

Université de Montréal

**Dépression post-infarctus du myocarde :
Caractérisations comportementale et biochimique d'un
modèle expérimental chez le rat.**

par

Boubacar Pasto Wann

Programme de sciences biomédicales

Faculté de médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de Philosophia Doctor
en Sciences biomédicales
option Sciences psychiatriques

Novembre 2006



© Boubacar Pasto Wann, 2006

W

4

U58

2007

V. 079

AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :

**Dépression post-infarctus du myocarde :
Caractérisations comportementale et biochimique d'un
modèle expérimental chez le rat.**

présentée par :

Boubacar Pasto Wann

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

René Cardinal, Ph.D., Président-rapporteur

Roger Godbout, Ph.D., Directeur de recherche

Guy Rousseau, Ph.D., Co-directeur

François Lespérance, Ph.D., Membre du jury

Catherine Bielajew, Ph.D., Examineur externe

Graciela Pineyro Filpo, Ph.D., Représentante du doyen de la FES

Résumé

Environ 15 à 30% des patients ayant un infarctus du myocarde (IM) développe une dépression majeure. L'IM provoque par ailleurs la libération de cytokines pro-inflammatoires et la littérature scientifique permet de penser que cet excès affecterait le système nerveux central, notamment les structures cérébrales associées à la physiopathologie de la dépression. Les objectifs de cette thèse sont: 1) valider la présence d'un syndrome dépressif chez le rat suite à un IM, à l'aide de tests comportementaux; 2) vérifier la présence d'apoptose dans le système limbique en utilisant des outils biochimiques; 3) vérifier la contribution des cytokines dans l'apoptose en utilisant un outil pharmacologique; 4) vérifier l'effet de molécules antidépressives sur ces mesures.

Pour atteindre ces objectifs un IM est induit chez des rats pendant 40 minutes, suivie d'une reperfusion de 72 heures ou de deux semaines. Pour valider la présence d'un syndrome dépressif, nous soumettons les rats aux tests de préférence au sucrose, la nage forcée et un test de mémoire spatiale. Deux semaines après l'IM, les résultats montrent que les rats expérimentaux boivent significativement moins d'eau sucrée que les contrôles (Anhédonie). Ils s'immobilisent plus longtemps en situation de nage forcée (détresse comportementale). Les antidépresseurs desipramine et sertraline ont renversé ces résultats comportementaux. Par ailleurs les rats expérimentaux ne montrent pas de déficit de la mémoire spatiale.

Nous vérifions la présence d'apoptose dans le système limbique (cortex préfrontal, hypothalamus, amygdale, hippocampe) et dans une structure témoin

(cervelet) par les mesures biochimiques suivantes: ratio Bax/Bcl2, PI-3 kinase, caspase-3 et TUNEL. Comparés aux rats témoins, le ratio Bax/Bcl2, l'activité de la caspase-3 et les cellules TUNEL positives augmentent significativement dans toutes les structures limbiques étudiées mais pas dans le cervelet. L'apoptose a été bloquée par la pentoxyfilline et la sertraline.

Enfin une association entre les mesures comportementales et biochimiques peut être estimée par un test de corrélation statistique entre les séries de données obtenues. Une analyse préliminaire montre une corrélation positive entre la mesure de détresse comportementale et la mesure de vulnérabilité à l'apoptose dans le cortex préfrontal.

Ces résultats établissent les bases d'un modèle expérimental de la dépression post-infarctus du myocarde.

Mots-clés : Infarctus du myocarde, cytokines pro-inflammatoires, apoptose, protéines dépression, comportement, antidépresseurs.

Abstract

About 15 to 30% of patients with myocardial infarction (MI) develop a major depression. MI is known to induce pro-inflammatory cytokines release, an excessive amount of which could affect the central nervous system, including brain structures associated to the pathophysiological of depression. The aims of this thesis are to: 1) validate the presence of a depressive syndrome in the rat following MI, using behavioural tests; 2) verify the presence of apoptosis in the limbic system, using biochemical tools; 3) verify the involvement of cytokines in inducing apoptosis, using pharmacological tools; 4) to verify the effect of antidepressant molecules on these measures.

To achieve these goals adult rats were submitted to regional myocardial ischemia during 40 minutes followed 72 hours and two weeks of reperfusion. To validate the presence of a depressive syndrome, we used three behavioural tests: sucrose preference, forced swim and a spatial memory tests. Two weeks after MI, results showed that experimental rats significantly drank less sucrose than sham rats, suggesting a state of anhedonia. They also remained more immobile in forced swimming situation, suggesting behavioural despair. Experimental rats, however, did not show any spatial memory deficit. Treatment with the antidepressant molecules desipramine and sertraline prevented the behavioural deficits associated to MI.

Apoptosis was assayed in the limbic system (prefrontal cortex, hypothalamus, amygdala, and hippocampus) as well as in a control structure (cerebellum) by measuring the biochemical activity of Bax/Bcl2 ratio, PI-3 Kinase, caspase-3 and TUNEL. Compared to sham rats, Bax/Bcl2 ratio, caspase-3 activity and TUNEL positive cells were significantly increased in most of the limbic structures studied but not in the cerebellum. Apoptosis was prevented the cytokine synthesis antagonist pentoxifylline as well as by the antidepressant sertraline.

Finally, we found a statistically significant positive correlation between behavioral despair and the Bax/Bcl2 ratio in the prefrontal cortex.

These results establish the bases of an experimental model of post MI depression.

Keywords: Myocardial infarction, pro-inflammatory cytokines, apoptosis, proteins, depression, behavioural, antidepressants.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Table des matières.....	vii
Abréviations	xvii
Liste des tableaux.....	xxv
Liste des figures	xxvi
Remerciements.....	xxx
Introduction	1
I. Chapitre I : la dépression.....	4
I.1. Définition	4
I.2. Symptômes.....	4
I.3. Modèles animaux de la dépression	5
I.4. Test de préférence au sucrose	6
I.5. Test de la nage forcée.....	6
I.6. Stress chronique	7
I.7. Bulbectomie	8

I.8. Physiopathologie de la dépression	8
I.9. La neurotransmission	9
I.10. Altérations structurales	11
I.11. Le système endocrinien	12
I.12. Le système limbique	15
I.13. Amygdale.....	17
I.14. Projections et fonctions de l'amygdale.....	18
I.15. Hippocampe	22
I.16. L'hypothalamus	24
I.17. Cortex Préfrontal	27
I.18. Interface système limbique–système cardiovasculaire.....	29
II. Chapitre II : Infarctus du myocarde et reperfusion	36
II.1. Définition de l'infarctus du myocarde.....	36
II.2. Les causes psychophysiologiques de l'infarctus du myocarde	36
II.2. Conséquences de l'ischémie	38
II.3. Reperfusion du myocarde et conséquences pathologiques	40
II.4. Lésion due à la reperfusion	41
II.4.1. Radicaux libres d'oxygène.....	41

II.4.2. Surcharge de calcium	43
II.4.3. Lésion médiée par les plaquettes.....	46
II.4.4. Lésion médiée par les neutrophiles.....	48
III. Chapitre III : Apoptose.....	50
III.1. Définition	50
III.2. Mécanisme d'action de l'apoptose.....	53
III.2.1. La famille Bcl2.....	55
III.2.2. Caspases	57
III.2.3. Phospho-inositol 3 kinase (PI3-Kinase).....	61
IV. Chapitre IV : Infarctus du myocarde et dépression.....	63
IV.1. Implication des cytokines.....	63
IV.1.1. Hypothèse des cytokines	64
IV.1.2. Évidences expérimentales de l'hypothèse des cytokines	65
IV.1.3. Voies de communications entre les cytokines périphériques et le cerveau	68
IV.1.4. Cytokines dans le système nerveux central.....	70
IV.1.5. Action des cytokines sur les mécanismes synaptiques et neurochimiques dans le SNC.....	71
IV.2. Apoptose et dépression.....	74

V. Chapitre V : Dépression et infarctus du myocarde	76
V.1. Relations entre dépression et maladies cardiovasculaires.....	78
V.1.1. Hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien	80
V.1.2. Réduction de la variabilité du rythme cardiaque.....	83
V.1.3. Augmentation de la réactivité des plaquettes.....	86
VI. Chapitre VI : Objectifs et hypothèses	90
VI.1. Objectifs	90
VI.2. Hypothèses	91
VI.2.1. Hypothèse principale.....	92
VI.2.1.1. Hypothèses sous-jacentes.....	92
VII. Chapitre VII: Premier article.....	94
VII.1. Contributions dans la réalisation du premier article.....	94
VII.2. Abstract	97
VII.3. Introduction	99
VII.4. Procedures and Methods	101
VII.4.1. Experimental groups	101
VII.4.2. Surgical procedures.....	101
VII.4.3. Sacrifice of the animals.....	102

VII.4.4.	Estimation of infarct size	102
VII.4.5.	Brain region preparation	103
VII.4.5.1.	PI3K activity	103
VII.4.5.2.	Determination of the Bax/Bcl-2 content	104
VII.4.5.3.	Caspase-3 activity	104
VII.4.5.4.	TUNEL assay.....	105
VII.4.6.	Statistical analysis	106
VII.5.	Results	107
VII.5.1.	Infarct size.....	107
VII.5.1.1.	PI3K activity	107
VII.5.1.2.	Bax/Bcl-2 ratio	107
VII.5.1.3.	Caspase-3 activity	108
VII.5.1.4.	TUNEL.....	109
VII.6.	Discussion	110
VII.7.	Acknowledgments.....	112
VII.8.	References	113
VII.9.	Tableau	115
VII.9.1.	Table 1. Total and Positive TUNEL cells in amygdala	115

VII.10.	Figures.....	116
	Figure 1	116
	Figure 2	117
	Figure 3	118
	Figure 4	119
VII.11.	Figure legends.....	120
VIII.	Chapitre VIII: Deuxième article.....	122
VIII.1.	Contributions dans la réalisation du deuxième article	122
VIII.2.	Abstract	125
VIII.3.	Introduction.....	127
VIII.4.	Methods.....	129
	VIII.4.1. Experimental groups.	129
	VIII.4.2. Surgical procedure.	129
	VIII.4.3. Behavioural measures.	130
	VIII.4.3.1. Forced Swim Test:	130
	VIII.4.3.2. Sucrose Preference Test:	131
	VIII.4.3.3. Morris Water Maze (MWM):.....	131
VIII.4.4.	Tissue analyses.....	131

	xiii
VIII.4.4.1. Infarct size:.....	132
VIII.4.4.2. Bax/Bcl-2 content:	132
VIII.4.4.3. Caspase-3 activity.	133
VIII.4.5. Statistical analysis.....	134
VIII.5. Results.....	135
VIII.5.1. Forced Swim Test (Figure 1A):	135
VIII.5.1.1. Sucrose preference test (Figure 1B):.....	135
VIII.5.1.2. Morris Water Maze:	136
VIII.5.2. Tissue analyses.....	136
VIII.5.2.1. Infarct size:.....	136
VIII.5.2.2. Bax/Bcl-2 content (Figure 2):	136
VIII.5.2.3. Relation between BAX/Bcl-2 ratios and specific behavioural changes (Figure 3):	137
VIII.5.2.4. Caspase-3 activity:	137
VIII.6. Discussion	138
VIII.7. Acknowledgements:	141
VIII.8. Références	142
VIII.9. Figure legends	148

	xiv
Figure 1	150
Figure 2	150
Figure 2	151
Figure 3	152
IX. Chapitre IX: Troisième article.....	153
IX.1. Contributions dans la réalisation du troisième article	153
IX.2. ABSTRACT	157
IX.3. INTRODUCTION.....	159
IX.4. METHODS.....	161
IX.4.1. Experimental groups	161
IX.4.1.1. Surgical procedure	161
IX.4.2. Behavioural measures	162
IX.4.2.1. Forced Swimming Test	162
IX.4.2.2. Sucrose Preference Test	163
IX.4.2.3. Infarct size.....	163
IX.4.3. Tissue analyses.....	164
IX.4.3.1. Caspase-3 activity	164
IX.4.3.2. TUNEL assays	165

IX.4.3.3.	Bax/Bcl-2 content.....	165
IX.4.4.	Statistical Analysis.....	166
IX.5.	RESULTS.....	168
IX.5.1.	2 weeks post-MI.....	168
IX.5.1.1.	Myocardial infarct size and area at risk	168
IX.5.1.2.	Forced Swimming Test	168
IX.5.1.3.	Sucrose Preference Test	169
IX.5.1.4.	Bax/Bcl-2	169
IX.5.1.5.	Relation between Bax/Bcl-2 ratio and swimming time in the Forced swim test	170
IX.5.2.	Tissue analyses (3 days post-MI).....	171
IX.5.2.1.	Caspase-3	171
IX.5.2.2.	TUNEL.....	172
IX.6.	DISCUSSION	174
IX.6.1.	Behavioural syndrome following MI in the rat.....	174
IX.6.2.	Biochemical findings: further evidence for actual apoptosis in the limbic system following myocardial infarct.....	175
IX.7.	Acknowledgements	179
IX.8.	References	180

	xvi
IX.9. Figure legends	188
TABLE 1	190
Figure 1.	192
Figure 2.	193
Figure 3.	194
Figure 4a.	195
Figure 4b.	196
Figure 4c.	197
Figure 4d.	198
Figure 4e.	199
X. Chapitre X : Discussion générale	200
X.1. Comportementale	200
X.2. Biochimique	203
X.3. Intégration	210
X.4. Conclusion.....	213
X.5. Bibliographie.....	215

Abréviations

5-HT Sérotonine

Ac-DEVD-AMC Substrat de caspase-3 fluorogénique, N-acetyl-asp-glu-val-asp-7-

Amino-4-methylcoumarin

ACTH Adrénocorticotropine hormone

AD Antidépresseur (Desipramine)

ADP Adénosine diphosphate

AKT Protéine kinase

AM Avant midi

ANOVA Analyse de la variance

APAF1 Facteur activateur de la protéase apoptotique

ARNm Acide ribonucléique messenger

ATP Adénosine triphosphate

BAD Antagoniste causant la mort cellulaire (Bcl2)

Bax Protéine pro-apoptotique

Bcl2	Protéine anti-apoptotique Bcl-2 (B-cell lymphoma/leukemia- 2)
BDNF	Facteur neurotrophique provenant du cerveau
BF	Basse fréquence
BH	Homologie de Bcl2
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BL	Basolatéral (Amygdale)
BNST	Noyau du lit des stries terminales
CA	Californie
CA1	Corne Ammon 1
CA3	Corne Ammon 3
cAMP	Adénosine monophosphate cyclique
CARD	Domaine de recrutement des caspases
CeM	Centromédiane (Amygdale)
CHAPS	[3-cholamidopropyl diméthylammonio]-1-propanesulfonate
CO2	Dioxyde de carbone

CPFL	Cortex préfrontal latéral
CPFMV	Cortex préfrontal médio-ventral
CREB	cAMP response element binding protein
CRF	Facteur de libération de la corticotropine
CRH	Hormone de libération de la corticotropine
DA	Dopamine
DED	Domaine effecteur de la mort
DIABLO	Protéine de liaison de l'inhibiteur directe de l'apoptose
DISC	Complexe de signalisation induisant la mort
DLL	DL-1,4-dithiothreitol
DR	Raphé dorsal
DSM IV	Manuel de diagnostique et de statistique IV
DTT	Dithiothreitol
ECG	Électrocardiogramme
EDTA	Ethylenediaminetetra-acetic acid

EGTA	Ethylene glycol bis-2-aminoethyl ether-N,N',N,n'-tetraacetic acid
EPA	Acide eicosapenta-énoïque
FADD	Fas associé au domaine de la mort
Fas	Récepteur de la mort
FasL	Ligand du récepteur de la mort
FC	Cortex frontal
GABA	Acide gamma aminobutyrique
GF	Facteur de croissance
GFR	Récepteur du facteur de croissance
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HA	Hypothalamus antérieur
HF	Haute fréquence
HP	Hypothalamus postérieur
HP	Hippocampe
HPA	Axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien

Hyp	Hypothalamus
IAF	Facteur induisant l'apoptose
ICAM	Molécule d'adhésion intercellulaire
ICV	Intracérébroventriculaire
IDO	Indolamine dioxygénase
IFN	Interféron
IgG-HRP	Immunoglobuline G-Horseradish Peroxidase
IL	Interleukine
IM	Infarctus du myocarde
ISRS	Inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine
KD	Kilo Dalton
LAM	Labyrinthe aquatique de Morris
LC	Locus coeruleus
LDL	Lipide de densité faible
LPS	Lipopolysaccharide

LTD	Dépression à long terme
LTP	Potentialisation à long terme
MAO	Monoamine oxydase
MCV	Maladie cardiovasculaire
MDD	Trouble dépressif majeur
MgCl ₂	Dichlorure de magnésium
MVLC	Bulbe ventrolatéral caudal
MVLR	Bulbe ventrolatéral rostral
MWM	Morris Water Maze
NA	Noradrénaline
NAc	Noyau accumbens
NaOH	Hydroxyde de sodium
NE	Norépinephrine
NFS	faisceau du noyau solitaire
NMDA	N-methyl-D-aspartate

OH	Hydroxyl
OVC	Organes circumventriculaires
PDK	Phospho-inositol dépendante de la kinase
PG	Prostaglandine
PGE	Prostaglandine E
PGI	Prostacycline
PI3-Kinase	Phospho-inositol 3 kinase
PIP	Phosphatidylinositol phosphate
PKB	Protéine kinase B
PMSF	Phenylmethylsulfonyl fluoride
PTEN	Phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten
PTX	Pentoxifylline
RG	Récepteur des glucocorticoïdes
RM	Récepteur des minéralocorticoïdes
R-R	Intervalle de temps entre deux battements cardiaques

SDS-PAGE	Sodium dodecyl sulphate-Polyacrilamide gel électrophorèse
SEM	Standard error of the mean
SH	Groupe thiol
SMAC	Second activateur des caspases issu de la mitochondrie
SNA	Système nerveux autonome
SNC	Système nerveux central
SNS	Système nerveux sympathique
ST	Temps de la stimulation complète des ventricules
TLC	Chromatographie à couche mince
TNF- α	Facteur de la nécrose tumorale- α
TUNEL	Terminal dUTP Nick-End Labelling
TxA2	Thromboxane A2
VRC	Variabilité du rythme cardiaque
VTA	Aire tegmentaire ventrale
X ²	Chi carré

Liste des tableaux

Table 1 VI-1: Total and Positive TUNEL cells in amygdala

Table 2 VIII-1: Results of TUNEL signal detection in the various limbic structures studied.

Liste des figures

Figure 1 : Quelques structures cérébrales qui seraient impliquées dans la médiation des symptômes de la dépression.

Figure 2 : Voies de signalisation dans l'apoptose d'un cardiomyocyte.

Figure 3 : Schéma hypothétique des altérations physiopathologiques associées avec la dépression qui contribueraient à l'augmentation de la vulnérabilité aux maladies cardiovasculaires.

Figure 4 VI-1A: PI3K activity in the amygdala.

Figure 5 VI-1B: Western blot analysis of Bax and Bcl-2 expression in the amygdala.

Figure 6 VI-1C: Caspase-3 activity in amygdala.

Figure 7 VI-2A: PI3K activity in the hippocampus.

Figure 8 VI-2B: Western blot analysis of Bax and Bcl-2 expression in the hippocampus.

Figure 9 VI-2C: Caspase-3 activity in the hippocampus.

Figure 10 VI-3A: PI3K activity in the vermis.

Figure 11 VI-3B: Western blot analysis of Bax and Bcl-2 expression in the vermis.

Figure 12 VI- 3C: Caspase-3 activity in the vermis.

Figure 13 VI-4: Typical example of positive cells in amygdala.

Figure 14 VII-1A: Results of forced Swim Test.

Figure 15 VII-1B: Results of Sucrose Preference Test.

Figure 16 VII-2: Top: a picture of representative gel (Western blot analyses). Bottom: Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex.

Figure 17 VII-3: Linear regression between Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex and Swimming time in the Forced swim test.

Figure 18 VIII-1: Results of forced swim test in MI and control sham groups, with and without chronic sertraline treatment.

