Brain Research, 222*(1), 129-133. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(81\)90946-X](https://doi.org/10.1016/0006-8993(81)90946-X)
- Logue, S. F., Paylor, R., & Wehner, J. M. (1997). Hippocampal lesions cause learning deficits in inbred mice in the Morris water maze and conditioned-fear task. *Behavioral Neuroscience, 111*(1), 104-113. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.111.1.104>
- Lowry, C. A., Hale, M. W., Evans, A. K., Heerkens, J., Staub, D. R., Gasser, P. J., & Shekhar, A. (2008). Serotonergic Systems, Anxiety, and Affective Disorder. *Annals of the New York Academy of Sciences, 1148*(1), 86-94. <https://doi.org/10.1196/annals.1410.004>
- Luo, J., Wang, T., Liang, S., Hu, X., Li, W., & Jin, F. (2013). Experimental gastritis leads to anxiety- and depression-like behaviors in female but not male rats. *Behavioral and Brain Functions, 9*(1), 46. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-9-46>
- Machado-de-Sousa, J. P., Osório, F. de L., Jackowski, A. P., Bressan, R. A., Chagas, M. H. N., Torro-Alves, N., Depaula, A. L. D., Crippa, J. A. S., & Hallak, J. E. C. (2014). Increased

- amygdalar and hippocampal volumes in young adults with social anxiety. *PLoS One*, 9(2), e88523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088523>
- Machida, T., Yonezawa, Y., & Noumura, T. (1981). Age-associated changes in plasma testosterone levels in male mice and their relation to social dominance or subordination. *Hormones and Behavior*, 15(3), 238-245. [https://doi.org/10.1016/0018-506x\(81\)90013-1](https://doi.org/10.1016/0018-506x(81)90013-1)
- Maren, S., & Holt, W. G. (2004). Hippocampus and Pavlovian fear conditioning in rats : Muscimol infusions into the ventral, but not dorsal, hippocampus impair the acquisition of conditional freezing to an auditory conditional stimulus. *Behavioral Neuroscience*, 118(1), 97-110. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.1.97>
- Mathews, T. A., Fedele, D. E., Coppelli, F. M., Avila, A. M., Murphy, D. L., & Andrews, A. M. (2004). Gene dose-dependent alterations in extraneuronal serotonin but not dopamine in mice with reduced serotonin transporter expression. *Journal of Neuroscience Methods*, 140(1-2), 169-181. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2004.05.017>
- Mathis, A., Mamidanna, P., Cury, K. M., Abe, T., Murthy, V. N., Mathis, M. W., & Bethge, M. (2018). DeepLabCut : Markerless pose estimation of user-defined body parts with deep learning. *Nature Neuroscience*, 21(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/s41593-018-0209-y>
- Matsumoto, D., Ushio, S., Wada, Y., Noda, Y., Esumi, S., Izushi, Y., Kitamura, Y., & Sendo, T. (2021). Bumetanide prevents diazepam-modified anxiety-like behavior in lipopolysaccharide-treated mice. *European Journal of Pharmacology*, 904, 174195. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174195>
- Mattis, J., Tye, K. M., Ferenczi, E. A., Ramakrishnan, C., O'Shea, D. J., Prakash, R., Gunaydin, L. A., Hyun, M., Fenno, L. E., Gradinaru, V., Yizhar, O., & Deisseroth, K. (2012). Principles for applying optogenetic tools derived from direct comparative analysis of microbial opsins. *Nature Methods*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1808>
- McCarthy, M. M. (2016). Multifaceted origins of sex differences in the brain. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 371(1688), 20150106. <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0106>
- McDonald, A. J. (1983). Neurons of the bed nucleus of the stria terminalis : A golgi study in the rat. *Brain Research Bulletin*, 10(1), 111-120. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(83\)90082-5](https://doi.org/10.1016/0361-9230(83)90082-5)

- McHugh, S. B., Deacon, R. M. J., Rawlins, J. N. P., & Bannerman, D. M. (2004). Amygdala and ventral hippocampus contribute differentially to mechanisms of fear and anxiety. *Behavioral Neuroscience*, *118*(1), 63-78. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.118.1.63>
- McKenna, J. T., & Vertes, R. P. (2001). Collateral projections from the median raphe nucleus to the medial septum and hippocampus. *Brain Research Bulletin*, *54*(6), 619-630. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(01\)00465-8](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(01)00465-8)
- McNaughton, N., & Corr, P. J. (2004). A two-dimensional neuropsychology of defense: Fear/anxiety and defensive distance. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *28*(3), 285-305. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.03.005>
- McNaughton, N., Kocsis, B., & Hajós, M. (2007). Elicited hippocampal theta rhythm: A screen for anxiolytic and procognitive drugs through changes in hippocampal function? *Behavioural Pharmacology*, *18*(5-6), 329-346. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282ee82e3>
- McNaughton, N., & Morris, R. G. M. (1987). Chlordiazepoxide, an anxiolytic benzodiazepine, impairs place navigation in rats. *Behavioural Brain Research*, *24*(1), 39-46. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(87\)90034-9](https://doi.org/10.1016/0166-4328(87)90034-9)
- McNaughton, N., & Morris, R. G. M. (1992). Buspirone produces a dose-related impairment in spatial navigation. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *43*(1), 167-171. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90653-W](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90653-W)
- McReynolds, J. R., Christianson, J. P., Blacktop, J. M., & Mantsch, J. R. (2018). What does the Fos say? Using Fos-based approaches to understand the contribution of stress to substance use disorders. *Neurobiology of Stress*, *9*, 271-285. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2018.05.004>
- Meehan, C. F., Grondahl, L., Nielsen, J. B., & Hultborn, H. (2012). Fictive locomotion in the adult decerebrate and spinal mouse in vivo. *The Journal of Physiology*, *590*(2), 289-300. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.214643>
- Mengod, G., Cortés, R., Vilaró, M. T., & Hoyer, D. (2010). Distribution of 5-HT Receptors in the Central Nervous System. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 21, p. 123-138). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1569-7339\(10\)70074-6](https://doi.org/10.1016/S1569-7339(10)70074-6)
- Mészáros, J., Gajewska, S., & Tarchalska-Kryńska, B. (1985). Habenulo-interpeduncular lesions: The effects on pain sensitivity, morphine analgesia and open-field behavior in rats. *Polish*

Journal of Pharmacology and Pharmacy, 37(4), 469-477.