Figure 19 VIII-2: Results of sucrose preference test in MI and control sham groups, with and without chronic sertraline treatment.

Figure 20 VIII-3A: Results of levels of caspase-3 activity in the basolateral amygdala with and without chronic antidepressant sertraline treatment.

Figure 20 VIII-3B: Results of levels of caspase-3 activity in the centromedial amygdala with and without chronic antidepressant sertraline treatment.

Figure 20 VIII-3C: Results of levels of caspase-3 activity in the CA1 of hippocampus with and without chronic antidepressant sertraline treatment.

Figure 20 VIII-3D: Results of levels of caspase-3 activity in the dentate gyrus of hippocampus with and without chronic antidepressant sertraline treatment.

Figure 20 VIII-3E: Results of levels of caspase-3 activity in the anterior hypothalamus of hippocampus with and without chronic antidepressant sertraline treatment.

Figure 21 VIII-4: Linear regression between Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex and Swimming time in the Forced swim.

*À mes deux filles Lamarana Sandrine et
Kadiatou Marya; à ma femme Nathalie et à
mon frère Alpha Morane Diallo.*

Remerciements

Je tiens à exprimer ici ma sincère gratitude au Dr Roger Godbout, mon directeur de recherche, pour m'avoir fait confiance, guidé, encouragé, conseillé et soutenu inlassablement durant ces années. Je le remercie également pour la rigueur et la patience avec lesquelles il a dirigé cette thèse.

Mes sincères remerciements vont également au Dr Guy Rousseau, mon codirecteur, pour le temps et la patience qu'il m'a accordés tout au long de ces années. Son expertise, son intérêt, ses conseils et ses commentaires ont fortement enrichi ma formation.

Toute ma reconnaissance va également à mes parrains, Dr Graciela Pineyro et Dr François Lespérance pour leurs conseils, le suivi et l'amélioration de la qualité de cette thèse.

Je remercie également les membres du jury pour le temps qu'ils ont consacré à lire, à corriger et à faire des remarques et suggestions pour améliorer la qualité de cette thèse.

Mes sincères remerciements à Dr Nathalie Le Marec et à Thierno Madjou Bah pour leur participation active dans la réalisation de cette thèse.

Je tiens également à remercier les étudiants du laboratoire de Dr Guy Rousseau pour leur participation directe ou indirecte dans la réalisation de cette thèse notamment Dr Matthieu Boucher, Sevan Kaloustian et Stéphanie Falcao.

Je remercie également le Centre de recherche de l'Hôpital Sacré-Cœur de Montréal pour m'avoir accueilli et soutenu matériellement et financièrement durant ces années.

Ma gratitude va également à Pierre Fortier, Caroline Bouchard et Louis Chiochio du service de l'animalerie du Centre de recherche de l'hôpital Sacré-Cœur de Montréal pour leur soutien technique constant durant ces années.

Je ne saurais oublier mes chers parents et amis pour leur inestimable soutien moral et matériel et tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de la présente thèse. Que les uns et autres trouvent ici l'expression de mes sentiments de profonde gratitude.

Introduction

Le trouble dépressif majeur survient chez environ 15 à 30 % des patients qui font un infarctus de myocarde (IM). La dépression est un facteur de risque indépendant pour le développement des maladies cardiovasculaires. Elle est associée à une augmentation du taux de mortalité après un IM; c'est un indicateur significatif de la mortalité chez les patients six mois après un infarctus du myocarde. Les mécanismes physiopathologiques qui sont à la base du développement de cette dépression ne sont pas totalement élucidés. Des récentes études suggèrent que les cytokines pro-inflammatoires sont impliquées dans l'étiologie de la dépression.

En effet, l'occlusion de l'artère coronaire descendante gauche est suivie par des changements physiologiques et métaboliques qui apparaissent aussitôt la cessation du flux coronaire; par exemple, le métabolisme énergétique se modifie en passant du métabolisme aérobie ou mitochondrial à celui de la glycolyse anaérobie. En même temps l'efficacité des contractions du cœur diminue et finit par cesser. Le potentiel membranaire diminue et l'électrocardiogramme (ECG) change d'apparence. La demande énergétique des myocytes excède de loin l'approvisionnement à partir de la glycolyse anaérobie.

Ainsi, la reperfusion du myocarde ischémique est nécessaire pour protéger le tissu cardiaque d'une mort éventuelle. Toutefois, cette reperfusion même après une brève période d'ischémie est associée avec des changements pathologiques qui représentent soit une accélération de processus initiés durant l'ischémie ou de nouveaux changements physiopathologiques initiés après la reperfusion. En effet, la

reperfusion provoque la libération dans la circulation sanguine, entre autres, de cytokines qui activent la réponse inflammatoire; celle-ci, cependant, atténue l'effet bénéfique de la reperfusion du myocarde car les cytokines pro-inflammatoires peuvent induire la mort cellulaire. Les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine-1 (IL-1), le facteur de la nécrose tumorale alpha (TNF- α) et l'interféron gamma (IF- γ) peuvent également affecter la survie cellulaire à travers des mécanismes extracellulaires incluant l'excitotoxicité qui implique le glutamate et l'apoptose.

De plus, l'IL-1 β stimule les neurones du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, lesquels synthétisent et libèrent le facteur de libération de la corticotropine (CRF); celui-ci induit l'hyperactivation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HPA). Parallèlement, l'activation adrénergique anormale dans le locus coeruleus (LC) entraîne une hyperactivation sympathique qui agit sur les récepteurs cardiaques et augmente ainsi le rythme cardiaque, la pression sanguine et la fréquence de la contraction ventriculaire; c'est qui influencera la vulnérabilité à la tachycardie ou à la fibrillation ventriculaire susceptible d'induire à la mort.

Ainsi, l'objectif de cette étude est de développer un modèle animal de la dépression post-IM : d'abord examiner l'apoptose et les phénomènes qui y sont reliés dans le système limbique des rats suite à un IM, en utilisant des outils

biochimiques ; ensuite valider la présence d'un syndrome dépressif à l'aide de tests comportementaux.

I. Chapitre I : la dépression

I.1. Définition

Selon le DSM IV (1994) (Manuel de diagnostique et de statistique) la dépression se définit comme étant la perte de la capacité à fonctionner dans la vie familiale ou au travail pour au moins deux semaines due à des perturbations d'humeur, de sommeil, de concentration, d'estime de soi, d'appétit, d'énergie physique ou sexuelle.

I.2. Symptômes

Selon le DSM-IV (1994) au moins cinq des symptômes suivants doivent être retrouvés dans les deux semaines précédant l'examen. Il faut signaler que ne sont pas inclus les symptômes dus à une médication générale, à des hallucinations ou de délires.

Une humeur déprimée durant presque toute la journée et presque tous les jours

Une diminution d'intérêt ou de plaisir dans presque toutes les activités et tous les jours

Une perte ou un gain significatifs de poids de plus de 5% du poids du corps en un mois; une diminution ou une augmentation quotidienne de l'appétit.

Une insomnie ou une hypersomnie journalière.

Une agitation ou un retard psychomoteur presque quotidien.

Une fatigue ou une perte d'énergie quotidienne.

Une sensation d'inutilité ou de culpabilité quotidienne.

Une réduction de la capacité de réflexion, de concentration ou de l'indécision presque quotidienne.

Des pensées récurrentes de mort, des idées de suicide sans un plan spécifique.

I.3. Modèles animaux de la dépression

Il est difficile d'étudier tous les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la dépression humaine, d'où l'importance des modèles animaux. En considérant un modèle animal de la dépression, ou de n'importe quelle maladie observée chez l'homme en fait, il est important de clarifier les buts poursuivis (McKinney 2001). Un modèle animal de la dépression peut par exemple être utilisé pour étudier les mécanismes biologiques à la base des symptômes et développer de nouveaux traitements (Nestler et al 2002b). On cherchera donc à répliquer en laboratoire un ou des facteurs étiologiques qui sont associés à la dépression chez l'homme et ensuite vérifier la présence d'un ou plusieurs des symptômes qui caractérisent la dépression. Parmi les symptômes de la dépression certains sont difficiles sinon impossibles à modéliser, par exemple les pensées suicidaires, la

culpabilité ou le sentiment de dévalorisation alors que d'autres le sont plus facilement, comme la perte d'intérêt ou l'anhédonie (Vaugeois et al 2004). Il existe plusieurs modèles animaux utilisés dans la recherche sur la dépression, et les quatre plus utilisés sont décrits dans les paragraphes suivants.

I.4. Test de préférence au sucrose

Ce test a été utilisé pour reproduire l'anhédonie qui représente la perte d'intérêt ou de plaisir, un symptôme majeur dans une tentative de modélisation de la dépression. Plus spécifiquement, l'anhédonie a été définie comme une réduction de la prise du sucrose comparée au groupe témoin (Willner et al 1987). Ce test consiste à permettre au rat d'avoir libre accès à deux bouteilles d'eau : une contenant l'eau plate et la deuxième une solution d'eau sucrée (1% de sucrose). La position des bouteilles est alternée chaque jour pour éviter de créer une habitude. La prise hydrique est estimée en pesant les bouteilles chaque jour.

I.5. Test de la nage forcée

Ce test également connu sous le nom de test de Porsolt est largement utilisé dans la recherche de modèle animal de la dépression, plus spécifiquement dans la détermination de l'efficacité des antidépresseurs (Porsolt 2000). Ce test consiste à placer un rat ou une souris dans une piscine remplie d'eau sans possibilité de s'échapper et de mesurer trois paramètres : le temps d'immobilité, le temps de nage

et celui d'échappement. L'avantage du test de la nage forcée est la facilité avec laquelle on peut l'utiliser ; il fournit également un modèle utile qui permet d'étudier les mécanismes neurobiologiques et génétiques qui sous tendent les réponses au stress et aux antidépresseurs (Lucki 2001; Porsolt 2000).

I.6. Stress chronique

Plusieurs tests basés sur l'exposition des animaux à un stress non contrôlable ont été utilisés chez les rats (Willner 1997). En général, il a été beaucoup plus difficile d'établir des tests équivalents chez la souris. Dans le paradigme du stress chronique modéré, les rongeurs sont exposés à une variété de stress relativement modéré (perturbations du cycle lumière-obscurité, privation d'eau, inclinaison des cages, etc.), intermittent pour des périodes de temps relativement prolongées (par exemple plusieurs semaines). L'avantage de ce test est d'abord sa grande validité par ce qu'il implique des efforts naturels ; de plus les animaux stressés montrent une réduction de préférence au sucrose et une variété de séquelles cardiovasculaire et neuroendocrine renversés par un traitement aux antidépresseurs à long terme dans certaines études (Nestler et al 2002b). Le désavantage majeur du modèle de stress chronique est sa faible reproductibilité (Nestler et al 2002b).

I.7. Bulbectomie

L'ablation bilatérale des bulbes olfactifs provoque des perturbations, qui sont dues d'une part, à la dégénérescence des fibres efférentes, comme les projections de l'acide γ -aminobutyrique (GABA), issues des corps cellulaires des bulbes olfactifs, vers les structures limbiques (Cairncross et al 1979). D'autre part, ces perturbations sont dues à la dégénérescence des fibres afférentes, telles que les projections noradrénergiques et sérotoninergiques provenant respectivement du locus coeruleus et des noyaux du raphé du cerveau médian vers les bulbes olfactifs (Cairncross et al 1979). Ces perturbations peuvent être, entre autres, biochimiques, physiologiques ou comportementales (Kelly et al 1997). Cette chirurgie est réalisée selon la méthode de Van Riezen et Leonard (1990) et consiste à trépaner le crâne du rat d'environ 2 mm de diamètre au-dessus des bulbes olfactifs, soit à environ 6 mm du côté rostral de bregma; les bulbes olfactifs sont ensuite aspirés, l'espace vacant est comblé avec du matériel stérile.

I.8. Physiopathologie de la dépression

Les théories de la physiopathologie de la dépression mettent principalement en évidence le rôle de trois systèmes fonctionnels centraux : la neurotransmission, l'activité du système limbique et le système neuroendocrinien (Cassidy and O'Keane 2000; Collins et al 1985; Elhwuegi 2004).

I.9. La neurotransmission

Il est largement accepté que le déséquilibre neurochimique est à la base de la physiopathologie des troubles d'humeur. Il a été indiqué très tôt que les agents qui diminuent les niveaux des monoamines, telle que la réserpine, conduirait à la dépression. Ceci a conduit à l'hypothèse selon laquelle une réduction de la disponibilité des neurotransmetteurs monoamines notamment la norépinephrine (NE) et la sérotonine jouerait un rôle dans l'apparition de la dépression (Schildkraut 1965). En effet, la dépression est associée aux perturbations de l'activité de la sérotonine (5-HT), la NE et de la dopamine ainsi que les variations des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT₂ et les récepteurs α ₁-NE ou β -NE (Maes and Meltzer 1995; Schatzberg and Schildkraut 1995). Les données concernant les variations de la 5-HT dans la dépression sont probablement les plus largement étudiées. L'évidence qui sous tend l'implication de la 5-HT dans la dépression vient d'une part des études montrant que la manipulation pharmacologique de la 5-HT atténue la dépression (Blier 2003). Ensuite, les études post mortem et du liquide céphalorachidien indiquent de faibles concentrations de 5-HT et de son métabolite, l'acide 5-hydroxyindolacétique chez les victimes de suicide et ceux qui font des tentatives de suicide. L'analyse des cerveaux des patients déprimés qui se sont suicidés ont révélé des perturbations morphologiques et fonctionnelles dans des parties spécifiques par exemple du cortex préfrontal (le cortex dorsomédian et celui orbital) comme partie d'un grand système de processus neuronal qui peut contribuer à l'émergence de la

dépression (Anguelova et al 2003a; Anguelova et al 2003b; Drevets 2001).

L'hypothèse des monoamines a été également supportée par la découverte selon laquelle le traitement aux antidépresseurs, les tricycliques et les inhibiteurs des monoamines oxydases, augmente à court terme la concentration des monoamines (Duman et al 1997). L'action inhibitrice de certaines molécules (par exemple les inhibiteurs de la monoamine oxydase et les tricycliques) sur le transporteur de la sérotonine est classiquement considérée la base de leurs propriétés antidépressives et le transporteur, entre autres, serait au cœur de la physiopathologie de la dépression (Malison et al 1998). En effet, l'administration d'un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS), telle que la fluoxétine, est requise pour obtenir une désensibilisation maximale des autorécepteurs 5-HT_{1A} (Blier and deMontigny 1994; Czachura and Rasmussen 2000); ceci permet de restaurer la décharge normale des neurones de la sérotonine dans le noyau du raphé dorsal. L'internalisation associée à la désensibilisation des autorécepteurs 5-HT_{1A} est compatible avec le long délai (3 à plusieurs semaines) observé dans la réponse thérapeutique aux ISRS (Beer et al 1990; Kennett et al 1987). Ainsi, le traitement aigu avec la fluoxétine induit une internalisation des autorécepteurs dans le noyau du raphé dorsal et non dans l'hippocampe où se trouvent des hétérocepteurs (Riad et al 2004).

I.10. Altérations structurales

Il est probable que plusieurs structures cérébrales médient les divers symptômes de la dépression. La connaissance des fonctions de ces diverses structures est importante pour comprendre certains aspects de la dépression sur lesquels elles interviennent. Par exemples, le néocortex et l'hippocampe peuvent médier les aspects cognitifs de la dépression tels que les altérations de la mémoire, les sentiments de dévalorisation, d'inutilité ou de culpabilité et des idées suicidaires. Le noyau accumbens et l'amygdale ainsi que les structures qui leur sont associées sont importantes pour la mémoire émotionnelle, l'anhédonie, l'anxiété et la réduction de la motivation ; l'hypothalamus interviendrait, entre autres, dans le sommeil, l'appétit, l'énergie et le désir sexuel (Nestler et al 2002a). L'implication de plusieurs structures qui composent le système limbique nous incite à faire une revue de littérature sur celui-ci.

Des récentes études ont démontré que l'altération de certaines structures du cerveau tels que l'hippocampe et le cortex cérébral surviennent en réponse au stress et chez les patients ayant des troubles d'humeur (Duman et al 1997; Duman et al 2000; Manji et al 2000a). Ces altérations structurales sont réversibles après traitement aux antidépresseurs (Duman 2002).

En effet, lorsque le stress est répété il peut causer une atrophie des neurones pyramidaux du CA3 (Corn Ammon) de l'hippocampe, incluant la diminution du

nombre et de la longueur des dendrites apicales. De plus, l'exposition au stress aigu diminue la prolifération des cellules dans le gyrus dentelé de l'hippocampe (Gould et al 2000). L'hippocampe est l'une des rares structures cérébrales où les cellules neurales continuent à se diviser et à augmenter de nouveaux neurones chez les animaux adultes. Chez les patients avec dépression ou trouble de stress post traumatique, des études d'imagerie cérébrale ont démontré que le volume de l'hippocampe est diminué (Sheline et al 2000). Il a été également rapporté des altérations dans le cortex cérébral des patients avec dépression ; ces altérations incluent une diminution du volume du cortex préfrontal subgénual et une diminution du nombre de neurones et de cellules gliales (Drevets 2000; Rajkowska 2000).

I.11. Le système endocrinien

L'implication des hormones dans le fonctionnement des émotions ou dans la pathophysiologie des désordres émotionnels est d'une importance fondamentale. Par exemple les deux composantes majeures de la réponse au stress sont l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien (HPA) et le système sympathique. Plusieurs études ont montré l'hyperactivité de l'axe HPA chez les patients avec dépression non traitée avec une élévation des corticostéroïdes dans la circulation générale (Musselman et al 1998).

L'atrophie et la perte neurale dans l'hippocampe, aussi bien que dans le cortex cérébral, résulteraient de plusieurs facteurs ; ceux-ci incluent l'hyperactivation de l'axe HPA, la toxicité glutamatergique, l'infection virale ou bactérienne, l'hypoxie-ischémie ou la vulnérabilité au stress (Duman et al 1997; Duman et al 2000).

De plus, les facteurs neurotrophiques dont le facteur neurotrophique cérébral (BDNF), le facteur de croissance neural et la neurotrophine-3, jouent un rôle fondamental durant le développement et la maturation des neurones. En effet, ces facteurs interviennent dans la régulation de la croissance et la différenciation neurales ; ce sont des puissants régulateurs de la plasticité et de la survie des neurones et des cellules gliales chez l'adulte (Duman et al 1997). Toutefois, l'expression de ces facteurs neurotrophiques est hautement régulée par une variété de stimuli ; ceux-ci incluent le stress et les drogues psychotropes. L'expression du BDNF, l'un des facteurs neurotrophiques les plus prédominants dans le cerveau de l'adulte, dans l'hippocampe est dramatiquement diminuée par l'exposition au stress (Smith et al 1995); ce fait a été observé après stress un aigu et chronique dans le gyrus dentelé, le CA3 et dans les couches des cellules pyramidales du CA1. Il est possible que la diminution du BDNF puisse contribuer à l'atrophie des neurones du CA3 et la réduction de la neurogénèse des cellules granulaires dans l'hippocampe (Duman 2002).

Par ailleurs, les études épidémiologiques montrent qu'à peu près 40-50% du risque pour développer la dépression est d'origine génétique (Fava and Kendler 2000; Sanders et al 1999). Ceci fait de la dépression un trouble fortement héréditaire. La recherche des gènes spécifiques qui confèrent un risque à la dépression n'est pas pour le moment concluante. La difficulté à trouver les gènes qui confèrent la vulnérabilité à la dépression équivaut à la difficulté à trouver des gènes pour les autres troubles psychiatriques. L'une des raisons de cette difficulté inclue le fait que la dépression est un phénomène complexe avec l'implication possible de plusieurs gènes. Ainsi, n'importe quel simple gène pourrait produire un effet relativement petit et par conséquent serait difficile à détecter expérimentalement. Il est également possible que les variantes dans les différents gènes peuvent contribuer à la dépression dans chaque famille, ce qui compliquerait davantage la recherche des gènes de dépression (Burmeister 1999).

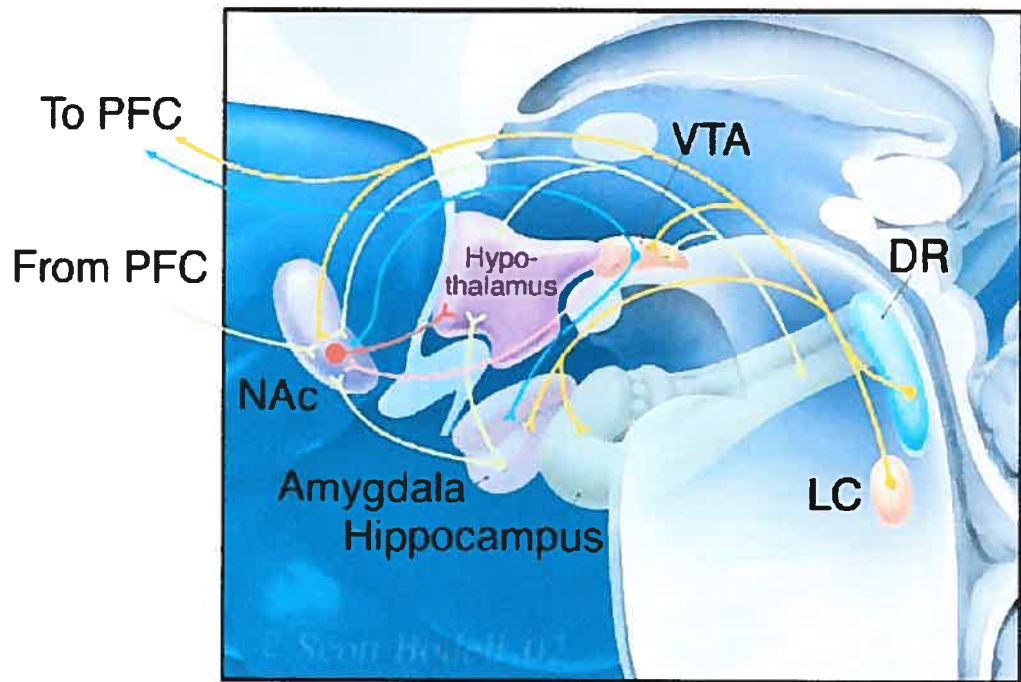
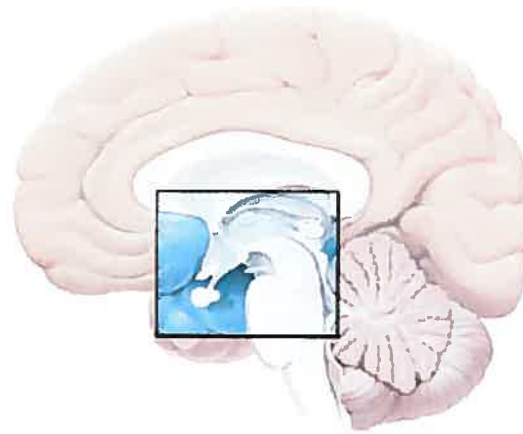
Enfin il faut noter le rôle central du système immunitaire, principalement le système des cytokines dans la physiopathologie de la dépression de l'humeur ou dans la vulnérabilité à la dépression (Dantzer et al 1999; Hurwitz and Morgenstern 2001). En effet, les cytokines sont des protéines de signalisation. Elles influencent la croissance et la prolifération des cellules et modulent la réponse immunitaire. C'est pour cette raison qu'elles seraient responsables de la plupart des symptômes psychique et physique de l'infection et de l'inflammation. La perturbation de ce système est impliquée dans l'apparition des maladies auto-immunes, des maladies

cardiovasculaires et la dépression (Cassidy and O'Keane 2000; Collins et al 1985; Elhwuegi 2004).

I.12. Le système limbique

Le mot lobe limbique a été donné par Broca en 1878 ; ce terme se rapporte à un nombre de structures sur les surfaces médiane et basale de l'hémisphère qui forme la bordure autour du tronc cérébral. Le lobe limbique et toutes les structures qui lui sont connectées constituent le système limbique qui joue un rôle fondamental dans la fonction viscérale, le comportement émotionnel et la mémoire, l'intégration des réponses homéostatiques telles que celles reliées à la préservation de l'espèce, la réponse de lutte ou de fuite, du comportement sexuel et de la motivation (Afifi and Bergman 1998).

Ainsi, l'altération des fonctions des structures qui composent ce système limbique serait, entre autres, responsable de la dépression d'une part et de l'autre perturberait les fonctions du système cardiovasculaire (Richardson 1991; TerHorst 1999). C'est pourquoi nous étudierons certaines de ces structures telles que l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus et le cortex préfrontal.



- GABAergic
- Glutamatergic
- Dopaminergic
- Peptidergic
- NEergic/5HTergic

Figure 1 : Quelques structures cérébrales qui seraient impliquées dans la médiation des symptômes de la dépression (Nestler et al 2002b). NAc : Noyau accumbens ; PFC : Cortex préfrontal ; LC : Locus coeruleus ; DR : Raphé dorsal ; VTA : Aire tegmentaire ventrale

I.13. Amygdale

L'amygdale est une composante clé du système limbique et a été associée aux fonctions émotionnelle, motivationnelle et homéostatique (Nieuwenhuys 1996a; Saper 1995). Elle a été longtemps associée à l'hypothalamus, mais de nos jours il a été montré que ses noyaux disposent des connexions avec plusieurs autres structures du cerveau incluant l'hippocampe, le thalamus, le néocortex, le striatum et diverses structures dans le tronc cérébral (TerHorst et al 1993).

L'amygdale est principalement constituée de plusieurs groupes nucléaires : la portion la plus grande et la mieux différenciée est le groupe nucléaire basolatéral (BL) ; cette portion est formée du noyau latéral, du noyau basal et du noyau basal accessoire. Les principales classes de neurones rencontrés dans le BL sont les cellules pyramidales épineuses et les cellules étoilées épineuses dispersées, avec une prédominance des cellules pyramidales (Best 1992). Ensuite, le groupe centromédian (Ce-M) constitue le deuxième groupe nucléaire formé du noyau central et du noyau médian ; ce groupe Ce-M est connecté à l'hypothalamus par des fibres, connue sous le nom de noyau du lit des stries terminales (BNST). Le type de

cellules que l'on trouve dans le Ce-M est identique à celui que l'on retrouve dans le BNST ; ce qui fait que le BNST est considéré comme « l'amygdale prolongée ». Le BNST reste dans le cerveau antérieur qui renferme également le noyau accumbens, le noyau basal de Meynert et les portions ventrales du putamen et du globus pallidus (qui sont les ganglions de la base). La plus petite portion du complexe amygdaloïde est le noyau cortical, également connue sous le nom de l'amygdale olfactive à cause du fait que le principal input au groupe nucléaire cortical provient des bulbes olfactifs et du cortex olfactif. Certains auteurs regroupent ensemble le noyau cortical et celui Ce-M sous le nom de amygdale corticomédiane (Best 1992).

I.14. Projections et fonctions de l'amygdale

Les stries terminales et le tractus amygdalo-fugal ventral sont les principaux faisceaux de fibres qui se connectent à l'amygdale. À travers les stries terminales le Ce-M se projette principalement à l'hypothalamus tandis que via le tractus amygdalo-fugal, le Ce-M se projette au tronc cérébral où il influence l'aspect hormonal et celui somatomoteur du comportement tels que l'alimentation, la prise hydrique et le sexe (Best 1992). Le Ce-M se projette également à la division latérale du BNST qui est connue comme le prolongement latéral de l'amygdale (Alheid et al 1995). Ainsi, la stimulation électrique ou chimique du Ce-M n'active pas uniquement les cellules du Ce-M qui se projettent à l'hypothalamus et au tronc

cérébral mais aussi les cellules du Ce-M qui se projettent au BNST. Le Ce-M et le BNST envoient des projections à l'hypothalamus latéral qui est impliqué dans l'activation du système nerveux autonome (SNA) durant la peur et l'anxiété par exemple. Des projections directes au noyau moteur dorsal du nerf vague, au noyau du tractus solitaire et à la médulla ventrale latérale peuvent être impliquées dans la modulation du rythme cardiaque et de la pression sanguine qui sont régulés par ces noyaux du tronc cérébral (Davis and Whalen 2001; Whalen et al 1998). Les lésions bilatérales de l'amygdale centrale induisent une rupture des réponses parasympathiques conditionnée ou non à l'évitement du choc électrique du pied (Roozendaal et al 1991; Roozendaal et al 1991). La stimulation électrique de l'amygdale centrale induit un pattern complexe des changements cardiovasculaires. Des réponses bradycardiques ont été provoquées durant la stimulation électrique de l'amygdale centrale antéro-médiane chez le lapin éveillé (Kapp et al 1982b). Toutefois la stimulation électrique de l'amygdale centrale produit des réponses de tachycardie et de l'augmentation de la pression sanguine chez le rat éveillé (Gelsema et al 1987; Goldstein et al 1996). Les projections du Ce-M ou du BNST à l'aire tegmentaire ventrale assurent la médiation de l'augmentation, des métabolites de la dopamine dans le cortex préfrontal suite à un stress (Goldstein et al 1996). De plus, des projections indirectes du Ce-M au noyau paraventriculaire via le BNST et l'aire préoptique peuvent assurer la médiation des réponses neuroendocrines importantes aux stimuli effrayants et stressants (Davis and Whalen 2001).

Quant au noyau basolatéral, il établit des fortes connexions avec le cortex insulaire, le cortex orbital et la paroi médiane du lobe frontal. Ces différentes connexions utilisent le glutamate et/ou l'aspartate comme neurotransmetteur. Les noyaux du BL se projettent sur le striatum et reçoivent l'input cholinergique (qui utilise l'acétylcholine comme neurotransmetteur) du noyau basal de Meynert (Best 1992). L'amygdale BL reçoit l'information sensorielle issue du thalamus, de l'hippocampe et du cortex et ensuite active ou module la transmission synaptique dans les zones cibles appropriées pour le renforcement du signal avec lequel l'information sensorielle est associée (Holland and Gallagher 1999). Autrement dit, les noyaux BL se projettent au Ce-M qui se projette ensuite, en partie, dans l'hypothalamus et dans les zones cibles du tronc cérébral qui médient directement par exemple les signes de peur et d'anxiété (Davis et al 1997).

À l'intérieur de l'amygdale les connexions commencent dans la division basolatérale et finissent dans la division centromédiane. C'est le noyau latéral qui reçoit la plupart des informations sensibles qui arrivent dans l'amygdale en provenance du cervelet. En général, cette portion latérale de l'amygdale est vue comme inhibiteur et réflecteur de l'environnement externe ; tandis que l'amygdale médiane est vue comme facilitateur et réflecteur de l'environnement interne. La stimulation de l'amygdale BL diminue le comportement d'alimentation ; cette stimulation du groupe nucléaire basolatéral aboutit également à l'éveil et à l'attention alors que la stimulation de l'amygdale corticomédiane augmente par

exemple la prise de nourriture. Les outputs de l'amygdale proviendraient du noyau central, la région du cerveau la plus riche en peptides (Best 1992). Il existe beaucoup plus de projections qui partent de l'amygdale vers l'hippocampe que le sens opposé ; la plus forte projection part du noyau central au cortex entorhinal (l'aire corticale à partir de laquelle l'hippocampe reçoit la plupart de ses inputs sensitifs). Les projections secondaires proviennent principalement de la division parvicellulaire du noyau basal, qui reçoit la plupart des connexions de retour de l'hippocampe (Best 1992).

Ainsi, l'amygdale serait spécialement impliquée dans l'augmentation de la vigilance en affaiblissant le seuil neuronal des systèmes sensoriels. Ceci surviendrait via l'activation des neurones cholinergiques dans le cerveau antérieur basal qui affaiblissent les seuils de réponse des aires corticales sensorielles à travers la libération de l'acétylcholine (Metherate and Ashe 1991; Robbins et al 1989). De plus, l'activation des neurones cholinergiques, dopaminergiques, sérotoninergiques et noradrénergiques dans le tronc cérébral peut avoir des grandes influences sur les transmissions sensorielle et motrice thalamique et sous thalamique (Whalen et al 1998). Le rôle de l'amygdale dans la modulation des niveaux de vigilance en réponse à l'incertitude a des implications importantes pour l'étude de la psychopathologie humaine. L'hypervigilance est par exemple un symptôme clé du trouble de l'anxiété ; l'anxiété pathologique peut ne pas être un trouble de la peur mais un trouble de vigilance. En effet, les études de neuro-imagerie impliquent

l'amygdale dans les troubles psychiatriques telles que l'anxiété (Rauch et al 1996) et la dépression (Drevets et al 1992).

I.15. Hippocampe

La région de l'hippocampe comprend deux ensembles de structures corticales, la formation de l'hippocampe et la région parahippocampale. La formation de l'hippocampe comprend trois régions distinctes : le gyrus dentelé, le sibiculum et l'hippocampe lequel est subdivisé en CA1, CA2 et CA3 (Lorente de Nò, 1933). Les cellules granulaires du gyrus dentelé se projettent, via leurs fibres moussues, au CA3 de l'hippocampe. D'autres connexions intrinsèques unidirectionnelles similaires existent entre CA3 vers CA1 et CA1 vers le sibiculum.

La régulation normale de l'humeur dépendrait de l'intégrité des voies assurant la liaison entre le cortex préfrontal paralimbique et les ganglions de la base. Certains investigateurs différencient le réseau amygdalo-orbito-frontal qui supporte les émotions et les humeurs du système hippocampal-cingulaire qui supporte l'encodage et le traitement explicite de la mémoire, parmi les autres fonctions, mais ces deux systèmes fonctionnent en concert. Ainsi, beaucoup de régions sont importantes pour comprendre la physiopathologie des troubles de l'humeur. L'hippocampe est une structure qui forme le plancher de la corne temporale inférieure du ventricule latéral et s'étend du bord antérieur de la corne ventriculaire au splenium du corps calleux. L'hippocampe est une région qui a reçu une attention

significative dans la recherche des troubles d'humeur; hautement plastique, sensible au stress, l'hippocampe jouerait un rôle central dans la dépression. Les cellules granulaires et pyramidales glutamatergiques représentent environ 90% des neurones de l'hippocampe; les 10% qui restent sont principalement constitués d'interneurones produisant l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Fritschy et al 1998). Dans la région du CA1 la présence des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (Sudweeks and Yakel 2000), de la noradrénaline (Sudweeks and Yakel 2000) et de la sérotonine (Hoyer et al 1994) indiquent la présence de neurotransmetteurs bien caractérisés.

Le cortex entorhinal fournit les principales afférences glutamatergiques pour former des synapses soit directement sur les neurones pyramidaux du CA1 ou offre des boutons aux dendrites des cellules granulaires du gyrus dentelé. Les fibres moussues issues des neurones granulaires se projettent aux dendrites des cellules pyramidales du CA3, lesquelles en retour se projettent au CA1. Les axones du CA1 sont connectés directement ou indirectement par le cortex entorhinal et forment au moins deux voies : la première voie est une projection efférente du sibiculum à travers le fornix et le noyau antéro-thalamique. La deuxième voie est également une projection efférente du cortex entorhinal à travers laquelle les fibres de sortie hippocampale s'étendent au cortex d'association temporal inférieur, au cortex préfrontal et au cortex temporal (Freund and Buzsaki 1996). De plus, la formation

de l'hippocampe exerce également une influence sur la boucle striatale à travers le noyau accumbens.

L'hippocampe est impliqué dans l'apprentissage et la consolidation des mémoires explicites. La perte des cellules pyramidales du CA1 est suffisante pour provoquer une amnésie antérograde qui va de modérée à sévère; des dommages limités à l'hippocampe et au cortex entorhinal ont été associés avec l'amnésie rétrograde et antérograde (Alvarez and Squire 1994; Zola-Morgan et al 1986). Une lésion neurotoxique du sibilum ventral éliminerait l'inhibition du feedback négatif que l'hippocampe exerce sur l'hypothalamus et ainsi provoquer l'augmentation des glucocorticoïdes dans le sang (Hermanet al 1998).

I.16. L'hypothalamus

L'hypothalamus est une partie du diencephale, il est ventral au thalamus et constitue le plancher et les parois du quatrième ventricule (Bleier and Albrecht 1982). Le fornix divise l'hypothalamus en une région médiane et une région latérale. La région médiane a un ensemble de noyaux repartis en quatre groupes nucléaires: le préoptique, le suprachiasmatique, le tubéral et les mamillaires (Afifi and Bergman 1998).

L'hypothalamus dispose de connexions qui sont divisées d'une part en connexions locales qui sont les efférences et d'autre part en connexions extrinsèques qui sont des afférences et des efférences. Les connexions hypothalamiques locales

sont composées du tractus hypothalamo-hypophysaire qui relie les noyaux supraoptique et paraventriculaire de l'hypothalamus avec le lobe postérieur de l'hypophyse. Les axones de ce tractus transportent la vasopressine issue du noyau supraoptique et de l'ocytocine issue du noyau paraventriculaire. Enfin le tractus tubérohypophysaire qui relie les noyaux arqué et périventriculaire de l'hypothalamus avec le lobe antérieur de l'hypophyse. Ce tractus transporte le facteur de libération de corticotrophine (CRF) (Afifi and Bergman 1998). Les connexions extrinsèques des afférences sont, entre autres, l'amygdalo-hypothalamique, le thalamo-hypothalamique, le fornix; tandis que les efférences des connexions extrinsèques, sont entre autres, l'hypothalamo-amygdaloïde, le fornix, l'hypothalamo-cérébelleux (Afifi and Bergman 1998).

Les fonctions de l'hypothalamus consistent, principalement, à intégrer la réponse autonome et la fonction endocrine avec le comportement, particulièrement le comportement relié aux besoins homéostatiques de base de la vie quotidienne. L'hypothalamus contrôle la pression sanguine et la composition électrolyte à l'aide d'un ensemble de mécanismes régulateurs qui s'étendent du contrôle de la consommation d'eau à l'osmolarité sanguine et au tonus vasomoteur. Il régule également la température corporelle, contrôle le métabolisme énergétique en régulant l'alimentation, la digestion et le rythme métabolique. L'hypothalamus régule également la reproduction à travers le contrôle hormonal, la grossesse et de la lactation ; de plus, il contrôle les réponses urgentes au stress incluant les réponses

physiques et immunologiques au stress en régulant le flux sanguin dans les muscles par exemple et la sécrétion des hormones du stress (Swanson and Sawchenko 1983a).

Pour réaliser ces diverses fonctions, l'hypothalamus utilise plusieurs mécanismes. D'abord, il accède à l'information sensorielle de presque tout le corps : les inputs issus du système olfactif, de la rétine et du système sensitif viscéral lui parviennent directement. Le noyau suprachiasmatique utilise l'input visuel pour synchroniser le mécanisme de l'horloge interne au cycle jour et nuit de l'environnement externe (Guillemin 1978; Swanson and Sawchenko 1983b). Les inputs somatosensitifs des viscères qui envoient l'information sur la douleur sont relayés à l'hypothalamus à partir de la corne dorsale de la moelle épinière et du trigéminal. De plus, l'hypothalamus renferme des nerfs sensitifs internes qui sont responsables des changements par exemples de la température locale, de l'osmolarité, du glucose et du sodium. Ensuite, l'hypothalamus compare l'information sensorielle avec des valeurs cibles ; par exemple, il compare la température locale dans l'aire préoptique à la valeur cible de 37°C ; si l'hypothalamus est chaud, il active les mécanismes de dissipation de la chaleur. Il existe des valeurs cibles pour la plupart des processus physiologiques, dont le sucre sanguin, le sodium, l'osmolarité et les concentrations des hormones (Guillemin 1978; Swanson and Sawchenko 1983b). Enfin, lorsque l'hypothalamus détecte une déviation d'une valeur cible, il déploie un ensemble de réponses autonome,

endocrine et comportementale pour restaurer l'homéostasie. Si le corps est chaud l'hypothalamus modifie le flux sanguin en le dirigeant des couches les plus profondes vers les surfaces vasculaires cutanées et augmente la transpiration et la perte de chaleur à travers la peau. Ainsi tous ces processus doivent être coordonnés, et pour ce faire l'hypothalamus dispose de plusieurs groupes de cellules spécialisées à la réalisation de ces différentes fonctions (Guillemin 1978; Swanson and Sawchenko 1983a)

I.17. Cortex Préfrontal

Le cortex préfrontal est situé en avant des cortex moteur et prémoteur dans le lobe frontal. Il est défini comme étant le territoire qui reçoit les projections du noyau dorsomédian du thalamus (Fuster 1996). Le cortex préfrontal peut être divisé en trois régions (Fuster 1996) : la première est médiane, une partie du noyau dorsomédian qui se projette à la surface orbitale ou ventrale du cortex préfrontal. Cette région est aussi appelée le cortex orbitofrontal. La deuxième région est latérale, également une partie du noyau dorsomédian ; cette partie du cortex préfrontal reçoit les inputs du cortex pariétal et est impliquée dans des tâches comme la mémoire spatiale à court terme (Fuster 1996; Rolls and Treves 1998). La troisième région est beaucoup plus latérale et se projette au niveau frontal de l'œil, dans la bordure antérieure du sulcus arqué.