- Michalikova, S., van Rensburg, R., Chazot, P. L., & Ennaceur, A. (2010). Anxiety responses in Balb/c, c57 and CD-1 mice exposed to a novel open space test. *Behavioural Brain Research*, 207(2), 402-417. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.10.028>
- Miller, M. M., Morrison, J. H., & McEwen, B. S. (2012). Basal anxiety-like behavior predicts differences in dendritic morphology in the medial prefrontal cortex in two strains of rats. *Behavioural Brain Research*, 229(1), 280-288. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.01.029>
- Montone, K. T., Fass, B., & Hamill, G. S. (1988). Serotonergic and nonserotonergic projections from the rat interpeduncular nucleus to the septum, hippocampal formation and raphe : A combined immunocytochemical and fluorescent retrograde labelling study of neurons in the apical subnucleus. *Brain Research Bulletin*, 20(2), 233-240. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(88\)90183-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(88)90183-9)
- Mora, S., Dussaubat, N., & Díaz-Véliz, G. (1996). Effects of the estrous cycle and ovarian hormones on behavioral indices of anxiety in female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 21(7), 609-620. [https://doi.org/10.1016/s0306-4530\(96\)00015-7](https://doi.org/10.1016/s0306-4530(96)00015-7)
- Morin, L. P., & Meyer-Bernstein, E. L. (1999). The ascending serotonergic system in the hamster : Comparison with projections of the dorsal and median raphe nuclei. *Neuroscience*, 91(1), 81-105. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00585-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00585-5)
- Moriya, S., Yamashita, A., Masukawa, D., Kambe, Y., Sakaguchi, J., Setoyama, H., Yamanaka, A., & Kuwaki, T. (2020). Involvement of suprallemniscal nucleus (B9) 5-HT neuronal system in nociceptive processing : A fiber photometry study. *Molecular Brain*, 13(1), 14. <https://doi.org/10.1186/s13041-020-0553-1>
- Moser, E., Moser, M. B., & Andersen, P. (1993). Spatial learning impairment parallels the magnitude of dorsal hippocampal lesions, but is hardly present following ventral lesions. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 13(9), 3916-3925. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.13-09-03916.1993>
- Moser, M. B., Moser, E. I., Forrest, E., Andersen, P., & Morris, R. G. (1995a). Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(21), 9697-9701.
- Moser, M. B., Moser, E. I., Forrest, E., Andersen, P., & Morris, R. G. (1995b). Spatial learning with a minislab in the dorsal hippocampus. *Proceedings of the National Academy of*

- Sciences of the United States of America*, 92(21), 9697-9701.
- Moser, M.-B., & Moser, E. I. (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, 8(6), 608-619. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1998\)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1998)8:6<608::AID-HIPO3>3.0.CO;2-7)
- Mosienko, V., Bert, B., Beis, D., Matthes, S., Fink, H., Bader, M., & Alenina, N. (2012). Exaggerated aggression and decreased anxiety in mice deficient in brain serotonin. *Translational Psychiatry*, 2(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/tp.2012.44>
- Mosienko, V., Matthes, S., Hirth, N., Beis, D., Flinders, M., Bader, M., Hansson, A. C., & Alenina, N. (2014). Adaptive changes in serotonin metabolism preserve normal behavior in mice with reduced TPH2 activity. *Neuropharmacology*, 85, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.05.015>
- Mu, M.-D., Geng, H.-Y., Rong, K.-L., Peng, R.-C., Wang, S.-T., Geng, L.-T., Qian, Z.-M., Yung, W.-H., & Ke, Y. (2020). A limbic circuitry involved in emotional stress-induced grooming. *Nature Communications*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16203-x>
- Muzerelle, A., Scotto-Lomassese, S., Bernard, J. F., Soiza-Reilly, M., & Gaspar, P. (2016). Conditional anterograde tracing reveals distinct targeting of individual serotonin cell groups (B5–B9) to the forebrain and brainstem. *Brain Structure and Function*, 221(1), 535-561. <https://doi.org/10.1007/s00429-014-0924-4>
- Nadel, L., & Moscovitch, M. (1997). Memory consolidation, retrograde amnesia and the hippocampal complex. *Current Opinion in Neurobiology*, 7(2), 217-227. [https://doi.org/10.1016/s0959-4388\(97\)80010-4](https://doi.org/10.1016/s0959-4388(97)80010-4)
- Nath, T., Mathis, A., Chen, A. C., Patel, A., Bethge, M., & Mathis, M. W. (2019). Using DeepLabCut for 3D markerless pose estimation across species and behaviors. *Nature Protocols*, 14(7), Article 7. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0176-0>
- Nitschke, J. B., Sarinopoulos, I., Oathes, D. J., Johnstone, T., Whalen, P. J., Davidson, R. J., & Kalin, N. H. (2009). Anticipatory activation in the amygdala and anterior cingulate in generalized anxiety disorder and prediction of treatment response. *The American Journal of Psychiatry*, 166(3), 302-310. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2008.07101682>
- Nomura, M., Akama, K. T., Alves, S. E., Korach, K. S., Gustafsson, J.-A., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. (2005). Differential distribution of estrogen receptor (ER)-alpha and ER-beta in the midbrain raphe nuclei and periaqueductal gray in male mouse : Predominant role of ER-