Le cortex préfrontal exerce les fonctions exécutives supérieures telles que la gestion et la planification. Ceci se fait grâce à une attention sélective de l'information pertinente pour le comportement et l'inhibition de l'information non pertinente (Fuster 1989; Miller and Cohen 2001; Roberts and Wallis 2000). Il est impliqué dans l'initiation, la planification et l'exécution des mouvements. Pour atteindre cet objectif, il doit intégrer toutes les afférences endogènes et exogènes de l'organisme (Koechlin et al 2000; Stuss and Benson 1986). Le cortex préfrontal dorsal ou latéral joue un rôle important dans la mémoire de travail ; cette région reçoit les différentes projections des aires associatives sensorielles et des structures limbiques pour reproduire l'environnement afin de mieux planifier la réponse à tout stimulus provenant de celui-ci (Koechlin et al 2000; Sohn et al 2001). Le cortex préfrontal médian est impliqué dans l'attention sélective, dans la flexibilité comportementale, dans la mémoire de travail et la régulation de l'humeur (Delatour and Gisquet-Verrier 2000; Drevets et al 1997; Ragozzino et al 2002). Il est également impliqué dans l'apprentissage, les processus de mémorisation et la régulation des comportements émotionnels (Baldwin et al 2002; Ragozzino et al 1998).

I.18. Interface système limbique–système cardiovasculaire

La régulation de l'activité cardiaque est attribuée à un ensemble de structures hautement interconnectées dans le tronc cérébral et le cerveau antérieur qui forment un réseau autonome central. Une des composantes clés de ce réseau est le noyau du faisceau solitaire (NFS). Le NFS est le site de la première synapse pour les fibres afférentes provenant des barorécepteurs, des chémorécepteurs et du cœur. Cette zone médullaire reçoit des projections issues du noyau central de l'amygdale. Le NFS reçoit également des entrées viscérales issues des nerfs crâniens VII (Nerf facial), IX (Nerf glosso-pharyngien) et X (Nerf vague ou pneumogastrique) et ensuite utilise ces informations pour moduler la fonction autonome (Randall 1984; Ross et al 1985). En effet, l'information afférente viscérale pénètre le cerveau à travers le NFS ; cette information est envoyée au niveau des neurones préganglionnaires, dans la médulla ventrolatérale qui coordonne les réflexes autonomes et respiratoires et dans le cerveau antérieur. Les rares entrées directes sont relayées dans le noyau parabrachial qui envoie l'information sensorielle viscérale à l'hypothalamus, à l'amygdale, au septum, au cortex et dans la matière grise périaqueducale (Inversen et al 2000; Saha 2005). En plus du NFS, le bulbe (médulla) ventrolatéral rostral (MVLr) représente également une composante importante dans la régulation du système cardiovasculaire ; elle renferme des neurones qui assurent le maintien de la pression sanguine et l'activité nerveuse

sympathique via des projections sur les neurones préganglionnaires sympathiques dans la colonne cellulaire intermedio-latérale de la moëlle épinière thoraco-lombaire (Saha 2005).

Par ailleurs, une des structures limbiques impliquées et qui joue un rôle fondamental dans la régulation de la pression sanguine est l'amygdale; il a été montré que la stimulation électrique de l'amygdale chez le rat et le chat provoque une augmentation de la pression sanguine artérielle, du rythme cardiaque et du flux sanguin (Galeno and Broody 1983; Hilton and Zbrozyna 1963). Chez le lapin, la stimulation électrique du noyau central de l'amygdale provoque une bradycardie et une hypotension (Kapp et al 1982a; RAL 1994). Par contre, une stimulation chimique induit des réponses variées : chez le rat anesthésié, la micro-injection du L-glutamate (acide aminé excitateur) dans le noyau central de l'amygdale provoque des diminutions de la pression sanguine et du rythme cardiaque ; tandis que chez le rat légèrement anesthésié ou éveillé, elle provoque l'effet inverse. La diminution de la pression sanguine observée chez les rats anesthésiés a été attribuée aux effets dépresseurs de l'anesthésie sur la vasoconstriction dans les reins et les lits mésentériques qui causent l'augmentation de la pression sanguine observée chez les rats éveillés (Galeno and Broody 1983). Ainsi, le noyau central de l'amygdale est capable d'influencer la pression sanguine durant les états de stress mental ou d'anxiété. Lorsque les conditions sont stressantes, le noyau central de l'amygdale peut inhiber les neurones barorécepteurs dans le NFS à travers les projections

GABA ergiques qui vont du noyau central de l'amygdale au NFS. Cette inhibition peut modifier l'action des inputs inhibiteurs, issus de la MVLC (caudale), sur la MVLR ; ce qui a pour conséquence l'activation des neurones de la MVLR, conduisant ainsi à une augmentation de la décharge sympathique, de la pression sanguine et du rythme cardiaque. L'inhibition des neurones du NFS entraîne également une inhibition des neurones parasympathiques dans le noyau moteur dorsal du nerf vague et du noyau ambigu ; ceci conduit à une diminution de la décharge parasympathique. De plus, le noyau central de l'amygdale peut également influencer la décharge sympathique à travers des projections directes sur les neurones de la MVLR (Saha 2005). Le complexe amygdaloïde joue également un rôle essentiel dans la régulation des composantes autonomes des réponses comportementales conditionnées. Les inputs qui arrivent dans l'amygdale, issues du cortex et du thalamus, en rapport avec le comportement pénètrent par les noyaux latéral et basal ; tandis que le noyau central de l'amygdale reçoit les inputs issus du système autonome central. Les circuits internes permettent à l'amygdale d'associer les réponses autonomes avec des comportements spécifiques. Par exemple lorsqu'un rat apprend qu'un indice de l'audition est suivi par un choc électrique, l'indice lui-même finit par produire éventuellement une élévation du rythme cardiaque et le comportement de blocage (freezing) préalablement associé avec un choc électrique. Les lésions du noyau central de l'amygdale empêchent cette réponse (Inversen et al 2000).

Quant au cortex préfrontal, il représente une structure corticale importante impliquée dans la modulation du système cardiovasculaire (Loewy 1991). La stimulation électrique du cortex préfrontal latéral (CPFL) induirait des réponses autonomes comme l'augmentation de la pression artérielle associée à une tachycardie et une diminution de la pression associée à une bradycardie dépendamment du site stimulé à l'intérieur du CPFL (Cechetto and Saper 1990; Hardy and Holmes 1988; Ruggiero et al 1987; Yasui et al 1991a). De plus, l'injection locale de lidocaine dans le CPFL diminuait significativement les baroréflexes, démontrant davantage l'importance du cortex insulaire dans le contrôle cardiovasculaire (Saleh and Connel 1998). La stimulation électrique du cortex préfrontal médio-ventral (CPFMV) provoquerait chez les rats éveillés une augmentation de la pression ou des réponses biphasiques qui sont la diminution/augmentation de la pression artérielle ; cependant chez les rats anesthésiés, il a été constaté uniquement une diminution de la pression artérielle sans modification du rythme cardiaque ni bradycardie (Burns and Wyss 1985; Hardy and Holmes 1988). La stimulation chimique du CPFMV avec du L-glutamate ou de l'acide D/L-homocystéique provoque une hypotension accompagnée d'une bradycardie chez les rats anesthésiés (Bacon and Smith 1993). D'autres diminutions de la pression artérielle ont été observées après injection de l'acétylcholine dans le CPFMV des rats non et anesthésiés (Crippa et al 1999). Resstel et al., (2004) ont rapporté dans leur étude que le CPFMV est impliqué dans la modulation de

l'intensité de la composante baroréflexe parasympathique durant l'augmentation de la pression artérielle moyenne mais pas la composante baroréflexe sympathique. La modulation de l'action du CPFMV sur le baroréflexe parasympathique serait médiée par des synapses locales dans cette aire.

De plus, l'hypothalamus est une autre structure limbique impliquée dans le contrôle cardiovasculaire (Loewy 1991). La stimulation électrique ou chimique de plusieurs aires hypothalamiques provoque des changements dans le système cardiovasculaire (Allen and Cechetto 1992; Cechetto and Chen 1992). Parmi ces régions, l'hypothalamus latéral joue un rôle essentiel dans les fonctions végétatives et dans celles du contrôle cardiovasculaire (Saper et al 1979). La stimulation électrique de l'hypothalamus latéral des rats anesthésiés provoque une augmentation de la pression sanguine et du rythme cardiaque (Cechetto and Chen 1992). Lorsque la stimulation électrique est d'une faible intensité dans l'hypothalamus latéral, cela entraîne une baisse de la pression artérielle et des effets variables sur le rythme cardiaque. Toutefois, la stimulation électrique peut activer les fibres de passage aussi bien que les synapses et les corps cellulaires locaux (Goodchild et al 1982). La micro-injection du L-glutamate ou du D/L-homocystéate dans différentes sous régions de l'hypothalamus latéral des animaux anesthésiés causent une hypotension et une bradycardie (Cechetto and Chen 1992; Spencer et al 1989). L'hypothalamus est connecté avec des structures corticales et sous corticales qui sont associées au contrôle autonome. Il reçoit des inputs afférents issus du cortex insulaire et se

projette directement dans la région d'origine des neurones préganglionnaires sympathiques dans la colonne latérale intermédiaire de la moelle épinière (Saper et al 1976; Yasui et al 1991b) et indirectement via la médulla ventrolatérale et le NFS (Allen and Cechetto 1992; Saper et al 1976). Les effets de l'hypotension suite à la stimulation électrique du cortex insulaire dépendraient des synapses de relais dans l'hypothalamus latéral et dans la médulla ventrolatérale (Cechetto and Chen 1992; Cechetto and Saper 1990). Pajolla et al., (2004) suggèrent dans leur étude l'existence d'un système glutamatergique dans l'hypothalamus latéral qui est impliqué dans le contrôle cardiovasculaire central et est principalement associé avec des réponses qui induisent l'hypotension.

Ainsi, des lésions d'une variété de structures du système limbique altèrent significativement les réponses autonomes au stress. Les lésions dans l'hypothalamus latéral diminuent significativement les réponses cardiovasculaires conditionnées, médiées par le système nerveux sympathique (SNS) (Iwata et al 1986; LeDoux 1988). Les lésions de l'amygdale qui se projette dans l'hypothalamus latéral atténuent également les réponses cardiovasculaires au stress (Galeno et al 1984). Des connexions neurales étendues entre le CPFMV et ces différentes structures ont été démontrées (Hurley-Gius et al 1991). L'aire infralimbique du CPFMV projette directement sur la portion médiane du noyau central de l'amygdale (Hurley-Gius et al 1991; Room et al 1985) qui dispose des connexions étendues avec le noyau parabrachial (Saper 1982), le noyau dorsal moteur du nerf vague (Schwaber et al

1982) et le NFS (VanderKooy et al 1984). Ces différentes structures jouent un rôle essentiel dans la régulation du système cardiovasculaire comme montré ci-haut. Les fibres afférentes vagales et glossopharyngiennes transmettent l'information provenant du nœud sinoatrial, des barorécepteurs de l'arc aortique, des chémorécepteurs et des mécanorécepteurs du myocarde dans la partie caudale du NFS (Ciriello et al 1994). Le NFS relaye cette information aux interneurons du circuit réflexe des barorécepteurs, en particulier la formation réticulaire ventrolatérale caudale et rostrale (Ross et al 1985), aux cellules parasympathiques préganglionnaires dans l'aire péri-ambiguë et dans le noyau dorsal moteur du nerf vague (TerHorst et al 1989), aux groupes cellulaires sensoriels thoraciques de la moelle épinière et aux structures qui appartiennent au système limbique (TerHorst et al 1989).

II. Chapitre II : Infarctus du myocarde et reperfusion

II.1. Définition de l'infarctus du myocarde

L'infarctus du myocarde (IM) est une nécrose myocardique d'origine ischémique (Jennings et al 1995); la diminution ou l'interruption de l'irrigation sanguine d'une partie du cœur mène d'abord à des lésions qui sont réversibles pour progresser vers des lésions irréversibles si l'ischémie persiste (Jennings et al 1995).

II.2. Les causes psychophysiologiques de l'infarctus du myocarde

Parmi les nombreuses causes de l'IM, nous parlerons principalement de deux : l'athérosclérose et le stress.

L'athérosclérose est une maladie systémique chronique des vaisseaux avec une composante inflammatoire; cette pathologie reste de nos jours l'une des causes majeures de l'infarctus du myocarde et des décès dans les pays industrialisés (Libby 2002; Ross 1993). L'alimentation riche en cholestérol induit l'augmentation de l'adhésivité des monocytes à l'endothélium aortique (Sullivan et al 2000). À des concentrations sériques beaucoup plus élevées, les

lipides de densité faible (LDL) subit une oxydation dans les cellules endothéliales, les macrophages et autres cellules dans la paroi artérielle. Durant le métabolisme du LDL oxydé dans des cellules endothéliales, les cellules musculaires lisses et les macrophages, l'équilibre entre les réactions d'oxydation et de réduction est perturbé et dénaturé vers un excès de production de radicaux libres d'oxygène. Ainsi, le LDL oxydé est capable de provoquer une dysfonction vasculaire et le développement de l'athérosclérose (Anderson et al 1995; Anderson et al 1996; Diaz et al 1997). Avec la progression continue de l'athérosclérose, les cellules inflammatoires locales sont activées; ce qui conduit à la production, entre autres, des cytokines comme l'interleukine (IL) 1 β , 6 et 8 qui servent à amplifier les processus inflammatoires. L'excès de radicaux libres et l'activation des médiateurs de l'inflammation favorisent l'apparition des molécules d'adhésion telles que la P-selectine et la E-selectine) (Clinton and Libby 1992; Gimbrone et al 1997; Libby and Hansson 1991).

Ainsi, la production excessive des métalloprotéinases de la matrice, la prolifération et la mort cellulaires avec l'accumulation des esters du cholestérol entraînent tous l'épaississement de l'intima, l'une des trois couches d'une artère musculaire normale, et la formation de pools de lipides. La formation des plaques se réalise à des sites spécifiques dans les parois des artères (Gimbrone et al 1997; Toschi et al 1997) induisant ainsi leur

l'obstruction et par conséquent privant les myocytes cardiaques de l'oxygène qui entraînera leur mort : d'où l'infarctus du myocarde.

Par ailleurs, le stress favorise la survenue de l'IM via de nombreux mécanismes chez les patients avec MCV. Les anomalies vasomotrices des artères coronaires et la microcirculation ont été notées chez les patients cardiaques sujets au stress mental. Les patients avec MCV montrent une réponse systémique exagérée au stress caractérisée par une production anormale des catécholamines. Cet excès de production entraîne une augmentation de la demande du cœur en oxygène due aux élévations du rythme cardiaque, de la pression sanguine et de la fréquence de la contraction ventriculaire. Cet ensemble de phénomènes augmente la vulnérabilité du cœur à la tachycardie ou à la fibrillation ventriculaire. Finalement, les anomalies de thrombose et d'hémostase, incluant les augmentations de l'agrégation des plaquettes et l'altération du système fibrinolytique surviennent (Dalack and Roose 1990; Dyer et al 1980).

II.2. Conséquences de l'ischémie

L'occlusion de l'artère coronaire est suivie par des changements physiologiques et métaboliques qui apparaissent aussitôt l'arrêt du flux coronaire; par exemple le métabolisme énergétique se modifie en passant du métabolisme aérobie ou mitochondrial à celui de la glycolyse anaérobie

après seulement quelques secondes de la réduction du flux artériel (Myers et al 1985; Przyklenk and Kloner 1986). Ce changement survient aussitôt que l'oxygène tissulaire, comme l'oxyhémoglobine et l'oxymyoglobine, est consommé. Simultanément avec le changement dans le métabolisme, l'efficacité des contractions du cœur diminue et la région ischémique cesse de battre. Le potentiel membranaire diminue, engendrant des changements facilement détectables au niveau de l'électrocardiogramme (ECG). La demande énergétique des myocytes excède de loin l'approvisionnement à partir de la glycolyse anaérobie et des réserves de phosphates hautement énergétiques comme l'adénosine triphosphate (ATP) diminuent et l'adénosine diphosphate (ADP) commence à s'accumuler. La créatine phosphate, une source de réserve majeure de phosphate diminue également très rapidement (Murry et al 1991).

De plus, il a été constaté également que l'ischémie du myocarde est immédiatement suivie par des modifications ultrastructurales cellulaires telles que l'apparition d'un œdème cellulaire et mitochondrial, un étirement des myofibrilles et la perte progressive des molécules de glycogène ((Jennings and Ganote 1974). Les myocytes ne meurent pas subitement et en même temps; ils meurent de façon progressive en partant de l'endocarde vers l'épicarde. Durant la phase réversible de la lésion due à l'ischémie, la reperfusion sauve tous les myocytes ischémiques. Cependant, une fois que la

lésion fatale commence à se développer, la reperfusion sauve réversiblement les myocytes lésés qui sont localisés surtout dans la couche moyenne du myocarde et la couche sous-épicaudique et ensuite limite l'étendue de l'infarctus (Kukreja and Janin 1997). Lorsque l'ischémie persiste, les changements ultrastructuraux cités ci-haut deviennent plus marqués, les bandes Z et les myofibrilles se brisent; et enfin se développent des densités amorphes dans la mitochondrie et les unités trilaminaires de la membrane du sarcolemme se rompent (Jennings and Ganote 1974; Reimer and Jennings 1979).

II.3. Reperfusion du myocarde et conséquences pathologiques

La reperfusion du myocarde ischémié est le moyen le plus efficace pour limiter les dommages irréversibles induits par l'ischémie. En effet, il a été démontré que la reperfusion diminue la taille de l'infarctus si elle est instaurée avant le développement maximal de la taille de l'infarctus. Toutefois, des phénomènes qui se produisent durant la reperfusion atténuent son efficacité (Jordan et al 1999). Immédiatement après le début de la reperfusion, apparaissent non seulement une intense contraction qui conduit à la cassure du sarcolemme et des myofibrilles mais également une rupture des mitochondries et le déversement des granules mitochondriales formées de

phosphate et de calcium (Ganote et al 1975; Jennings and Ganote 1974). Ensuite, dans la cellule se forment des vacuoles et s'en suit une perturbation de la membrane cellulaire caractérisée par la libération des protéines et des enzymes cytosoliques (Hearse 1977; Sakai et al 1975); ce qui conduit à une nécrose appelée bandes de contraction (Shen and Jennings 1972a).

II.4. Lésion due à la reperfusion

Plusieurs composantes ont été proposées comme médiateurs de la lésion due à la reperfusion : l'excès de production des radicaux libres d'oxygène, la surcharge ou la redistribution du calcium intracellulaire, l'accumulation de neutrophiles et de plaquettes dans les régions ischémiques (Moens et al 2005).