- beta in midbrain serotonergic systems. *Neuroscience*, *130*(2), 445-456. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.09.028>
- Nunes-de-Souza, R. L., Canto-de-Souza, A., & Rodgers, R. J. (2002). Effects of intra-hippocampal infusion of WAY-100635 on plus-maze behavior in mice. Influence of site of injection and prior test experience. *Brain Research*, *927*(1), 87-96. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)03335-2](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)03335-2)
- Nutt, D. J. (2005). Overview of diagnosis and drug treatments of anxiety disorders. *CNS Spectrums*, *10*(1), 49-56. <https://doi.org/10.1017/s1092852900009901>
- Ohmura, Y., Tanaka, K. F., Tsunematsu, T., Yamanaka, A., & Yoshioka, M. (2014). Optogenetic activation of serotonergic neurons enhances anxiety-like behaviour in mice. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, *17*(11), 1777-1783. <https://doi.org/10.1017/S1461145714000637>
- Ohmura, Y., Tsutsui-Kimura, I., Sasamori, H., Nebuka, M., Nishitani, N., Tanaka, K. F., Yamanaka, A., & Yoshioka, M. (2020). Different roles of distinct serotonergic pathways in anxiety-like behavior, antidepressant-like, and anti-impulsive effects. *Neuropharmacology*, *167*, 107703. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107703>
- O'Keefe, J., & Dostrovsky, J. (1971). The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, *34*(1), 171-175. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90358-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90358-1)
- Padilla-Coreano, N., Bolkan, S. S., Pierce, G. M., Blackman, D. R., Hardin, W. D., Garcia-Garcia, A. L., Spellman, T. J., & Gordon, J. A. (2016). Direct Ventral Hippocampal-Prefrontal Input Is Required for Anxiety-Related Neural Activity and Behavior. *Neuron*, *89*(4), 857-866. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.01.011>
- Padilla-Coreano, N., Canetta, S., Mikofsky, R. M., Alway, E., Passecker, J., Myroshnychenko, M. V., Garcia-Garcia, A. L., Warren, R., Teboul, E., Blackman, D. R., Morton, M. P., Hupalo, S., Tye, K. M., Kellendonk, C., Kupferschmidt, D. A., & Gordon, J. A. (2019). Hippocampal-Prefrontal Theta Transmission Regulates Avoidance Behavior. *Neuron*, *104*(3), 601-610.e4. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.08.006>
- Papez, J. W. (1937). A proposed mechanism of emotion. *Archives of Neurology & Psychiatry*, *38*, 725-743. <https://doi.org/10.1001/archneurpsyc.1937.02260220069003>
- Papp, E. C., Hájos, N., Acsády, L., & Freund, T. F. (1999). Medial septal and median raphe

- innervation of vasoactive intestinal polypeptide-containing interneurons in the hippocampus. *Neuroscience*, 90(2), 369-382. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00455-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00455-2)
- Paré, W. P., & Tejani-Butt, S. M. (1996). Effect of stress on the behavior and 5-HT system in Sprague-Dawley and Wistar Kyoto rat strains. *Integrative Physiological and Behavioral Science*, 31(2), 112-121. <https://doi.org/10.1007/BF02699783>
- Parent, M. A., Wang, L., Su, J., Netoff, T., & Yuan, L.-L. (2010). Identification of the Hippocampal Input to Medial Prefrontal Cortex In Vitro. *Cerebral Cortex*, 20(2), 393-403. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp108>
- Paxinos, G., & Franklin, K. B. J. (2012). *Paxinos and Franklin's the Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. Elsevier Science.
- Peixoto, H. M., Cruz, R. M. S., Moulin, T. C., & Leão, R. N. (2020). Modeling the Effect of Temperature on Membrane Response of Light Stimulation in Optogenetically-Targeted Neurons. *Frontiers in Computational Neuroscience*, 14, 5. <https://doi.org/10.3389/fncom.2020.00005>
- Pellow, S., & File, S. E. (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze : A novel test of anxiety in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 24(3), 525-529. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90552-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90552-6)
- Pentkowski, N. S., Blanchard, D. C., Lever, C., Litvin, Y., & Blanchard, R. J. (2006). Effects of lesions to the dorsal and ventral hippocampus on defensive behaviors in rats. *European Journal of Neuroscience*, 23(8), 2185-2196. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.04754.x>
- Per, A., Richard, M., David, A., Tim, B., & John, O. (2006). The Hippocampal Formation. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Éds.), *The Hippocampus Book* (p. 0). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195100273.003.0001>
- Perrier, J.-F., & Cotel, F. (2015). Serotonergic modulation of spinal motor control. *Current Opinion in Neurobiology*, 33, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2014.12.008>
- Petrovich, G. D., Canteras, N. S., & Swanson, L. W. (2001). Combinatorial amygdalar inputs to hippocampal domains and hypothalamic behavior systems. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 38(1-2), 247-289. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(01\)00080-7](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(01)00080-7)

- Pitkänen, A., Pikkarainen, M., Nurminen, N., & Ylinen, A. (2000). Reciprocal Connections between the Amygdala and the Hippocampal Formation, Perirhinal Cortex, and Postrhinal Cortex in Rat : A Review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 911(1), 369-391. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06738.x>
- Pothuizen, H. H. J., Zhang, W.-N., Jongen-Rêlo, A. L., Feldon, J., & Yee, B. K. (2004). Dissociation of function between the dorsal and the ventral hippocampus in spatial learning abilities of the rat : A within-subject, within-task comparison of reference and working spatial memory. *The European Journal of Neuroscience*, 19(3), 705-712. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816x.2004.03170.x>
- Prange-Kiel, J., Rune, G. M., & Leranth, C. (2004). Median raphe mediates estrogenic effects to the hippocampus in female rats. *European Journal of Neuroscience*, 19(2), 309-317. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2003.03124.x>
- Prendergast, B. J., Onishi, K. G., & Zucker, I. (2014). Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 40, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001>
- Qin, S., Young, C. B., Duan, X., Chen, T., Supekar, K., & Menon, V. (2014). Amygdala Subregional Structure and Intrinsic Functional Connectivity Predicts Individual Differences in Anxiety During Early Childhood. *Biological Psychiatry*, 75(11), 892-900. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.10.006>
- Quednow, B. B., Geyer, M. A., & Halberstadt, A. L. (2020). Serotonin and schizophrenia. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 711-743). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00039-6>
- Ren, J., Friedmann, D., Xiong, J., Liu, C. D., Ferguson, B. R., Weerakkody, T., DeLoach, K. E., Ran, C., Pun, A., Sun, Y., Weissbourd, B., Neve, R. L., Huguenard, J., Horowitz, M. A., & Luo, L. (2018). Anatomically Defined and Functionally Distinct Dorsal Raphe Serotonin Sub-systems. *Cell*, 175(2), 472-487.e20. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.043>
- Rex, A., Voigt, J. P., & Fink, H. (2005). Anxiety but not arousal increases 5-hydroxytryptamine release in the rat ventral hippocampus in vivo. *European Journal of Neuroscience*, 22(5), 1185-1189. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04251.x>
- Reznikov, K. Y. (1991). Hippocampal Formation in the Mouse and Rat — Structural Organization and Development : A Review. In F. Beck, W. Hild, W. Kriz, J. E. Pauly, Y. Sano, & T. H.

- Schiebler, *Cell Proliferation and Cytogenesis in the Mouse Hippocampus* (Vol. 122, p. 1-11). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-76447-9_1
- Richard, M. (2006). Stress and the Hippocampus. In P. Andersen, R. Morris, D. Amaral, T. Bliss, & J. O'Keefe (Éds.), *The Hippocampus Book* (p. 0). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195100273.003.0015>
- Richmond, M. A., Yee, B. K., Pouzet, B., Veenman, L., Rawlins, J. N., Feldon, J., & Bannerman, D. M. (1999). Dissociating context and space within the hippocampus: Effects of complete, dorsal, and ventral excitotoxic hippocampal lesions on conditioned freezing and spatial learning. *Behavioral Neuroscience*, *113*(6), 1189-1203. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.113.6.1189>
- Ridet, J.-L., Tamir, H., & Privat, A. (1994). Direct immunocytochemical localization of 5-hydroxytryptamine receptors in the adult rat spinal cord: A light and electron microscopic study using an anti-idiotypic antiserum. *Journal of Neuroscience Research*, *38*(1), 109-121. <https://doi.org/10.1002/jnr.490380114>
- Roberts, G. W., Woodhams, P. L., Polak, J. M., & Crow, T. J. (1982). Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat: The amygdaloid complex. *Neuroscience*, *7*(1), 99-131. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(82\)90156-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(82)90156-7)
- Rodgers, R. J., & Cole, J. C. (1993). Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors. *Physiology & Behavior*, *53*(2), 383-388. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90222-2](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90222-2)
- Roy-Byrne, P. (2015). Treatment-refractory anxiety; definition, risk factors, and treatment challenges. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *17*(2), 191-206. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2015.17.2/proybyrne>
- Rungta, R. L., Osmanski, B.-F., Boido, D., Tanter, M., & Charpak, S. (2017). Light controls cerebral blood flow in naive animals. *Nature Communications*, *8*(1), 14191. <https://doi.org/10.1038/ncomms14191>
- Russo, A. M., Lawther, A. J., Prior, B. M., Isbel, L., Somers, W. G., Lesku, J. A., Richdale, A. L., Dissanayake, C., Kent, S., Lowry, C. A., & Hale, M. W. (2019). Social approach, anxiety, and altered tryptophan hydroxylase 2 activity in juvenile BALB/c and C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, *359*, 918-926. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.06.019>
- Sartori, S. B., & Singewald, N. (2019). Novel pharmacological targets in drug development for

- the treatment of anxiety and anxiety-related disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, 204, 107402. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107402>
- Schinazi, V. R., Nardi, D., Newcombe, N. S., Shipley, T. F., & Epstein, R. A. (2013). Hippocampal size predicts rapid learning of a cognitive map in humans. *Hippocampus*, 23(6), 515-528. <https://doi.org/10.1002/hipo.22111>
- Schoenfeld, T. J., Kloth, A. D., Hsueh, B., Runkle, M. B., Kane, G. A., Wang, S. S.-H., & Gould, E. (2014). Gap Junctions in the Ventral Hippocampal-Medial Prefrontal Pathway Are Involved in Anxiety Regulation. *Journal of Neuroscience*, 34(47), 15679-15688. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3234-13.2014>
- Schoepfer, K. J., Xu, Y., Wilber, A. A., Wu, W., & Kabbaj, M. (2020). Sex differences and effects of the estrous stage on hippocampal-prefrontal theta communications. *Physiological Reports*, 8(22), e14646. <https://doi.org/10.14814/phy2.14646>
- Schultz, C., & Engelhardt, M. (2014). Anatomy of the Hippocampal Formation. In K. Szabo & M. G. Hennerici (Éds.), *Frontiers of Neurology and Neuroscience* (Vol. 34, p. 6-17). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000360925>
- Scoville, W. B., & Milner, B. (1957). Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions. *Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry*, 20(1), 11-21. <https://doi.org/10.1136/jnnp.20.1.11>
- Seidenbecher, T., Laxmi, T. R., Stork, O., & Pape, H.-C. (2003). Amygdalar and hippocampal theta rhythm synchronization during fear memory retrieval. *Science (New York, N.Y.)*, 301(5634), 846-850. <https://doi.org/10.1126/science.1085818>
- Senn, V., Wolff, S. B. E., Herry, C., Grenier, F., Ehrlich, I., Gründemann, J., Fadok, J. P., Müller, C., Letzkus, J. J., & Lüthi, A. (2014). Long-range connectivity defines behavioral specificity of amygdala neurons. *Neuron*, 81(2), 428-437. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.11.006>
- Seo, C., Guru, A., Jin, M., Ito, B., Sleezer, B. J., Ho, Y.-Y., Wang, E., Boada, C., Krupa, N. A., Kullakanda, D. S., Shen, C. X., & Warden, M. R. (2019). Intense threat switches dorsal raphe serotonin neurons to a paradoxical operational mode. *Science*, 363(6426), 538-542. <https://doi.org/10.1126/science.aau8722>
- Shah, A. A., & Treit, D. (2003). Excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex attenuate fear responses in the elevated-plus maze, social interaction and shock probe burying tests. *Brain*