II.4.1. Radicaux libres d'oxygène

Un radical libre peut être défini comme n'importe quel atome ou molécule qui peut exister indépendamment avec un ou plusieurs électrons non associés (libres) sur sa couche externe. À cause de l'existence de l'électron libre, l'atome ou la molécule est relativement instable et en général hautement réactif. Ces radicaux libres incluent l'anion superoxyde (O_2^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (à cause de sa réactivité) et le radical hydroxyle (OH)

(Kloner et al 1989b; McCord 1985). Le radical hydroxyle est non seulement instable mais également le plus toxique (Bolli 1990; Russell et al 1989). Ces radicaux libres d'oxygènes sont normalement générés par plusieurs sources. Durant l'ischémie et rapidement après la reperfusion, il y a une augmentation de la production de radicaux libres d'oxygène par la mitochondrie, la xanthine oxydase vasculaire, les catécholamines et les neutrophiles activés (Ferrari et al 1991b; Kloner et al 1989a). De plus, en réagissant avec la myéloperoxidase, enzyme des neutrophiles, le peroxyde d'hydrogène est capable de former un complexe enzymatique susceptible d'oxyder certains halogènes tel que le chlore ; ceci conduit à la formation de l'acide hypochlorique, produit hautement toxique (Harrison and Schultz 1976).

Les radicaux libres d'oxygène provoquent la peroxydation des protéines et des acides gras polyinsaturés dans la membrane cellulaire (Ambrosio and Chiariello 1991; Davies et al 1990). Ceci affecte la fonction mitochondriale et celle du réticulum endoplasmique (Ambrosio and Chiariello 1991) conduisant à des augmentations transitoires de la concentration des ions calcium intracytoplasmiques. Cette augmentation peut causer la dysfonction du myocarde en activant un pore mitochondrial non sélectif dépendant des ions calciums. Ce processus active des protéines kinases variées, des phospholipases et d'autres enzymes de dégradation. Il provoque également la

production des radicaux libres via l'activation de la xanthine oxydase dans l'endothélium vasculaire (Ambrosio and Chiariello 1991; Bolli 1990).

Dans les conditions normales le myocarde neutralise ces radicaux libres endogènes par plusieurs mécanismes. Le principal mécanisme est la superoxyde dismutase (enzyme cytosolique) et la mitochondrie (McCord and Fridovich 1969). D'autres mécanismes de défense incluent les enzymes cytoplasmiques telles que la catalase et la glutathion peroxydase et les antioxydants non enzymatiques endogènes telles que la vitamine E, la β -carotène, les vitamines A et C (acide ascorbique) (Ferrari et al 1991a; Flaherty 1991).

Par contre, lorsque l'ischémie est sévère et prolongée il y a une réduction de l'activité de la superoxyde dismutase et du ratio entre le glutathion réduit et celui oxydé (Ferrari et al 1985; Ferrari et al 1991b). Dans ces conditions d'ischémie prolongée, la production de radicaux libres d'oxygène peut surpasser la capacité des mécanismes de défense et l'endommagement du myocarde s'en suivra (Ferrari et al 1991b; Flaherty 1991).

II.4.2. Surcharge de calcium

Les changements dans l'homéostasie du calcium jouent un rôle important dans le développement des lésions de reperfusion (Gross et al

1999; Shen and Jennings 1972b). Il a été démontré que la reperfusion du myocarde, après une occlusion temporaire de l'artère coronaire, accélérât l'accumulation du calcium tissulaire dans le cœur des chiens (Gross et al 1999). L'hypothèse du rôle néfaste du calcium dans les lésions dues à la reperfusion suggère que l'ischémie induit un défaut dans la viabilité cellulaire à réguler le calcium de telle sorte qu'au moment de la reperfusion la cellule accumule le calcium à des niveaux toxiques. La surcharge de calcium durant l'ischémie et la reperfusion est l'un des mécanismes majeurs de la lésion du myocarde associée à la privation de l'oxygène et le début de réduction de l'ATP (Jennings et al 1986). En effet, la surface cellulaire des myocytes est composée d'un complexe sarcolemme-glycocalyx. Le sarcolemme est une membrane plasmique d'une fibre musculaire ou une double couche lipidique tandis que le glycocalyx est principalement composé de mucopolysaccharides (Langer 1978). Les changements dans la perméabilité du sarcolemme aux ions prennent place avant la reperfusion. La surcharge du calcium cytosolique causée par la défaillance du sarcolemme à maintenir l'homéostasie ionique et l'absence de séquestration des ions calcium forment la base de la dysfonction cellulaire et la mort cellulaire durant l'exposition au manque d'oxygène (Naylor et al 1988). Une augmentation du calcium cytosolique activera les phospholipases dépendantes des ions du calcium entraînant une rupture des membranes cellulaires et une perte des gradients ioniques (Chien et al 1981).

Une analyse biochimique montre, qu'après une ischémie prolongée, l'activité des composantes protéiniques du système de l'homéostasie ionique, tel que Na^+/K^+ ATPase et le Ca^{++} ATPase est très basse (Beller et al 1976) ; ce qui induirait une augmentation de la concentration du calcium intracellulaire (Poole-Wilson and Tones 1988). De plus, il a été constaté la présence d'une surcharge de calcium dans la mitochondrie des myocytes reperfusés, ce qui dénote non seulement des lésions irréversibles (Shen and Jennings 1972a) mais également la réduction de la synthèse de l'ATP ; cela entraîne comme conséquence la perte de l'intégrité membranaire du sarcolemme et l'altération des processus métaboliques (Murphy et al 1987). Ainsi, la surcharge de calcium joue un rôle important dans la transition entre les lésions réversibles et celles irréversibles car la reperfusion d'une partie ischémique du cœur avec des atteintes irréversibles favorise la surcharge du calcium ; par contre, cette surcharge n'apparaîtra pas lorsque la partie ischémique n'est pas accompagnée de lésions irréversibles (Shen and Jennings 1972b). La couche glycocalyx des membranes du sarcolemme joue également un rôle important dans la liaison du calcium et son entrée dans les cellules du myocarde. Après une diminution significative de l'ATP, les sites de liaison du calcium sur la couche du glycocalyx sont perturbés, facilitant ainsi l'entrée du calcium dans le myocyte. Des études morphologiques ont démontré la séparation de la couche glycocalyx du sarcolemme de la membrane du

sarcolemme durant l'ischémie. Ainsi, l'endommagement de la membrane du sarcolemme durant l'ischémie du myocarde favorise l'entrée du calcium et fort probablement durant la reperfusion (Jennings et al 1986). Par conséquent, la surcharge du calcium joue un rôle majeur dans la pathogénèse du myocarde « stunning » ; le myocarde « stunning » est défini comme une dysfonction mécanique du cœur qui persiste après reperfusion du tissu préalablement ischémique en l'absence de dommage irréversible incluant la nécrose. (Kukreja and Janin 1997). En plus de la surcharge du calcium intracellulaire, les altérations de la sensibilité du myofilament au calcium ont été impliquées dans la lésion due à la reperfusion ; celle-ci entraîne une désensibilisation significative des myofibrilles au calcium. Dans les premières minutes de la reperfusion, le myocarde peut être endommagé par le développement de la contracture (Contraction durable et involontaire d'un muscle, accompagnée d'une raideur), provoquant, entre autres, des raideurs mécaniques et une nécrose tissulaire (Moens et al 2005).

II.4.3. Lésion médiée par les plaquettes

Une autre composante qui intervient dans la lésion due à la reperfusion est l'accumulation des plaquettes. L'agrégation, le dépôt local des plaquettes (Davies et al 1986), et la micro-embolisation sont partiellement responsables de la dysfonction microvasculaire due à l'ischémie suivie d'une reperfusion.

L'ischémie suivie d'une reperfusion induit l'activation des plaquettes et cette activation exacerbe l'endommagement du myocarde. Les produits des plaquettes, par exemple la thromboxane A₂ (TxA₂) et la sérotonine, peuvent exacerber le spasme microcirculatoire conduisant davantage à une congestion microvasculaire, une thrombose et un arrêt du flux coronaire (Xiao et al 2001). L'implication de la TxA₂ dans la lésion due à la reperfusion est soutenue par la réduction de la taille de l'infarctus par les antagonistes du récepteur de la TxA₂ (Xiao et al 2001). Il a été démontré que les plaquettes ne jouent pas un rôle majeur dans la lésion due à la reperfusion survenant en l'absence d'une sténose critique durant la reperfusion (Jolly et al 1985; Mullane and McGiff 1985). Toutefois, l'activation des plaquettes survenant en présence d'une sténose coronaire sévère est responsable des variations cycliques du flux coronaire et initierait l'agrégation des plaquettes dans les microvaisseaux reperfusés (Folts et al 1976). Ce qui fait l'accumulation des plaquettes dans le myocarde reperfusé est délétère et est augmentée avec la présence de la sténose ; ceci entraîne soit un endommagement vasculaire plus étendu ou une activation des plaquettes, associée à la présence de la sténose. Les plaquettes sont surtout impliquées au moment de la reperfusion en présence d'une sténose et non durant l'ischémie (Rousseau et al 1993).

Il faut ajouter à ces diverses composantes les cytokines incluant le facteur de la nécrose tumorale-alpha (TNF- α) qui induisent l'apoptose

favorisant ainsi la lésion des myocytes. En effet, l'apoptose des myocytes cardiaques a été impliquée dans la pathogénèse des diverses étiologies de la défaillance cardiaque telle que l'inflammation des parois musculaires du cœur, la lésion due à l'ischémie suivie d'une reperfusion et la défaillance cardiaque congestive (Gottlieb et al 1994; Olivetti et al 1997). Toutefois, il est possible que l'induction de l'apoptose soit secondaire aux niveaux élevés des cytokines dans la circulation après la lésion. Le principal candidat est le TNF- α qui peut être augmenté après un trauma et qui a été associé avec la perturbation de l'intégrité endothéliale et la perte de fonction cardiaque (Krown et al 1996).

II.4.4. Lésion médiée par les neutrophiles

Aussitôt après le début de la reperfusion, l'activation et l'accumulation des neutrophiles surviennent dans le myocarde endommagé (Kloner et al 1989b). Les neutrophiles représentent la première ligne de défense contre les agents pathogènes et initient la réponse normale à la lésion tissulaire. Les mécanismes par lesquels les neutrophiles peuvent médier les effets cardiotoxiques incluent la génération de radicaux libres d'oxygènes, la libération des protéases (Élastase, collagénase et gélatinase) et des médiateurs pro-inflammatoires, tels que la TxA₂ et le facteur d'activation des plaquettes, soit dans l'espace interstitiel ou directement dans la membrane cellulaire du

myocyte (Hansen 1995; Lefer et al 1994). Ces différentes substances libérées amplifient davantage l'infiltration des neutrophiles dans le myocarde endommagé (Jordan et al 1999). Les interactions entre les neutrophiles et l'endothélium vasculaire coronaire, médiées par les molécules d'adhésion, sont des étapes critiques dans l'initiation de la réponse inflammatoire (Jordan et al 1999). Parmi les molécules d'adhésions intercellulaires (ICAM) sont des ligands de surface qui appartiennent à la super famille des immunoglobulines (Springer, 1990). Ensuite, l'extravasation et la migration des neutrophiles vers la zone du myocarde post-ischémique surviennent dans les veinules capillaires. Ce processus est médié par trois étapes séquentielles : d'abord le roulement des neutrophiles, un changement conformationnel résultant du ralentissement de la progression des neutrophiles dans les capillaires et les veinules, médié par la famille des selectines ; ensuite l'activation et l'arrêt du roulement des neutrophiles et la migration transendothéliale ; ces deux dernières étapes sont médiées par la famille des intégrines (Hansen 1995; Jang et al 1994; Lefer et al 1994).

III. Chapitre III : Apoptose

III.1. Définition

L'apoptose est un processus physiologique de mort cellulaire programmée, essentiel durant le développement et maintien de l'homéostasie (Faddeel 2003). Cette forme de mort cellulaire se fait sans activation du processus inflammatoire basée sur la fragmentation de l'ADN et de la cellule. Elle nécessite l'activation des caspases, enzymes capables d'activer les endonucléases responsables de la dégradation de l'ADN (Hunot and Flavell 2001).

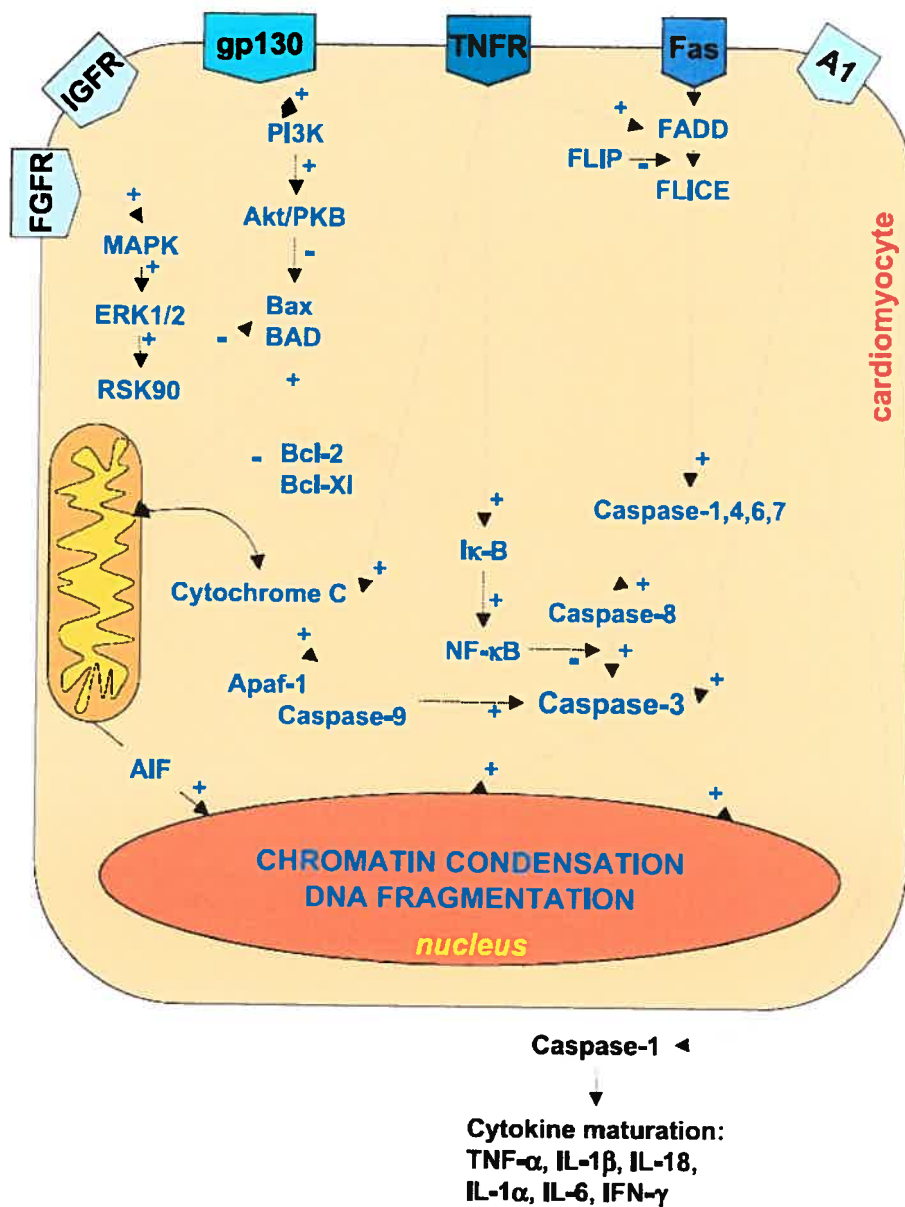


Figure 2 : Voies de signalisation dans l'apoptose d'un cardiomyocyte. L'activation ou l'inhibition des molécules est indiquée par respectivement par les signes plus (+) et moins (-). (Eeftinga et al 2004).

Dans le cœur post ischémique les facteurs inflammatoires contribuent à la lésion (Frangogiannis et al 2002; Nian et al 2004). TNF- α est une cytokine pro-inflammatoire impliquée dans la pathogenèse de maladies cardiovasculaires, incluant l'infarctus du myocarde (Krown et al 1996). TNF- α libéré pendant l'ischémie provoque une cascade de cytokines qui est davantage amplifiée durant la reperfusion et induit l'apoptose et des dommages au niveau du cœur (Frangogiannis et al 2002; Krown et al 1996). TNF- α provoque l'apoptose dans plusieurs types de cellules incluant les cellules cardiaques (Krown et al 1996). L'apoptose des myocytes cardiaques a été impliquée dans la pathogenèse des diverses étiologies de la défaillance cardiaque telle que l'inflammation des parois musculaires du cœur, la lésion due à l'ischémie suivie d'une reperfusion et la défaillance cardiaque congestive (Gottlieb et al 1994; Olivetti et al 1997). Toutefois il est possible que l'induction de l'apoptose soit secondaire aux niveaux élevés des cytokines dans la circulation après la lésion. Le principal candidat est le TNF- α qui peut être augmenté après un trauma et qui a été associé avec la perturbation de l'intégrité endothéliale et la perte de fonction cardiaque (Krown et al 1996).

De plus, dans le cerveau il a été observé une apoptose neuronale qui est hautement active durant le développement neuronal. Dépendamment de la région il est estimé que 20%-80% des neurones formés dans le SNC meurt par apoptose précocement dans la vie (Oppenheim 1991). L'apoptose est régulée

par des familles de protéines incluant en amont la famille Bcl2, telles que la protéine anti-apoptotique Bcl2 et celle pro-apoptotique Bax, et en aval la famille des caspases, telle que la caspase-3. L'activation pathologique de l'apoptose neuronale et l'expression anormale des protéines régulatrices ont été démontrées dans les troubles neurodégénératifs classiques dont les maladies d'Alzheimer et de parkinson (Bredesen 1995; Hartmann et al 2000). L'apoptose pourrait contribuer à la physiopathologie de la schizophrénie (Margolis et al 1994)

III.2. Mécanisme d'action de l'apoptose

Dans les cellules des mammifères la réponse apoptotique est médiée à travers soit d'une voie intrinsèque ou une voie extrinsèque dépendamment de l'origine des stimuli de la mort cellulaire. La voie intrinsèque est provoquée en réponse aux stimuli de la mort cellulaire qui sont générés de l'intérieur de la cellule, tels que l'activation oncogénique et l'endommagement de l'ADN (Hanahan and Weinberg 2000).

La voie intrinsèque est médiée par la mitochondrie. En réponse aux stimuli apoptotiques plusieurs protéines sont libérées de l'espace intermembranaire de la mitochondrie vers le cytoplasme (Wang 2001). Certaines des protéines bien caractérisées incluent, entre autres, le cytochrome C, le second activateur des caspases de la mitochondrie (SMAC), la protéine de

liaison de l'inhibiteur directe de l'apoptose (DIABLO) (protéine qui permet l'activation des caspases par inhibition des IAPs (inhibiteur direct de l'apoptose), IAF (facteur induisant l'apoptose) et l'endonucléase G (EndoG). Probablement l'une de ces protéines pro-apoptotiques les plus intrigantes est le cytochrome C. En effet, il se lie et active le facteur 1 activateur de la protéase apoptotique protéine (APAF1) dans le cytoplasme (Li et al 2004). La liaison du cytochrome C à APAF1 induit un changement conformationnel qui permet à APAF1 de se lier à l'ATP et former l'apoptosome (grande molécule protéique complexe composée d'APAF1 et du cytochrome C). L'apoptosome recrute la procaspase-9 et entraîne une activation de la caspase-9, provoquant ainsi une cascade d'activation des caspases (Jiang and Wang 2000; Li et al 2004; Rodriguez and Lazebnik 1999). Le mécanisme d'action de l'apoptose implique ainsi une cascade de caspases initiateur et effectrice qui sont activées séquentiellement (Green and Reed 1998; Kasibhatla and Tseng 2003). Dans la famille des caspases, la caspase-3, 6 et 7 ont été identifiées comme des caspases effectrices clés qui clivent de multiple protéines substrats dans les cellules conduisant à la mort irréversible de la cellule (Green and Reed 1998; Stennicke et al 2002).

La voie extrinsèque est initiée par la liaison à l'extérieur de la cellule d'un ligand de la mort (facteur de croissance extracellulaire qui provoque une réponse apoptotique dans la cellule) tels que le TNF- α et le FasL, à un

récepteur à la surface cellulaire tel que le Fas (un récepteur de la mort renferme un domaine de liaison extracellulaire du ligand et un domaine de mort intracellulaire) (Nagata 1999). La liaison du ligand de la mort à son récepteur conduit à la formation d'un complexe récepteur-ligand qui recrute des facteurs cytosoliques, tels que Fas associé au domaine de la mort (FADD) et caspase-8, formant un complexe de signalisation induisant la mort cellulaire (DISC). La formation de ce complexe conduit à l'activation de la caspase initiateur, la caspase-8, qui ensuite clive et active la caspase effectrice, la caspase-3. La fonction du complexe DISC dans l'activation de la caspase-8 est probablement analogue à celle de l'apoptosome dans l'activation de la caspase-9 bien que les détails du mécanisme moléculaire reste encore inconnus. Il existe des interactions entre la voie extrinsèque et celle intrinsèque à travers le clivage de BID, protéine qui active les membres de la famille Bcl2 pro-apoptotiques comme Bax pour initier la libération du cytochrome C dans le cytosol et provoquer l'activation des caspases (Li et al 1998; Luo et al 1998).

III.2.1. La famille Bcl2

Bcl2 est considéré comme étant le premier gène identifié qui agit principalement pour augmenter la survie cellulaire dans les cellules des mammifères (Reed 1997). Bcl2 est capable de supprimer l'apoptose en

réponse à des stimuli spécifiques. Toutefois son expression inappropriée dans les cellules est associée avec une augmentation de la capacité de survie qui peut conduire à la formation de tumeur ou une dysfonction auto-immune dépendamment de la ligne cellulaire affectée (Reed et al 1990; Strasser et al 1991). Basé sur la similarité de leur séquence et leur capacité à se lier à d'autres protéines associées au Bcl2, un grand nombre de protéines de la famille Bcl2 ont été identifiées. Cette famille de protéines comprend des molécules anti-apoptotique et pro-apoptotique qui forment des points de décision intracellulaires critiques dans la voie commune de la mort cellulaire. La famille Bcl2 est classifiée dans les trois sous-familles suivantes basée sur la séquence et la fonction de chaque protéine (Adams and Cory 1998; Tsujimoto 1998). Dans la sous famille de Bcl2, tous les membres exercent une activité anti-apoptotique et partagent une séquence homologue, particulièrement dans quatre régions appelées BH (Bcl2 Homologie domaine) 1-4. Dans la sous-famille Bax (Bax, Bak et Bok (Mtd), tous les membres exercent une activité pro-apoptotique et partage une séquence homologue dans leurs régions BH1, BH2 et BH3, mais pas BH4, avec l'exception de certains membres tels que Mtd qui possède une séquence similaire dans BH4 (Inohara et al 1998). Dans la sous famille BH3-unique, tous les membres sont pro-apoptotiques et partagent principalement une séquence homologue uniquement dans la région BH3 (Adams and Cory 1998).

Les membres de la famille Bcl2 régularaient la libération du cytochrome C issu de la mitochondrie qui agit en aval en concert avec des facteurs spécifiques (caspases) pour induire l'apoptose (Jurgensmeier et al 1998). De plus, les membres de la famille de Bcl2 peuvent se dimériser pour réguler la fonction de l'autre. La liaison d'un membre pro-apoptotique à un autre anti-apoptotique peut résulter dans la perte de la fonction anti-apoptotique et conduire à la mort de la cellule. C'est pourquoi l'équilibre des membres de la famille Bcl2 entre pro et anti-apoptotique régule une importante étape dans la décision de vivre ou de mourir de la cellule (Newton and Strasser 1998). En effet, comme souligné en haut l'activation de l'apoptose est contrôlée à différents niveaux dans la cellule. En amont, la protéine pro-apoptotique Bax et la protéine anti-apoptotique Bcl2 interagissent à travers une hétérodimérisation. Ensemble, ces deux protéines régulent le passage transmembranaire mitochondrial du cytochrome C qui en retour active les caspases. Le ratio Bax/Bcl2 semble plus important dans la détermination de la vulnérabilité de la cellule à l'apoptose. Le ratio Bax/Bcl2 plus élevé conduit à une activité apoptotique plus grande (Oltvai et al 1993).

III.2.2. Caspases

Les caspases sont des protéases de cystéine qui clivent leurs substrats après les résidus de l'acide aspartique. Le mot caspase vient de Cystéine

aspartate protéase. Les caspases sont des protéases hautement sélectives, ce qui leur donne des rôles biologiques distincts dans la cellule comme médiateurs de l'apoptose et de l'inflammation (Alnemri et al 1996). Les caspases ne conduisent pas seulement à la dégradation de leurs substrats, mais servent également à la modulation de la fonction de leurs substrats ; elles apparaissent ainsi comme molécules de signalisation critiques dans la voie apoptotique (Roy and Cardone 2002). Durant l'apoptose, les protéines de structures et régulatrices sont clivées ; les protéases responsables de l'hydrolyse de ces protéines sont les caspases (Casciola-Rosen et al 1996).

Dans la cellule, les caspases sont exprimées comme des enzymes inactives ou zymogènes et sont protéolytiquement activées pour former la protéine mature. Le traitement de la proenzyme à des résidus spécifiques d'aspartate implique l'élimination du peptide N-Terminal ou prodomaine, de longueur variable (2 à 25 KDa). Ce prodomaine du zymogène est structurellement divergent, ce qui permet de les classer en deux grands groupes de procaspases ; les longs prodomaines sont trouvés dans les caspases-1, -2, -4, -5, -8, -10, -12 et -13 ; tandis que les courts prodomaines sont retrouvés dans les caspases-3, -6, -7, -11 et -14. Le prodomaine est éliminé durant le traitement qui conduit à la forme active. Ces domaines peuvent servir soit à cibler les procaspases ayant des récepteurs de la mort au sein de la membrane cellulaire ou à médier l'assemblage d'un complexe

caspase-activation dans la cellule (Roy and Cardone 2002). Deux domaines d'interaction unique, protéine-protéine, ont été trouvés à l'intérieur des longs prodomaines ; les domaines effecteurs de la mort (DED) et les domaines de recrutement des caspases (CARD) (Hofmann et al 1997; Muzio et al 1996; Muzio et al 1998). Le domaine CARD médie les interactions électrostatiques tandis que le domaine DED médie les interactions hydrophobiques (Chou et al 1998).

L'activation des caspases représente une étape importante dans la cascade de signalisation de la mort cellulaire. Sur l'initialisation d'un signal apoptotique, de multiples caspases sont activées à l'intérieur de la cellule (Casciola-Rosen et al 1996; MacFarlane et al 1997). L'activation de multiples caspases sert à amplifier le signal apoptotique et leur activation séquentielle résulte dans une voie qui peut être régulée à différents niveaux. Les mécanismes observés pour l'activation des caspases sont : la transactivation, la protéolyse par les autres classes de protéases ou l'autoactivation. Les zymogènes peuvent être clivés catalytiquement par les formes actives des caspases elles mêmes résultant dans la transactivation. Alternativement les caspases sont des substrats pour d'autres protéases actives dans la cellule qui est entrain de mourir. La voie qui conduit à l'activation des caspases est dépendante du stimulus apoptotique et la localisation subcellulaire des caspases. Les cascades protéolytiques des caspases peuvent être initiées soit

au niveau de la membrane cellulaire par des complexes récepteurs soit dans le cytosol par d'autres stimuli de la mort cellulaire. En général, une fois initiée, deux voies de signalisation sont utilisées : une qui est médiée à travers la mitochondrie et une autre qui contourne la mitochondrie (Kroemer 1998; Kroemer et al 1997). La plupart des protéases latentes sont directement clivées et activées ou servent comme substrat à d'autres protéases et ceci représente le premier mécanisme décrit pour l'activation des caspases. Il est bien établi que les caspases initiatrices avec de longs prodomaines clivent les caspases en aval ou caspases effectrices, lesquelles disposent ou manquent de courts prodomaines. Les caspases effectrices servent à amplifier le signal de la mort et induisent la mort de la cellule. Par exemple, la caspase-9 (active) active les caspases-7 et -3 lesquelles pour la dernière caspase résulte davantage dans l'activation des caspases-2 et -6 (Li et al 2004; Srinivasula et al 1996). Toutefois, la caspase-3 peut cliver et activer la caspase-9, favorisant ainsi en avant une boucle d'amplification (Slee et al 1999). La caspase-6 agit d'une manière similaire en clivant la caspase-3. L'action des caspases en aval telles que les caspases-3,-6 et -7 est de cliver les protéines clés structurales et régulatrices favorisant ainsi l'effondrement de la cellule (Srinivasula et al 1996; Takahashi et al 1996).

III.2.3. Phospho-inositol 3 kinase (PI3-Kinase)

PI3-Kinase est une enzyme qui génère l'inositol spécifique des lipides impliqué dans la régulation de la croissance, la prolifération, la survie, la différenciation cellulaires et les changements cytosquélétiques. Les lipides contenant l'inositol se composent d'un glycérol avec des acides gras attachés en position 1 et 2 et un inositol 1-phosphate en position 3. C'est une protéine qui transfère un groupement phosphate de la molécule d'ATP vers le carbone numéro trois du phospho-inositol situé au niveau membranaire. Si l'inositol ne porte pas de phosphate additionnel ce lipide est appelé phosphatidylinositol (Vanhaesebroeck and Alessi 2000). Une des cibles de la PI3-Kinase la mieux caractérisée est l'Akt ou protéine kinase B (PKB). Dans les cellules non actives, Akt/PKB réside dans le cytosol dans une conformation d'activité faible. Sur stimulation cellulaire Akt/PKB est activée par recrutement aux membranes cellulaires par les produits lipidiques de la PI3-Kinase et la phosphorylation par la 3-phospho-inositol dépendante de la kinase-1 (PDK-1) (Vanhaesebroeck and Alessi 2000).

Une des voies par lesquelles Akt/PKB contribuerait à la survie cellulaire est la phosphorylation de BAD, protéine pro-apoptotique de la famille de Bcl2. En effet, BAD forme un hétérodimère avec les protéines anti-

apoptotiques, Bcl2 ou Bcl-X_L et ainsi les empêche d'exercer leurs fonctions anti-apoptotique. Lorsque Akt/PKB phosphoryle BAD sur la sérine (Ser¹¹² ou Ser¹³⁶), BAD ne peut plus interagir longtemps avec Bcl2 ou Bcl-X_L, leur permettant ainsi d'inhiber l'apoptose (Downward 1999).

IV. Chapitre IV : Infarctus du myocarde et dépression

Parmi les multiples hypothèses avancées pour expliquer la relation entre l'infarctus du myocarde et la dépression, nous parlerons ici principalement des cytokines et de l'apoptose.

IV.1. Implication des cytokines

Les cytokines sont des protéines et glycoprotéines sécrétées par les cellules du système immunitaire et qui fonctionnent comme des signaux entre les cellules immunitaires. Elles représentent les hormones du système immunitaire. On sait maintenant que les cytokines ont des effets sur des cellules situées en dehors du système immunitaire et que des cellules non immunitaires peuvent synthétiser et sécréter des cytokines (cellules gliales). Ainsi, les cytokines peuvent être vues comme des hormones qui peuvent fonctionner localement ou systématiquement capables d'orchestrer des réponses immunitaires; elles peuvent également coordonner les réponses immunitaires avec celles des autres systèmes physiologiques de l'organisme incluant le système nerveux (Dunn et al 2005).

IV.1.1. Hypothèse des cytokines

L'hypothèse des cytokines sur la dépression est issue des observations cliniques et expérimentales. Les observations cliniques ont été réalisées sur des patients traités avec des interférons (IFN) et l'IL-2. Ces patients montraient souvent des symptômes semblables à ceux de la grippe et des symptômes neuropsychiatriques non spécifiques; certains de ces symptômes sont caractéristiques de la dépression (Weisse 1992). Les anomalies immunitaires chez les patients déprimés ont été largement documentées depuis plus de 30 ans. Les premières études suggéraient une déficience de la fonction immunitaire chez les patients déprimés; cependant, cette déficience n'a pas été confirmée par d'autres études (Weisse 1992). Plus tard, de nouvelles investigations ont indiqué que les patients déprimés montraient souvent une activation immunitaire et que la dépression était plus fréquente chez les patients avec des maladies ayant une composante immunologique (Kronfol 2002). La fonction immunitaire chez les patients déprimés était réduite dans certains aspects et activée dans d'autres (Dunn et al 2005). Par la suite, des études sur les animaux ont montré que l'administration d'une endotoxine, le lipopolysaccharide (LPS) ou l'IL-1 β induisait un syndrome comportemental connu aujourd'hui sous le nom de maladie de comportement (Kent et al 1992a). Smith fut le premier à suggérer que la dépression était associée avec une augmentation de la sécrétion des cytokines, principalement

IL-1 β , par les macrophages (Smith 1991). Il montra que l'administration de l'IL-1 n'induisait pas seulement les caractéristiques comportementales de la dépression, mais aussi activait l'axe HPA. Cette hypothèse « macrophage de la dépression » attira beaucoup d'attention car elle était compatible avec les premières trouvailles chez les patients déprimés.

IV.1.2. Évidences expérimentales de l'hypothèse des cytokines

Les cytokines ont été montrées efficaces dans le traitement de plusieurs maladies telles que l'hépatite C, la sclérose en plaque, la leucémie et d'autres formes de cancer. Les cytokines les plus communément utilisées sont les IFN- α , - β et - γ et l'IL-2. Chacune de ces cytokines produit des effets secondaires tels que l'asthénie, la confusion et les symptômes de la grippe. La dépression est généralement observée lors d'un traitement avec l'IFN- α et l'IL-2 et occasionnellement avec l'IFN- β et - γ (Gohier et al 2003; Valentine et al 1998). L'incidence de la dépression associée avec la thérapie des cytokines est très variable dans les différentes études. Les raisons de cette variabilité sont liées non seulement à la maladie sous traitement, aux cytokines et aux doses utilisées, mais également à l'histoire psychiatrique du patient et au choix des sujets témoins de comparaison. Dans la plupart des cas les symptômes de la dépression sont efficacement traités avec les antidépresseurs. Toutefois, ceux-ci sont quelque fois plus efficaces sur les symptômes de

l'humeur et non sur ceux neurovégétatifs comme l'anorexie, la déficience de psychomotricité et les troubles de sommeil (Capuron et al 2002; Dunn et al 2005; Musselman et al 2001a).

Les premières études sur le sujet ont montré une réduction de la fonction immunitaire chez les patients déprimés (Weisse 1992). Par contre, les études les plus récentes mettent en exergue plutôt une activation immunitaire ; en effet, la dépression majeure serait associée avec une augmentation plasmatique des concentrations des protéines de la phase aigue positive, entre autres, l'haptoglobiline, la céruloplasmine et la protéine réactive-C, et des concentrations plasmatiques plus faibles des protéines de la phase aigue négative telles que la transferrine et l'albumine (Kronfol 2002; Maes 1995). Cette augmentation des protéines de la phase aigue positive associée à la diminution de celles de la phase aigue négative sont des signes indicatifs d'un état inflammatoire. Il a été également constaté que les patients déprimés présentaient des concentrations élevées de marqueurs inflammatoires telles que les prostaglandines (Lieb et al 1983) et le complément (Kronfol and House 1989). Ainsi, il a été postulé que la dépression chronique est associée avec une inflammation chronique (Maes 1995). Maes suggéra que l'état inflammatoire chronique qui serait à la base de la dépression s'expliquerait par l'augmentation de la production de cytokines par les monocytes circulants et les macrophages.

Par ailleurs, pour faciliter le recouvrement de la santé et pour se défendre contre les pathogènes et les prédateurs, les réponses comportementales doivent être importantes; par exemple les animaux malades y compris les humains montrent non seulement la diminution de certains comportements tels que l'alimentation, l'exploration, et l'activité sexuelle mais également une augmentation du sommeil et de la température corporelle. La fièvre augmenterait l'efficacité du système immunitaire de l'hôte et dans certains cas diminuer la prolifération des pathogènes. Tandis que les réponses comportementales conduiraient l'animal à se cacher et à rester en sûreté, le système immunitaire éliminerait les envahisseurs pathogènes et aiderait à réparer les tissus endommagés (Hart 1988). Cette hypothèse révolutionnaire obtint de nombreux partisans. Hart (1988) reconnaît également que le LPS et IL-1 induisent des modèles comportementaux similaires à ceux observés chez les animaux malades. Le terme maladie de comportement a été proposé dans une revue (Kent et al 1992b) dans laquelle il a été stipulé que les relations entre la maladie du comportement et le LPS et l'IL-1 suggéraient que les symptômes de la maladie pourraient être traités par les antagonistes de l'activation immunitaire tels que les antagonistes des cytokines. Le lien à la dépression a été fait dans l'hypothèse macrophage de la dépression (Smith 1991) dans laquelle il a été noté les similarités entre la maladie du comportement et la dépression et proposé spécifiquement que l'IL-1 sécrétée

par les macrophages serait responsable de la dépression. Cette maladie du comportement induite par IL-1 et LPS inclut, entre autres, l'hyperthermie, l'hypomotilité, l'hypophagie et une diminution de l'intérêt dans l'exploration de l'environnement, une réduction de la libido et une augmentation du sommeil (Dantzer et al 2001; Larson and Dunn 2001).

IV.1.3. Voies de communications entre les cytokines périphériques et le cerveau

Les cytokines produites périphériquement ou centralement peuvent affecter le SNC (Connor and Leonard 1998). Leurs structures et leurs dimensions font que toute diffusion passive semble improbable à travers la barrière hémato-encéphalique (BHE). Cependant, plusieurs mécanismes ont été proposés pour expliquer comment ces cytokines exercent leurs effets sur le cerveau (Hopkins and Rothwell 1995).

En effet, les cytokines peuvent pénétrer le cerveau à partir des sites où la BHE est déficiente : les organes circumventriculaires (OCV) (Hopkins and Rothwell 1995). Les cytokines se lient aux cellules gliales, *via* des récepteurs spécifiques, lesquelles en retour produisent d'autres cytokines et des médiateurs telles que les prostaglandines (PG) particulièrement la prostaglandine-E₂ (PGE₂). Ainsi, la libération périphérique de cytokines peut

induire la synthèse et la sécrétion de cytokines dans le SNC (Connor and Leonard 1998).

D'autres études ont rapporté que non seulement l'IL-1 agit à travers les OCV mais qu'elle peut aussi traverser la BHE à travers un système de transport actif (Banks et al 1991). Les concentrations de l'IL-1 et de TNF- α traversant la BHE par ce système de transport actif sont si faibles qu'elles sont physiologiquement insignifiantes (Hopkins and Rothwell 1995). Cependant, il a été suggéré que de tels mécanismes de transports peuvent être une voie d'entrée importante quand les concentrations plasmatiques des cytokines sont très élevées (Banks and Kastin 1996).

Il existe également une autre voie de communication entre les cytokines produites périphériquement et le cerveau (Connor and Leonard 1998). Cette voie de communication est soutenue par le fait qu'une vagotomie sous le diaphragme atténuait les effets dépressifs, induits par une endotoxine, sur le comportement, l'expression de c-Fos (facteur de transcription) dans le SNC et l'expression de l'ARNm de l'IL-1 β dans l'hypothalamus (Dantzer 1994). De plus, la vagotomie sous le diaphragme bloque l'activation de l'axe HPA produite par l'administration de l'IL-1 β et de TNF- α (Fleshner et al 1995). Autrement dit les afférences du nerf vague fournissent une importante voie au cerveau signalant la présence de substances immunitaires périphériques (Fleshner et al 1998).

IV.1.4. Cytokines dans le système nerveux central

Plusieurs rapports ont confirmé la présence des cytokines et de leurs récepteurs dans plusieurs structures cérébrales, tels que l'hypothalamus, l'hippocampe et le cortex préfrontal (Araujo et al 1989; Ban et al 1993; Haour et al 1995; Katsuura et al 1988; Koenig 1991). Dans ces différentes structures, les concentrations des cytokines sont fluctuantes en réponse aux diverses lésions, comme la lésion cérébrale, ischémie cérébrale et le stress psychologique (Plata-Salaman 2000; Reichlin 2001; Rothwell and Luheshi 2000). Dans les situations où la fonction centrale est affectée, les cytokines peuvent être produites dans le cerveau, par exemple par les cellules gliales (Rothwell 1999) ou accéder le cerveau via les organes circumventriculaires (Banks 1999). Ceci se fait en traversant la barrière hémato-encéphalique par altération de la perméabilité cérébrovasculaire ou en recrutant des cellules immunitaires périphériques dans le cerveau, lesquelles peuvent ensuite exprimer les cytokines (Proescholdt et al 2002). En plus de l'influence directe sur des cibles centrales, les cytokines peuvent également affecter indirectement la fonction centrale en stimulant les afférences vagales périphériques (Maier et al 1998; MohanKumar et al 2000).