- Research*, 969(1), 183-194. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)02299-6](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)02299-6)
- Shah, A. A., & Treit, D. (2004). Infusions of midazolam into the medial prefrontal cortex produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze and shock-probe burying tests. *Brain Research*, 996(1), 31-40. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.015>
- Shansky, R. M. (2019). Are hormones a “female problem” for animal research? *Science*, 364(6443), 825-826. <https://doi.org/10.1126/science.aaw7570>
- Shansky, R. M., & Murphy, A. Z. (2021). Considering sex as a biological variable will require a global shift in science culture. *Nature Neuroscience*, 24(4), Article 4. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00806-8>
- Shekhar, A., McCann, U., Meaney, M., Blanchard, D., Davis, M., Frey, K., Liberzon, I., Overall, K., Shear, M., Tecott, L., & Winsky, L. (2001). Summary of a National Institute of Mental Health workshop : Developing animal models of anxiety disorders. *Psychopharmacology*, 157(4), 327-339. <https://doi.org/10.1007/s002130100859>
- Shemesh, Y., & Chen, A. (2023). A paradigm shift in translational psychiatry through rodent neuroethology. *Molecular Psychiatry*, 28(3), 993-1003. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01913-z>
- Sherafat, Y., Bautista, M., Fowler, J. P., Chen, E., Ahmed, A., & Fowler, C. D. (2020). The Interpeduncular-Ventral Hippocampus Pathway Mediates Active Stress Coping and Natural Reward. *eNeuro*, 7(6). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0191-20.2020>
- Sherrill, K. R., Chrastil, E. R., Aselcioglu, I., Hasselmo, M. E., & Stern, C. E. (2018). Structural Differences in Hippocampal and Entorhinal Gray Matter Volume Support Individual Differences in First Person Navigational Ability. *Neuroscience*, 380, 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.04.006>
- Shibata, H., & Suzuki, T. (1984). Efferent projections of the interpeduncular complex in the rat, with special reference to its subnuclei : A retrograde horseradish peroxidase study. *Brain Research*, 296(2), 345-349. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(84\)90071-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(84)90071-4)
- Shibata, H., Suzuki, T., & Matsushita, M. (1986). Afferent projections to the interpeduncular nucleus in the rat, as studied by retrograde and anterograde transport of wheat germ agglutinin conjugated to horseradish peroxidase. *The Journal of Comparative Neurology*, 248(2), 272-284. <https://doi.org/10.1002/cne.902480210>
- Shughrue, P. J., Lane, M. V., & Merchenthaler, I. (1999). Biologically active estrogen receptor-

- beta : Evidence from in vivo autoradiographic studies with estrogen receptor alpha-knockout mice. *Endocrinology*, 140(6), 2613-2620. <https://doi.org/10.1210/endo.140.6.6876>
- Shughrue, P., Scrimo, P., Lane, M., Askew, R., & Merchenthaler, I. (1997). The distribution of estrogen receptor-beta mRNA in forebrain regions of the estrogen receptor-alpha knockout mouse. *Endocrinology*, 138(12), 5649-5652. <https://doi.org/10.1210/endo.138.12.5712>
- Siapas, A. G., & Wilson, M. A. (1998). Coordinated interactions between hippocampal ripples and cortical spindles during slow-wave sleep. *Neuron*, 21(5), 1123-1128. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80629-7](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80629-7)
- Sigmon, S. T., Whitcomb-Smith, S. R., Rohan, K. J., & Kendrew, J. J. (2004). The role of anxiety level, coping styles, and cycle phase in menstrual distress. *Journal of Anxiety Disorders*, 18(2), 177-191. [https://doi.org/10.1016/S0887-6185\(02\)00243-8](https://doi.org/10.1016/S0887-6185(02)00243-8)
- Silveira, M. C., Sandner, G., & Graeff, F. G. (1993). Induction of Fos immunoreactivity in the brain by exposure to the elevated plus-maze. *Behavioural Brain Research*, 56(1), 115-118. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(93\)90028-o](https://doi.org/10.1016/0166-4328(93)90028-o)
- Simerly, R. B., Chang, C., Muramatsu, M., & Swanson, L. W. (1990). Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain : An in situ hybridization study. *The Journal of Comparative Neurology*, 294(1), 76-95. <https://doi.org/10.1002/cne.902940107>
- Singhaniyom, W., Wreford, N. G. M., & Güldner, F.-H. (1982). Distribution of 5-hydroxytryptamine-containing neuronal perikarya in the rat interpeduncular nucleus. *Neuroscience Letters*, 30(1), 51-55. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(82\)90011-8](https://doi.org/10.1016/0304-3940(82)90011-8)
- Sinnamon, H. M., Freniere, S., & Kootz, J. (1978). Rat hippocampus and memory for places of changing significance. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92(1), 142-155. <https://doi.org/10.1037/h0077446>
- Sirota, A., Csicsvari, J., Buhl, D., & Buzsáki, G. (2003). Communication between neocortex and hippocampus during sleep in rodents. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(4), 2065-2069. <https://doi.org/10.1073/pnas.0437938100>
- Smarr, B. L., Grant, A. D., Zucker, I., Prendergast, B. J., & Kriegsfeld, L. J. (2017). Sex differences in variability across timescales in BALB/c mice. *Biology of Sex Differences*, 8(1), 7.

- <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0125-3>
- Smith, M. E. (2005). Bilateral hippocampal volume reduction in adults with post-traumatic stress disorder: A meta-analysis of structural MRI studies. *Hippocampus*, *15*(6), 798-807. <https://doi.org/10.1002/hipo.20102>
- Soiza-Reilly, M., & Gaspar, P. (2020). From B1 to B9: A guide through hindbrain serotonin neurons with additional views from multidimensional characterization. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 23-40). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00002-5>
- Solati, J., Salari, A.-A., & Bakhtiari, A. (2011). 5HT(1A) and 5HT(1B) receptors of medial prefrontal cortex modulate anxiogenic-like behaviors in rats. *Neuroscience Letters*, *504*(3), 325-329. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.09.058>
- Somerville, L. H., Whalen, P. J., & Kelley, W. M. (2010). Human bed nucleus of the stria terminalis indexes hypervigilant threat monitoring. *Biological Psychiatry*, *68*(5), 416-424. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.04.002>
- Sorge, R. E., Martin, L. J., Isbester, K. A., Sotocinal, S. G., Rosen, S., Tuttle, A. H., Wieskopf, J. S., Acland, E. L., Dokova, A., Kadoura, B., Leger, P., Mapplebeck, J. C. S., McPhail, M., Delaney, A., Wigerblad, G., Schumann, A. P., Quinn, T., Frasnelli, J., Svensson, C. I., ... Mogil, J. S. (2014). Olfactory exposure to males, including men, causes stress and related analgesia in rodents. *Nature Methods*, *11*(6), 629-632. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2935>
- Sos, K. E., Mayer, M. I., Cserép, C., Takács, F. S., Szőnyi, A., Freund, T. F., & Nyiri, G. (2017). Cellular architecture and transmitter phenotypes of neurons of the mouse median raphe region. *Brain Structure and Function*, *222*(1), 287-299. <https://doi.org/10.1007/s00429-016-1217-x>
- Squire, L. R. (1992). Memory and the hippocampus: A synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, *99*(2), 195-231. <https://doi.org/10.1037/0033-295x.99.2.195>
- Squire, L. R., & Zola-Morgan, S. (1991). The medial temporal lobe memory system. *Science (New York, N.Y.)*, *253*(5026), 1380-1386. <https://doi.org/10.1126/science.1896849>
- Sramek, J. J., Murphy, M. F., & Cutler, N. R. (2016). Sex differences in the psychopharmacological treatment of depression. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, *18*(4), 447-457.

- Stujenske, J. M., Spellman, T., & Gordon, J. A. (2015). Modeling the Spatiotemporal Dynamics of Light and Heat Propagation for In Vivo Optogenetics. *Cell Reports*, *12*(3), 525-534. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.06.036>
- Swanson, L. W., & Cowan, W. M. (1975). Hippocampo-Hypothalamic Connections : Origin in Subicular Cortex, Not Ammon's Horn. *Science*, *189*(4199), 303-304. <https://doi.org/10.1126/science.49928>
- Swanson, L. W., & Cowan, W. M. (1977). An autoradiographic study of the organization of the efferent connections of the hippocampal formation in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, *172*(1), 49-84. <https://doi.org/10.1002/cne.901720104>
- Szuhany, K. L., & Simon, N. M. (2022). Anxiety Disorders : A Review. *JAMA*, *328*(24), 2431-2445. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.22744>
- Tanaka, K. F., Samuels, B. A., & Hen, R. (2012). Serotonin receptor expression along the dorsal–ventral axis of mouse hippocampus. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1601), 2395-2401. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0038>
- Tanapat, P., Hastings, N. B., Reeves, A. J., & Gould, E. (1999). Estrogen Stimulates a Transient Increase in the Number of New Neurons in the Dentate Gyrus of the Adult Female Rat. *Journal of Neuroscience*, *19*(14), 5792-5801. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-14-05792.1999>
- Taube, J. S. (2007). The head direction signal : Origins and sensory-motor integration. *Annual Review of Neuroscience*, *30*, 181-207. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.112854>
- Taylor, S., Abramowitz, J. S., & McKay, D. (2012). Non-adherence and non-response in the treatment of anxiety disorders. *Journal of Anxiety Disorders*, *26*(5), 583-589. <https://doi.org/10.1016/j.janxdis.2012.02.010>
- Teissier, A., Chemiakine, A., Inbar, B., Bagchi, S., Ray, R. S., Palmiter, R. D., Dymecki, S. M., Moore, H., & Ansorge, M. S. (2015). Activity of Raphé Serotonergic Neurons Controls Emotional Behaviors. *Cell Reports*, *13*(9), 1965-1976. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.10.061>
- Thierry, A. M., Gioanni, Y., Dégénétais, E., & Glowinski, J. (2000). Hippocampo-prefrontal cortex pathway : Anatomical and electrophysiological characteristics. *Hippocampus*, *10*(4), 411-419. [https://doi.org/10.1002/1098-1063\(2000\)10:4<411::AID-](https://doi.org/10.1002/1098-1063(2000)10:4<411::AID-)