IV.1.5. Action des cytokines sur les mécanismes synaptiques et neurochimiques dans le SNC

L'administration des cytokines exogènes produit des changements dans la fonction monoaminergique. Ces changements induisent des augmentations de la NA, de la 5-HT et du tryptophane dans plusieurs régions du cerveau (Dunn 1992). De plus, des chercheurs (Connor and Leonard 1998) ont rapporté une augmentation de l'activité dopaminergique de l'hypothalamus en réponse à l'administration intra-cérébro-ventriculaire (ICV) de l'IL-1 β , l'IL-2, l'IL-6 et de TNF- α (Connor and Leonard 1998). D'autres études ont examiné *in vivo* l'induction par les cytokines des changements des monoamines et de leurs métabolites dans différents noyaux du SNC après administration systémique (Merali et al 1997) et centrale (Linthorst et al 1995). Ces études ont illustré que les cytokines peuvent induire des augmentations de NA, de la DA, de la 5-HT et de leurs métabolites dans différentes structures cérébrales du rat comme l'hypothalamus (Shintani et al 1993) et le noyau accumbens (Merali et al 1997). D'autres études ont montré que l'administration systémique de l'IL-6 produisait une augmentation de la neurotransmission de la NA et de 5-HT dans le noyau accumbens (Song et al 1996). Également, l'IL-1 β influence fortement la sécrétion de l'hormone de libération de la corticotropine (CRH) à

partir du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus, provoquant ainsi une activation de l'axe HPA (Ericsson et al 1997). Après exploration, il a été constaté que cette cytokine joue un rôle pivot dans l'activation de l'axe HPA associé avec des événements stressants (Shintani et al 1993). Ainsi, plusieurs cytokines pro-inflammatoires (l'IL-1 β , TNF- α IFN- γ) augmentent l'activité du transporteur de la sérotonine, lequel peut réduire les concentrations extracellulaires de la sérotonine; autrement dit ces cytokines favorisent l'activation de l'enzyme responsable du catabolisme du tryptophane en kynurénine (Menkes and MacDonald 2000) nommée l'indolamine-2,3 dioxygénase (IDO). L'activation ou l'augmentation de la concentration de l'IDO diminue la disponibilité du tryptophane et ainsi réduit les concentrations cérébrales de la sérotonine (Bonaccorso et al 2002). Les métabolites de la kynurénine, comme la 3-hydroxy-kynurénine et l'acide quinolinique, peuvent favoriser le dommage tissulaire conduisant à la dépression à travers l'induction des espèces réactives de l'oxygène ou la stimulation des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) de l'hippocampe (Wichers and Maes 2004).

Par ailleurs, dans le SNC l'hippocampe est un site important pour l'expression de l'IL-1 β (Lechan et al 1990) et de son récepteur (Takao et al 1990). Dans le sous champs CA1 de l'hippocampe, les niveaux de l'ARNm de l'IL-1 β augmentent constamment avec le temps après induction de la

potentialisation à long terme (LTP), un modèle cellulaire de la plasticité synaptique bien établi et qui a été proposé comme un substrat de la mémoire (Schneider et al 1998). L'IL-1 β exogène induit une réduction soutenue de l'efficacité synaptique de base dans le CA1 et inhibe aussi l'induction de la LTP dans le CA1 (Bellinger et al 1993), le CA3 (Katsuki et al 1990) et le gyrus dentelé (corps godronné) (Coogan et al 1999). De plus, l'IL-1 β induit une dépression synaptique persistante de manière dépendante de l'activité de GABA ergique. L'induction de la dépression synaptique par l'IL-1 β implique deux mécanismes distincts : un récepteur GABA indépendant, phase aiguë et un récepteur GABA dépendant, phase de maintenance. Ainsi, l'action de l'IL-1 β , indépendante du récepteur GABA, peut être médiée par une action directe aux sites présynaptiques excitateurs tandis que l'autre effet de l'IL-1 β est possiblement médiée par une stimulation indirecte des interneurons GABAergiques (Ikegaya et al 2003). Dans d'autres régions du cerveau plusieurs rapports ont montré que l'IL-1 β augmente la fonction du récepteur GABA (Yu and Shinnick-Gallagher 1994). Ainsi, l'IL-1 β inhibe la LTP et la dépression à long terme (LTD). Ce qui suggère que les neurones exposés à l'IL-1 β sont privés de la capacité de la plasticité synaptique. Par conséquent, Ikegaya et al (2003) suggèrent un possible lien entre le système immunitaire et la mémoire dépendante de l'hippocampe.

Ainsi, les cytokines, à travers leurs actions sur la sérotonine et le BDNF contribueraient à la pathogénèse de la dépression (Mattson et al 2004).

IV.2. Apoptose et dépression

L'apoptose est un processus physiologique normal de mort cellulaire programmée. Elle peut être augmentée par une variété de stimuli externes, tels que les infections virales, les médications (traitements anticancers) et des conditions pathologiques telles que les maladies auto-immunes et dégénératives du SNC (Carson and Ribereiro 1993). Ce phénomène peut être médié à travers des voies qui conduisent à la condensation de la chromatine et du cytoplasme cellulaire, à la fragmentation du noyau et finalement à la séquestration des contenus cellulaires dans des corps apoptotiques entourés de membrane (Kerr et al 1994). La dépression majeure a été associée avec des anomalies immunitaires variées telles que la réduction de l'activité des cellules tueuses naturelles et une diminution de la fonction des cellules T (Anesi et al 1994; Bauer et al 1995; Caldwell et al 1991; Schleifer et al 1996). Eilat et al (1999) ont montré dans leur étude que les patients déprimés (75,5%) présentaient un processus apoptotique qui était significativement plus élevé que celui des patients témoins.

D'autre part, le stress et l'hypercortisolémie détériorent la mémoire et l'apprentissage chez le rat (Conrad et al 1996; Landfield et al 1978). Ils

augmentent également la vulnérabilité neuronale aux lésions et une surexposition prolongée aux glucocorticoïdes entraîne une perte neuronale massive, principalement dans les couches cellulaires pyramidales de l'hippocampe (Sapolsky et al 1990; Stein-Behrens et al 1994; Uno et al 1989). Des augmentations modérées de la fragmentation de l'ADN comme évidence claire de la mort cellulaire par apoptose ont été observées dans la dépression (Lucassen et al 2001). Cette étude a été confirmée plus tard par l'observation selon laquelle le stress chronique augmente le nombre de cellules apoptotiques et que le traitement avec la tianeptine induisait des effets anti-apoptotiques chez les animaux stressés (Lucassen et al 2004a).

V. Chapitre V : Dépression et infarctus du myocarde

La recherche scientifique qui a établi pour la première fois une relation entre la dépression et la maladie du cœur a été faite par Malzberg (1937). Il compara la fréquence de décès des patients qui étaient hospitalisés avec une “régression de la mélancolie” (Ancien nom qui désigne la dépression) et celle des témoins vivant dans le même milieu, correspondant en âge et sexe. Il constata que la fréquence de décès dans le groupe de patients était six ou sept fois plus élevée que celle dans le groupe témoin. La fréquence de décès cardiaque survenait chez presque 40% des patients avec mélancolie ou dépression. Cette fréquence de décès était huit fois la fréquence correspondante pour la mort cardiaque à ce moment (Shapiro 1998). Par la suite, les résultats de Malzberg ont été confirmés plus tard en partie par plusieurs études. L’association entre la mort cardiaque soudaine et la dépression a été mentionnée pour la première fois dans les années 1970 quand deux investigateurs indépendants ont noté que les symptômes dépressifs prédisaient souvent la mort cardiaque soudaine (Bruhn et al 1974; Greene et al 1972). Les études ultérieures confirmèrent l’association entre la dépression et un plus grand risque de mortalité, à cours et à long terme (Aroma et al 1994; Murphy et al 1987); (Ahern et al 1990; Frasure-Smith et al 1995b) surtout

quand la dépression n'est pas traitée (Goldstein and Niaura 1992; Reich 1985). Les patients déprimés après IM sont plus fréquemment ré-hospitalisés et se rétablissent difficilement (Ladwig et al 1994). De plus, selon certaines études, la dépression augmente la morbidité et la mortalité de quatre à cinq fois dans les dix huit mois après l'IM (Frasure-Smith et al 1995b; Frasure-Smith et al 1993). Ceci est très inquiétant car la prévalence de la dépression chez les patients avec IM est plus élevée que celle au sein de la population en général. Il a été également constaté que les scores de dépression les plus élevés sont associés avec une augmentation de la morbidité et de la mortalité, principalement chez les patients qui avaient préalablement un IM (Frasure-Smith et al 1995a; Lespérance et al 1996; Penninx et al 2001). Il faut toutefois signaler que la sévérité de l'IM n'est pas liée au développement de la dépression. En effet, la relation entre la sévérité de la maladie somatique et le développement de la dépression n'existe pas dans l'IM. La dépression n'est pas reliée au degré de la dysfonction cardiaque, mesurée par la fonction du ventricule gauche, l'enregistrement de Holter ou l'angiographie (Ahern et al 1990; Frasure-Smith et al 1995a; Frasure-Smith et al 1993; Ladwig et al 1991). D'autres études utilisant des enzymes comme une mesure de la sévérité de l'IM ont trouvé également que la dépression n'est pas reliée avec la sévérité de l'IM (Ladwig et al 1994). La dépression post-IM a été souvent sous estimée. Cette sous estimation de la dépression a été attribuée par son

profil atypique c'est dire à la tendance à interpréter les symptômes dépressifs comme transitoires et réaction naturelle à un événement menaçant la vie. De plus, il y a peu de connaissances sur les facteurs de risque associés au développement de la dépression post-IM (Ahern et al 1990; Frasure-Smith et al 1995b; Frasure-Smith et al 1993; Ladwig et al 1991). Dans le DSM IV, les critères listés dans la définition de la dépression atypique incluent la réactivité d'humeur comme critère obligatoire et au moins deux des critères suivants : (1) gain significatif de poids ou augmentation de l'appétit, (2) l'hypersomnie (3) la sensation de lourdeur dans les quatre membres et (4) sentiments chroniques de rejet d'autrui.

V.1. Relations entre dépression et maladies cardiovasculaires

Plusieurs éléments ont été identifiés comme facteurs de risque de la morbidité cardiovasculaire chez les patients déprimés. Ceux-ci incluent des arythmies cardiaques, de l'agrégation et de l'activité des plaquettes, une diminution de la variabilité du rythme cardiaque (VRC), une élévation de la NE plasmatique et l'hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophysaire surrénalienne (HPA). Plusieurs auteurs ont postulé que les états déprimés élèvent le tonus sympathique qui en retour peut augmenter la réactivité

plaquettaire et vasculaire, induire des altérations de la pression sanguine, causer la lésion endothéliale et ainsi augmenter le risque cardiovasculaire (Carney et al 1987; Ford et al 1998; Musselman et al 1998).

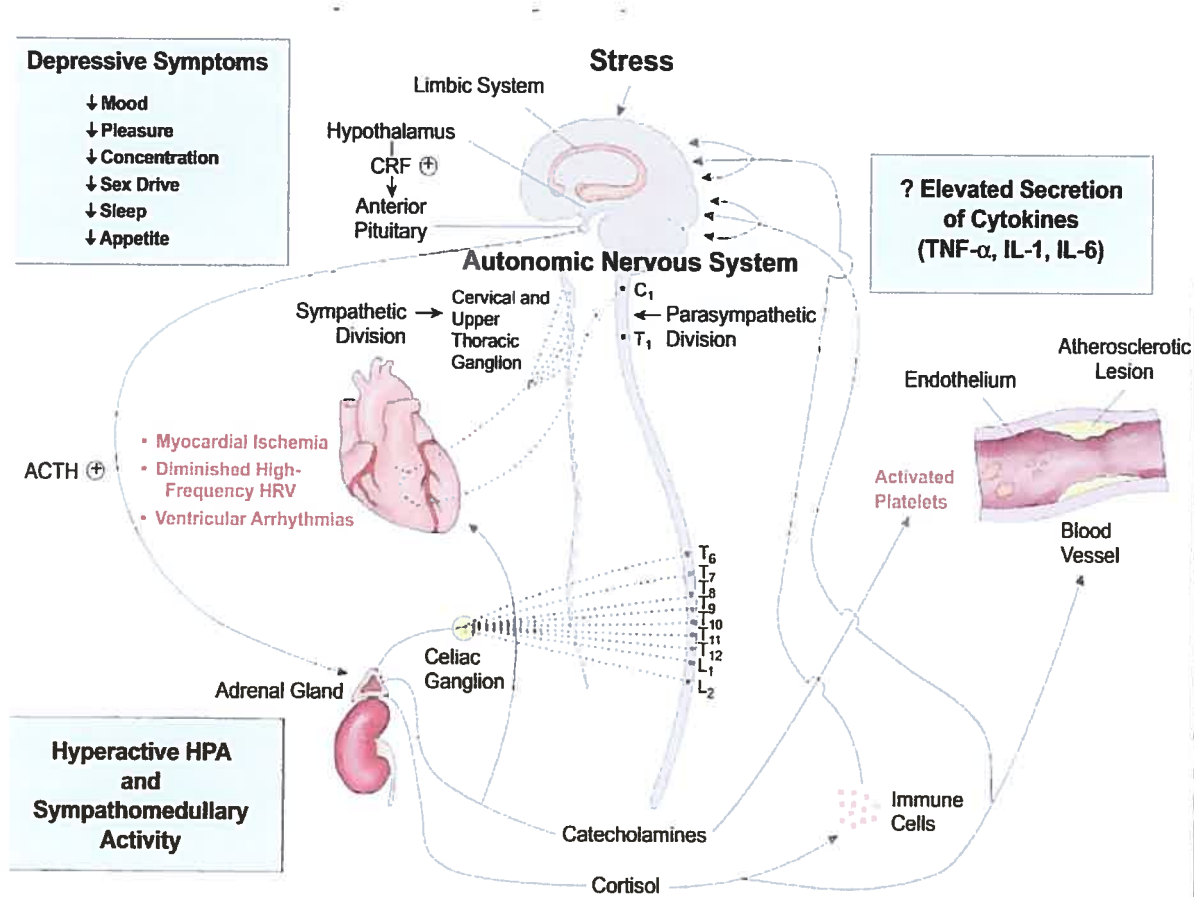


Figure 3 : Schéma hypothétique des altérations physiopathologiques associées avec la dépression qui contribueraient à l'augmentation de la vulnérabilité aux maladies cardiovasculaires (Musselman et al 1998).

V.1.1. Hyperactivité de l'axe hypothalamo-hypophysaire-surrénalien

L'hyperactivité de l'axe HPA est un trait majeur de la dépression. Cependant, les mécanismes qui sont à la base de ce processus ne sont pas totalement élucidés. Cette hyperactivité est caractérisée par une hypercommande du facteur de libération de la corticotropine (CRF), une réduction de la fonction de rétroaction négative et une hypercortisolémie (Eede and Claes 2004) comme nous allons le voir. Le CRF et le système locus coeruleus-NE représentent les principales composantes du système de stress ; ces composantes agissent par l'intermédiaire de leurs effecteurs périphériques qui sont l'axe hypophysaire surrénalien et le système autonome (Tsigos and Chrousos 2002). En effet, le mécanisme principal par lequel le cerveau réagit face au stress aigu ou chronique est l'activation de l'axe HPA ; les neurones dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus secrètent le CRF ; celui-ci est transporté à travers le système vasculaire vers l'hypophyse pour stimuler la synthèse et la libération de l'adrénocorticotropine hormone (ACTH). Ensuite, l'ACTH stimule les glandes surrénales qui secrètent à leur tour les glucocorticoïdes : cortisol chez l'humain et corticostérone chez les rongeurs (Nestler et al 2002a).

Le cortisol est l'effecteur final de l'axe HPA et participe dans la réponse de l'organisme au stress. L'activité de cet axe est contrôlée par

plusieurs voies cérébrales incluant l'hippocampe qui exerce une influence inhibitrice sur les neurones de l'hypothalamus renfermant le CRF et l'amygdale qui exerce une influence excitatrice directe sur ces neurones. De plus, le cortisol agit comme régulateur de la rétroaction négative sur l'hypothalamus et l'hypophyse, diminuant ainsi la sécrétion du CRF et de l'ACTH respectivement. La régulation négative de la rétroaction se fait à travers un système de récepteurs doubles : les récepteurs glucocorticoïde (RG) et minéralocorticoïde (RM) (Dunn et al 2005). En dessous du niveau de base des glucocorticoïdes, la rétroaction négative est médiée principalement à travers les RM en augmentant l'inhibition hippocampale de l'activité de l'axe HPA. Ces glucocorticoïdes peuvent également augmenter la fonction de l'hippocampe en général et par conséquent favoriser certaines capacités cognitives. Lorsque la concentration des glucocorticoïdes reste élevée sous l'action d'un stress sévère et prolongé, les RG deviennent moins sensibles dans l'hippocampe, l'hypothalamus et l'hypophyse. De plus, ces glucocorticoïdes sont susceptibles d'endommager les neurones de l'hippocampe particulièrement les neurones pyramidaux du CA3. La nature précise de ce dommage n'est pas totalement comprise, cependant, impliquerait une réduction de l'arborisation dendritique, une diminution de la production de nouveaux neurones et une perte des épines dendritiques hautement

spécialisées où les neurones reçoivent leurs inputs synaptiques glutamatergiques (Eede and Claes 2004; McEwen 2000; Nestler et al 2002a).

Par ailleurs, la véritable physiopathologie de l'hyperactivité de l'axe HPA dans la dépression n'est pas encore élucidée. A ce jour, les principales hypothèses avancées sont celles des RG et de l'hypercommande du CRF. L'hypothèse des RG repose sur la résistance des RG et sur la réduction de la rétroaction négative dans la dépression majeure comme principale cause de l'augmentation du CRF (Eede and Claes 2004). Quant à l'hypothèse de l'hypercommande, elle s'appuie sur un système de plusieurs boucles qui stimulent l'hypothalamus et le système amygdaloïde CRF (Makino and al 2002). Initialement, le stress active le système hypothalamus-CRF, ce qui entraîne une hypersécrétion du cortisol par les glandes surrénales. Dans la phase chronique du stress, la diminution des RG due à l'excès de cortisol empêche de restreindre l'hyperfonction de l'axe HPA. De plus, le CRF serait capable d'augmenter sa propre biosynthèse dans le noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (Makino and al 2002). Par contre, la composante physiologique du stress active l'axe HPA en stimulant le système amygdaloïde-CRF.

V.1.2. Réduction de la variabilité du rythme cardiaque

La variabilité du rythme cardiaque (VRC) est la variation de l'intervalle de temps qui sépare deux battements cardiaques consécutifs. Cette variabilité est considérée comme étant le reflet de l'activité du système nerveux autonome (Viola 2004); c'est un prédicateur important de la mortalité post-infarctus (Kleiger et al 1987; Sudhair et al 1994).