HIPO7>3.0.CO;2-A

- Treit, D., Aujla, H., & Menard, J. (1998). Does the bed nucleus of the stria terminalis mediate fear behaviors? *Behavioral Neuroscience*, *112*(2), 379-386. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.2.379>
- Trivedi, M. A., & Coover, G. D. (2004). Lesions of the ventral hippocampus, but not the dorsal hippocampus, impair conditioned fear expression and inhibitory avoidance on the elevated T-maze. *Neurobiology of Learning and Memory*, *81*(3), 172-184. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2004.02.005>
- Tye, K. M., Prakash, R., Kim, S.-Y., Fenno, L. E., Grosenick, L., Zarabi, H., Thompson, K. R., Gradinaru, V., Ramakrishnan, C., & Deisseroth, K. (2011). Amygdala circuitry mediating reversible and bidirectional control of anxiety. *Nature*, *471*(7338), 358-362. <https://doi.org/10.1038/nature09820>
- Tyssowski, K. M., & Gray, J. M. (2019). Blue Light Increases Neuronal Activity-Regulated Gene Expression in the Absence of Optogenetic Proteins. *eNeuro*, *6*(5). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0085-19.2019>
- van de Poll, Y., Cras, Y., & Ellender, T. J. (2023). The neurophysiological basis of stress and anxiety—Comparing neuronal diversity in the bed nucleus of the stria terminalis (BNST) across species. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *17*. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fncel.2023.1225758>
- Van Veen, J. F., Jonker, B. W., Van Vliet, I. M., & Zitman, F. G. (2009). The Effects of Female Reproductive Hormones in Generalized Social Anxiety Disorder. *The International Journal of Psychiatry in Medicine*, *39*(3), 283-295. <https://doi.org/10.2190/PM.39.3.e>
- Varga, V., Losonczy, A., Zemelman, B. V., Borhegyi, Z., Nyiri, G., Domonkos, A., Hangya, B., Holderith, N., Magee, J. C., & Freund, T. F. (2009). Fast Synaptic Subcortical Control of Hippocampal Circuits. *Science*, *326*(5951), 449-453. <https://doi.org/10.1126/science.1178307>
- Veasey, S. C., Fornal, C. A., Metzler, C. W., & Jacobs, B. L. (1995). Response of serotonergic caudal raphe neurons in relation to specific motor activities in freely moving cats. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *15*(7 Pt 2), 5346-5359. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-07-05346.1995>
- Vertes, R. P. (1991). A PHA-L analysis of ascending projections of the dorsal raphe nucleus in the

- rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 313(4), 643-668.
<https://doi.org/10.1002/cne.903130409>
- Vertes, R. P. (2004). Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*, 51(1), 32-58. <https://doi.org/10.1002/syn.10279>
- Vertes, R. P. (2006). Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*, 142(1), 1-20.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.06.027>
- Vertes, R. P., & Crane, A. M. (1997). Distribution, quantification, and morphological characteristics of serotonin-immunoreactive cells of the suprallemniscal nucleus (B9) and pontomesencephalic reticular formation in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 378(3), 411-424. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-9861\(19970217\)378:3<411::aid-cne8>3.0.co;2-6](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-9861(19970217)378:3<411::aid-cne8>3.0.co;2-6)
- Vertes, R. P., Fortin, W. J., & Crane, A. M. (1999). Projections of the median raphe nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 407(4), 555-582.
- Verwer, R. W. H., Meijer, R. J., Van Uum, H. F. M., & Witter, M. P. (1997). Collateral projections from the rat hippocampal formation to the lateral and medial prefrontal cortex. *Hippocampus*, 7(4), 397-402. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(1997\)7:4<397::AID-HIPO5>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(1997)7:4<397::AID-HIPO5>3.0.CO;2-G)
- Viala, D., & Buser, P. (1969). The effects of DOPA and 5-HTP on rhythmic efferent discharges in hind limb nerves in the rabbit. *Brain Research*, 12(2), 437-443.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(69\)90011-0](https://doi.org/10.1016/0006-8993(69)90011-0)
- Viala, D., & Buser, P. (1971). Modalités d'obtention de rythmes locomoteurs chez le lapin spinal par traitements pharmacologiques (DOPA, 5-HTP,d-amphétamine). *Brain Research*, 35(1), 151-165. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(71\)90601-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(71)90601-9)
- Vogt, B. A., & Miller, M. W. (1983). Cortical connections between rat cingulate cortex and visual, motor, and postsubicular cortices. *The Journal of Comparative Neurology*, 216(2), 192-210. <https://doi.org/10.1002/cne.902160207>
- Voigt, J. P., Rex, A., Sohr, R., & Fink, H. (1999). Hippocampal 5-HT and NE release in the transgenic rat TGR(mREN2)27 related to behavior on the elevated plus maze. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 9(4), 279-285. [https://doi.org/10.1016/s0924-977x\(98\)00031-](https://doi.org/10.1016/s0924-977x(98)00031-)

- Waider, J., Araragi, N., Gutknecht, L., & Lesch, K.-P. (2011). Tryptophan hydroxylase-2 (TPH2) in disorders of cognitive control and emotion regulation: A perspective. *Psychoneuroendocrinology*, 36(3), 393-405. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.12.012>
- Wald, C., & Wu, C. (2010). Of Mice and Women: The Bias in Animal Models. *Science*, 327(5973), 1571-1572. <https://doi.org/10.1126/science.327.5973.1571>
- Walf, A. A., & Frye, C. A. (2007). The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2(2), Article 2. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
- Walter, A., Mai, J. K., Lanta, L., & Görös, T. (1991). Differential distribution of immunohistochemical markers in the bed nucleus of the stria terminalis in the human brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 4(4), 281-298. [https://doi.org/10.1016/0891-0618\(91\)90019-9](https://doi.org/10.1016/0891-0618(91)90019-9)
- Walther, D. J., Peter, J.-U., Bashammakh, S., Hörtnagl, H., Voits, M., Fink, H., & Bader, M. (2003). Synthesis of Serotonin by a Second Tryptophan Hydroxylase Isoform. *Science*, 299(5603), 76-76. <https://doi.org/10.1126/science.1078197>
- Warren, S. G., Humphreys, A. G., Juraska, J. M., & Greenough, W. T. (1995). LTP varies across the estrous cycle: Enhanced synaptic plasticity in proestrus rats. *Brain Research*, 703(1), 26-30. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01059-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01059-9)
- Weeden, C. S. S., Roberts, J. M., Kamm, A. M., & Kesner, R. P. (2015). The role of the ventral dentate gyrus in anxiety-based behaviors. *Neurobiology of Learning and Memory*, 118, 143-149. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.12.002>
- Wilson, M. A., Burghardt, P. R., Ford, K. A., Wilkinson, M. B., & Primeaux, S. D. (2004). Anxiolytic effects of diazepam and ethanol in two behavioral models: Comparison of males and females. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 78(3), 445-458. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.04.017>
- Winocur, G., & Olds, J. (1978). Effects of context manipulation on memory and reversal learning in rats with hippocampal lesions. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92(2), 312-321. <https://doi.org/10.1037/h0077468>
- Winterer, J., Stempel, A. V., Dugladze, T., Földy, C., Maziashvili, N., Zivkovic, A. R., Priller, J.,

- Soltesz, I., Gloveli, T., & Schmitz, D. (2011). Cell-type-specific modulation of feedback inhibition by serotonin in the hippocampus. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *31*(23), 8464-8475. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6382-10.2011>
- Wirtshafter, D., Asin, K. E., & Lorens, S. A. (1986). Serotonin-immunoreactive projections to the hippocampus from the interpeduncular nucleus in the rat. *Neuroscience Letters*, *64*(3), 259-262. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(86\)90338-1](https://doi.org/10.1016/0304-3940(86)90338-1)
- Witter, M. (2012). Hippocampus. In *The Mouse Nervous System* (p. 112-139). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-369497-3.10005-6>
- Wolfman, S. L., Gill, D. F., Bogdanic, F., Long, K., Al-Hasani, R., McCall, J. G., Bruchas, M. R., & McGehee, D. S. (2018). Nicotine aversion is mediated by GABAergic interpeduncular nucleus inputs to laterodorsal tegmentum. *Nature Communications*, *9*(1), 2710. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04654-2>
- Woodhams, P. L., Roberts, G. W., Polak, J. M., & Crow, T. J. (1983). Distribution of neuropeptides in the limbic system of the rat : The bed nucleus of the stria terminalis, septum and preoptic area. *Neuroscience*, *8*(4), 677-703. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(83\)90003-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(83)90003-9)
- Woodruff, T. K. (2014). Sex, equity, and science. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *111*(14), 5063-5064. <https://doi.org/10.1073/pnas.1404203111>
- Woolley, C. S., Gould, E., Frankfurt, M., & McEwen, B. S. (1990). Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, *10*(12), 4035-4039. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.10-12-04035.1990>
- Woolley, C. S., & McEwen, B. S. (1992). Estradiol mediates fluctuation in hippocampal synapse density during the estrous cycle in the adult rat [published erratum appears in *J Neurosci* 1992 Oct;12(10):following table of contents]. *Journal of Neuroscience*, *12*(7), 2549-2554. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-07-02549.1992>
- Wright, I. K., Upton, N., & Marsden, C. A. (1992). Effect of established and putative anxiolytics on extracellular 5-HT and 5-HIAA in the ventral hippocampus of rats during behaviour on the elevated X-maze. *Psychopharmacology*, *109*(3), 338-346. <https://doi.org/10.1007/BF02245882>
- Wylie, C. J., Hendricks, T. J., Zhang, B., Wang, L., Lu, P., Leahy, P., Fox, S., Maeno, H., &

- Deneris, E. S. (2010). Distinct Transcriptomes Define Rostral and Caudal Serotonin Neurons. *Journal of Neuroscience*, 30(2), 670-684. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4656-09.2010>
- Yassa, M. A., Hazlett, R. L., Stark, C. E. L., & Hoehn-Saric, R. (2012). Functional MRI of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis during conditions of uncertainty in generalized anxiety disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 46(8), 1045-1052. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2012.04.013>
- Yeung, M., Dickson, C. T., & Treit, D. (2013). Intrahippocampal infusion of the Ih blocker ZD7288 slows evoked theta rhythm and produces anxiolytic-like effects in the elevated plus maze. *Hippocampus*, 23(4), 278-286. <https://doi.org/10.1002/hipo.22086>
- Yeung, M., Treit, D., & Dickson, C. T. (2012). A critical test of the hippocampal theta model of anxiolytic drug action. *Neuropharmacology*, 62(1), 155-160. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.06.011>
- Yoon, T., & Otto, T. (2007). Differential contributions of dorsal vs. Ventral hippocampus to auditory trace fear conditioning. *Neurobiology of Learning and Memory*, 87(4), 464-475. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2006.12.006>
- Zangrossi, H., Del Ben, C. M., Graeff, F. G., & Guimarães, F. S. (2020). Serotonin in panic and anxiety disorders. In *Handbook of Behavioral Neuroscience* (Vol. 31, p. 611-633). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64125-0.00036-0>
- Zhang, W.-N., Pothuizen, H. H. J., Feldon, J., & Rawlins, J. N. P. (2004). Dissociation of function within the hippocampus : Effects of dorsal, ventral and complete excitotoxic hippocampal lesions on spatial navigation. *Neuroscience*, 127(2), 289-300. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.05.007>
- Zhao, S., Ting, J. T., Atallah, H. E., Qiu, L., Tan, J., Gloss, B., Augustine, G. J., Deisseroth, K., Luo, M., Graybiel, A. M., & Feng, G. (2011). Cell type-specific channelrhodopsin-2 transgenic mice for optogenetic dissection of neural circuitry function. *Nature Methods*, 8(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1668>
- Zhao-Shea, R., Liu, L., Pang, X., Gardner, P. D., & Tapper, A. R. (2013). Activation of GABAergic neurons in the interpeduncular nucleus triggers physical nicotine withdrawal symptoms. *Current Biology: CB*, 23(23), 2327-2335. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.041>

Zola, S. M., Squire, L. R., Teng, E., Stefanacci, L., Buffalo, E. A., & Clark, R. E. (2000). Impaired Recognition Memory in Monkeys after Damage Limited to the Hippocampal Region. *The Journal of Neuroscience*, 20(1), 451-463. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-01-00451.2000>

Zucker, I., & Beery, A. K. (2010). Males still dominate animal studies. *Nature*, 465(7299), Article 7299. <https://doi.org/10.1038/465690a>