Les altérations de l'activité du système nerveux autonome représentent un autre mécanisme potentiel contribuant à la réduction de survie des patients déprimés avec des maladies cardiovasculaires. Il a été estimé que les fluctuations de battement à battement au sein des paramètres hémodynamiques reflètent la réponse dynamique des systèmes de contrôle cardiovasculaire à une myriade de perturbations physiologiques telles que les fluctuations du rythme cardiaque associées avec la respiration. Ainsi, ces fluctuations du rythme cardiaque peuvent fournir une mesure sensible du fonctionnement des systèmes sympathique, parasympathique et rénine-angiotensine. L'homéostasie cardiovasculaire est maintenue par les systèmes parasympathique et sympathique via les afférences des chémorécepteurs et pressorécepteurs et les efférences qui altèrent le rythme cardiaque, la conduction atrioventriculaire, la contractilité, qui affectent également la vascularisation périphérique et altèrent le tonus vasomoteur veineux et atrial

(Akselrod et al 1981). De plus, la génération centrale et le contrôle du rythme cardiaque sont régulés par le l'hypothalamus, le système limbique et le tronc cérébral. Plusieurs neurotransmetteurs du système nerveux central, tels que l'acétylcholine, la NE, la 5-HT et la dopamine, sont impliqués dans la modulation de la variabilité du rythme cardiaque (Shields 1993; Spyer 1988). Un degré élevé de la VRC est observé dans les cœurs normaux avec une bonne fonction cardiaque; tandis que la VRC peut être significativement réduite chez les patients ayant des maladies cardiovasculaires ou une défaillance cardiaque (Dalack and Roose 1990). En d'autres mots, l'augmentation du risque de morbidité et de mortalité cardiaque s'expliquerait, entre autres, par l'altération du tonus cardiaque du SNA (Glassman 1998); l'augmentation de l'activité du système nerveux sympathique ou la diminution de l'activité du système nerveux parasympathique prédispose les patients ayant une maladie cardiovasculaire à la tachycardie ventriculaire, à la fibrillation ventriculaire et à la mort cardiaque soudaine (Carney et al 2001). C'est pourquoi, le risque relatif de mort cardiaque soudaine après l'IM est significativement élevé chez les patients avec VRC diminuée (Cripps et al 1991). En plus de la VRC, l'âge, la fraction d'éjection ventriculaire et la fréquence des arythmies sont des facteurs pronostics post-infarctus du myocarde (Araya-Gomez et al 1994).

Par ailleurs, en dépit de la complexité dans l'interprétation des données sur la variabilité du rythme cardiaque, la faible VRC a été fortement associée, entre autres, avec la mortalité post-infarctus et la dépression. La moyenne de la VRC en 24 heures a été trouvée plus faible chez les patients déprimés que chez ceux non déprimés (Carney et al 2001; Carney et al 1995a; Stein et al 2000). Cette variabilité est mesurée en hertz et est généralement divisée en haute, moyenne et faible domaines de fréquence ou puissance. Malgré la disparité entre les chercheurs à propos de la précision des limites de chacun de ces domaines, il existe un consensus selon lequel la faible fréquence de VRC est sous l'influence des systèmes nerveux sympathique et parasympathique (Akselrod et al 1985; Koizumi et al 1985; Liao et al 1997); tandis que la fréquence moyenne et haute de la VRC semble être uniquement sous l'influence parasympathique (Akselrod et al 1985; Liao et al 1997). La VRC est étudiée, entre autres, par la méthode d'analyse spectrale; l'analyse spectrale des intervalles R-R de l'électrocardiogramme permet grâce à une transformation de Fourier de séparer le domaine des basses fréquences (BF = 0,04 à 0,15 Hz) qui reflète principalement l'activité sympathique, du domaine des hautes fréquences (HF = 0,15 à 0,50 Hz) qui est le reflet de l'activité parasympathique. Le rapport entre ces deux indices spectraux (BF/BF + HF) est utilisé pour évaluer l'équilibre sympatho-vagal (Viola 2004).

De plus, l'affaiblissement de la VRC a été associé non seulement avec le trouble dépressif majeur mais également avec la dépression mineure (Carney et al 1995b; Krittayaphong et al 1997). Cette association est en harmonie avec la relation entre la dépression et la mortalité chez les patients post-infarctus (Carney et al 2001). Cependant, bien qu'il a été suggéré que la VRC chez les patients déprimés a été améliorée avec l'usage des antidépresseurs (Balogh et al 1993; Khaykin et al 1998), ces résultats ont été contestées (Yeragani et al 1992). Il est également important de noter que la stimulation du nerf vague par des électrodes a été utilisée avec succès dans le traitement des patients déprimés qui résistaient aux antidépresseurs et à la thérapie électroconvulsive (Rush et al 2000).

V.1.3. Augmentation de la réactivité des plaquettes

Les effets défavorables de la dépression sur une maladie cardiovasculaire peuvent également être médiés via les mécanismes des plaquettes. Markovitz et Matthews (1991) ont été les premiers à proposer que l'augmentation de la réactivité des plaquettes due au stress psychologique provoquerait des événements ischémiques néfastes sur l'artère coronaire. Cette association entre l'activation des plaquettes et la maladie cardiovasculaire est indirectement supportée par les études liant la maladie cardiovasculaire et la dépression. En effet, les plaquettes jouent un rôle central

dans l'hémostase, la thrombose, le développement de l'athérosclérose et dans les syndromes coronaires aigus (Lefkovits et al 1995); ceci se fait à travers leurs interactions avec les composantes sous endothéliales des parois des vaisseaux sanguins endommagées et les facteurs plasmatiques de coagulation, principalement la thrombine. Les plaquettes humaines renferment des récepteurs adrénergiques, sérotoninergiques et dopaminergiques. La stimulation des α_2 -adrénocépteurs sur les membranes des plaquettes augmente les concentrations des catécholamines circulantes et potentialise les effets des autres agonistes et, à des concentrations plus élevées, initie les réponses des plaquettes dont la sécrétion, l'agrégation et la synthèse de la thromboxane A₂ (TxA₂). Suivant la lésion de l'endothélium des vaisseaux, les plaquettes et les leucocytes circulants s'attachent aux composantes sous-endothéliales. Les plaquettes adhèrent au collagène, et autres composantes de la matrice sous endothéliale, exposée à la zone dénudée de l'endothélium vasculaire et en présence de thrombine stimule l'activation des plaquettes. Cette activation est également accompagnée par la sécrétion dans l'environnement extracellulaire des composants présentes dans les granules intra-plaquettaires incluant des facteurs chimiotactiques et mitogènes induisant la migration des leucocytes et la prolifération des cellules vasculaires. Ces substances plaquettaires ainsi sécrétées, tels que le facteur plaquettaire 4, la β -thromboglobine et la sérotonine, stimulent et recrutent d'autres plaquettes et pour ensuite induire

leur agrégation irréversible conduisant la formation d'une thrombose.

Les plaquettes contribuent également à l'endommagement vasculaire en stimulant la recapture des lipoprotéines par les macrophages et la médiation de la vasoconstriction à travers la production et/ou la libération de substances tels que la TxA_2 , les facteurs activant les plaquettes et la sérotonine (Lechin et al 1995). De plus, la sécrétion de la sérotonine par les plaquettes induit à la fois l'agrégation plaquettaire et la vasoconstriction coronaire médiée par les récepteurs de la sérotonine. La vasoconstriction survient spécialement quand les mécanismes de la relaxation vasculaire sont défectueux comme cela survient souvent chez les patients ayant des maladies cardiovasculaires (DeCierck 1991; Laghrissi-Thode et al 1997). En effet, l'hypertension artérielle, les niveaux plasmatiques du cholestérol, le vieillissement et la cigarette sont des facteurs prédisposant bien connus pour le développement des maladies cardiovasculaires; tous ces facteurs contribuent à l'activation des plaquettes médiée par la sérotonine (Owens and Nemeroff 1994).

L'activation plaquettaire est élevée chez les patients déprimés et joue un rôle clé dans la formation de la thrombose artérielle coronaire. La formation de la thrombose provoque des syndromes cardiovasculaires aigus dont l'angine de poitrine instable, IM aigu et la mort cardiaque soudaine (Kristensen et al 1989). Bien que la sérotonine soit un activateur faible des plaquettes, il faut noter qu'elle est capable d'induire de fortes réactions

plaquettaires à travers une amplification via l'acide arachidonique et la libération de la TxA_2 (Clerck 1991). Cette amplification survient quand la sérotonine stimule la D-myo-inositol-1,4,5-triphosphate ($\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$). $\text{Ins}(1,4,5)\text{P}_3$ qui libère le calcium des réserves intracellulaires, ainsi activant les phospholipases dont la phospholipase A_2 , qui libère les acides gras de la membrane (Clerck 1991; Kristensen et al 1989). Ces acides gras sont ensuite disponibles pour la conversion aux eicosanoïdes; ceux-ci issus de la libération de l'acide arachidonique sont pro-inflammatoires et favorise l'agrégation tandis que les eicosanoïdes issus de l'acide eicosapenta-énoïque (EPA) inhibent faiblement l'agrégation et l'inflammation (Hibbeln and Makino 2001). De plus, deux régulateurs clés des interactions entre les plaquettes et la paroi des vaisseaux sont les eicosanoïdes TxA_2 et la prostacycline (PGI_2). Les plaquettes sont la source principale de la TxA_2 qui possède les propriétés vasoconstrictrices et pro-agrégante. La PGI_2 , au contraire, est formée principalement par les cellules épithéliales et provoque la vasodilatation et inhibe l'agrégation des plaquettes (Hibbeln and Makino 2001).

VI. Chapitre VI : Objectifs et hypothèses

VI.1. Objectifs

La perturbation des fonctions du système cardiovasculaire, tel que l'IM, induit environ 15- 30% de risque de développer la dépression majeure dans les dix huit mois qui suivent l'IM (Carney et al 1990; Frasure-Smith et al 1993; Honig et al 1997; Schleifer et al 1989) et 20% de risque de développer une dépression mineure (Ahern et al 1990; Frasure-Smith et al 1995b; Frasure-Smith et al 1993; Ladwig et al 1991). Cette dépression serait, entre autres, le résultat de la perturbation des fonctions du système limbique (Richardson 1991). La dysfonction du système limbique provoquerait également une perturbation des fonctions cardiovasculaires (TerHorst 1999).

Nous avons choisi 40 minutes de temps d'ischémie suivies de trois jours de reperfusion dans le but d'avoir suffisamment d'impact sur le cerveau. De plus, nous avons opté pour au moins deux semaines de reperfusion, dans la tentative de modélisation de la dépression, pour s'harmoniser au temps requis pour parler de trouble dépressif (Voir chapitre I).

Nous avons également choisi d'utiliser la désipramine par ce que c'est un antidépresseur tricyclique classique, largement utilisé pour le traitement de la dépression. C'est la molécule type dans les modèles animaux de la dépression. Cet antidépresseur, nous l'espérons, renversera les symptômes

dépressifs qui seront observés après IM, et ainsi contribuera à valider le modèle animal que nous proposons ici.

Quant au deuxième antidépresseur, la sertraline, nous l'avons choisi d'abord à cause de sa spécificité sur la sérotonine, de son efficacité dans le traitement de la dépression, de son usage après IM, mais surtout par ce que ses effets secondaires n'ont aucune toxicité sur le système cardiovasculaire, contrairement aux antidépresseurs tricycliques. Il s'agit d'ailleurs d'un traitement de choix dans la dépression post IM (Frasure-Smith and Lesperance 2006).

L'objectif de cette étude est de valider la présence d'un syndrome dépressif suite à un IM en utilisant des outils comportementaux et d'examiner les changements qui y sont reliés dans le système limbique des rats en utilisant les outils biochimiques nécessaires pour mesurer le phénomène de mort cellulaire (apoptose).

VI.2. Hypothèses

Après l'induction de l'infarctus du myocarde chez le rat, nous nous attendons à ce que:

VI.2.1. Hypothèse principale

Le rat développe, après deux semaines de reperfusion, un syndrome dépressif majeur et qu'il présente, après trois jours de reperfusion, un processus apoptotique augmenté dans le système limbique.

VI.2.1.1. Hypothèses sous-jacentes

Les rats qui ont subi un IM boiront moins d'eau sucrée que les témoins durant le test de préférence au sucrose.

Les rats avec IM développeront des stratégies plus passives que les rats témoins dans le test de nage forcée.

Ces déficits comportementaux des rats IM seront renversés par les antidépresseurs.

Les rats avec IM présenteront un ratio Bax/Bcl2 plus élevé que celui des rats témoins dans le système limbique.

Les rats avec IM présenteront une activité de la caspase-3 plus élevée et des cellules TUNEL positives plus nombreuses dans le système limbique comparées aux rats témoins.

Protocole expérimental

Nous avons utilisé des rats Sprague-Dawley mâles adultes gardés dans des conditions normalisées d'animalerie. Nous avons induit l'infarctus de myocarde (IM) en provoquant une ischémie de 40 minutes suivie d'une reperfusion de 3 jours ou de 2 semaines. Tous les tests comportementaux ont été réalisés après deux semaines de reperfusion (à partir du jour 14) : le test de nage forcée pour vérifier la présence de détresse comportementale, le test de préférence au sucrose pour déterminer la présence d'anhédonie et un test d'orientation spatiale dans la piscine de Morris. Les tests biochimiques ont été réalisés après 3 jours de reperfusion. Les variables dépendantes mesurées sont la taille de l'infarctus du myocarde, le ratio Bax/Bcl2, les activités de la PI3-Kinase et de la caspase-3 et la présence de cellules TUNEL positives. Les structures cérébrales étudiées sont les cortex frontal et préfrontal, l'hippocampe, l'amygdale, l'hypothalamus et le vermis (cervelet).

Analyse statistique

Dans la première étude, une analyse de variance (ANOVA) suivie d'un test avec correction de Dunette a été utilisée pour comparer les résultats entre les groupes. Un test de χ^2 a été utilisé pour l'analyse des cellules TUNEL positives avec partition des résultats selon la méthode présentée par Siegel et Castellan (1988) pour les études numéro 1 et 3. Dans la seconde étude, lorsqu'il y avait une

comparaison entre deux groupes, un test de Student a été effectué. Une ANOVA à deux facteurs de classification a été utilisée pour l'analyse des tests de comportement ainsi que pour l'analyse de l'activité de la caspase-3 et pour le rapport Bax/Bcl-2 dans les études deux et trois. Une ANOVA avec mesures répétées (2X6) a été utilisée pour analyser le test d'orientation spatiale. Tous les tests précédents ont été réalisés à l'aide du logiciel Excel version 2004 et toutes les ANOVA ont été orthogonalisées selon la méthode de Gram-Schmidt. Le coefficient de régression linéaire entre le ratio Bax/Bcl2 et la nage forcée a été calculé avec le logiciel GraphPad Prism 4b. Dans tous les cas, $p < 0.05$ était considéré comme significatif.

VII. Chapitre VII: Premier article.

VII.1. Contributions dans la réalisation du premier article

J'ai pratiqué toutes les chirurgies réalisées dans ce premier article de ma thèse : en effet, j'ai induit non seulement l'infarctus du myocarde chez les rats mais également coupé leurs cerveaux afin d'obtenir les différentes régions cérébrales étudiées.

J'ai également coordonné et/ou pratiqué toutes les manipulations comportementales et biochimiques réalisées dans cet article. De plus, j'ai coordonné et/ou réalisé l'analyse des résultats et rédigé le premier jet de l'article.

Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat

Boubacar Pasto Wann, Matthieu Boucher, Sevan Kaloustian, Satra Nim, Roger
Godbout, Guy Rousseau

Text: 2300 words

Abstract: 236 words

Table: 1

Figures: 4

Running title. Apoptosis in amygdala after myocardial infarction

Correspondance to:

Guy Rousseau*, Ph.D.


Centre Biomédecine Hôpital du Sacré-Coeur

5400 Boul. Gouin Ouest Montréal (Québec)

H4J 1C5 Canada

Phone: (514)-338-2222, ext.3421

Fax: (514)-338-2694

E-mail: 

This work was support by National Sciences and Engineering Research Council of
Canada

Article publié dans: Biological psychiatry 2006;59:430-433.

VII.2. Abstract

Myocardial infarction (MI) constitutes a risk factor for developing episodes of Major Depressive Disorder (MDD). Apoptosis is commonly observed in the reperfused myocardial infarcted heart and there are recent findings suggesting the existence of apoptosis in MDD. Cytokines, which are released by ischemic myocardium and which may induce apoptosis, have been proposed as a possible cause for MDD. In the present study, we used a rat model to verify the existence of post-MI apoptosis in the limbic system and determine if this effect can be attenuated by pentoxifylline (PTX), a cytokine synthesis inhibitor. Myocardial infarction was produced in anesthetized rats by a 40-minute occlusion of the left anterior descending coronary artery followed by 72 hours of reperfusion. Determination of apoptosis was done in the amygdala, hippocampus and vermis of MI and Sham rats treated or not with PTX (10 mg/kg/day i.p.). Infarct size was similar between groups. Compared to Sham rats, the amygdala of MI rats showed significantly reduced PI3K activity ($36\pm 10\%$), increased Bax/Bcl-2 ratio ($100\pm 13\%$), caspase-3 activity ($66\pm 10\%$), and TUNEL positive cells (0.11% for Sham vs 1.12% in MI). The effect of MI on apoptosis was completely reversed in presence of PTX. No statistical difference was observed in the hippocampus and the vermis in the different groups for any of the biochemical

measurements. These results indicated that MI induce apoptosis in amygdala by a cytokine-sensitive mechanism and may explain the MDD observed following myocardial infarction.

Key Words: Myocardial infarction, Apoptosis, Amygdala, Depression

VII.3. Introduction

Clinical studies have indicated that 65% of the patients with MI develop a depressive phase and about 20% of those will develop major depressive disorder (MDD) within 18 months (Frasure-Smith and Lespérance 2003). Recent data suggest that depressive symptoms may be related to the presence of apoptosis in different regions of the brain (Lucassen et al 2004b). Diminution of the volume of some limbic structures associated with depression, diminution of Bcl-2 anti-apoptotic proteins, reduction of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) pro-survival enzyme activity, diminution of CREB phosphorylation as well as augmentation of caspase-3 activity are factors that have been associated both with depression and apoptosis [for review see (Manji et al 2001)].

Pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β , IL-6 and TNF α are released following myocardial infarction (Deten and Zimmer 2002; Pudil et al 1999). The rapid increase of circulating cytokine concentrations, mainly TNF α , may induce apoptosis. In parallel to myocardial tissue, cytokine concentrations are also increased following myocardial infarction in brain tissue and particularly in the hypothalamus (Francis et al 2004). Chronic treatment with pentoxifylline (PTX) can prevent the increase of cytokine, mainly TNF- α in brain 4 week after MI (Francis et al 2004).

The two aims of the present study were to: A) verify the presence of apoptosis in the limbic structures, particularly those involved in the depressive state (amygdala and hippocampus) after myocardial infarction, B) if this could be prevented by PTX, a cytokine synthesis inhibitor.

VII.4. Procedures and Methods

Forty-two Sprague-Dawley rats (Charles River Canada, Saint-Constant, Québec) weighting 300-350g were included in this study. All procedures were in accordance with the rules of the Canadian Council on Animal Care.

VII.4.1. Experimental groups

Rats were distributed randomly into one of four groups: the experimental groups (MI or MI+PTX) were submitted to coronary occlusion for 40 minutes followed by 72 hours of reperfusion. Rats from the Sham or Sham+PTX groups were submitted to the same thoracotomy protocol but without actual coronary artery occlusion. PTX (10 mg/kg/day) was injected i.p., five minutes before occlusion and at the same moment the next two days.

VII.4.2. Surgical procedures

Ketamine/xylazine (35-50 mg/kg and 5 mg/kg i.m.) were used for induction of anesthesia, after which the rats were intubated, placed on an artificial respirator, and anesthesia maintained with isoflurane (1.5 %) ventilation. A left thoracotomy was performed at the fifth intercostal space and the left coronary artery was occluded with a silk suture. The occlusion was removed after 40 minutes, the chest was closed and the animal was

returned to its cage. After 72 hours of reperfusion, animals were sacrificed by decapitation and the heart and the brain were rapidly excised.

VII.4.3. Sacrifice of the animals

At the end of the reperfusion period, animals were secured in a restraint cone bag and rapidly decapitated. This technique was chosen to avoid alteration of the biochemical pathways in the brain due to anesthesia or CO₂ exposure.

VII.4.4. Estimation of infarct size

Infarct size was determined as previously described (Boucher et al 2005). Briefly, the heart was cannulated via the aorta, washed with saline and the coronary artery was reoccluded at the same site in order to determine the area at risk by infusing 2 ml of Evans Blue (0.5%) into aorta. The left ventricle was placed at -80 °C for 5 minutes and then sliced into four or five transverse sections of 2 mm each. After 5 minutes of incubation in triphenyltetrazolium chloride (1.5%), infarct size is estimated as a percent of area at risk.

VII.4.5. Brain region preparation

Brains were rapidly placed on a dish standing on crushed ice to dissect limbic structures, namely hippocampus and amygdala. The cerebellar vermis served as a non limbic control structure. Selected areas were snap frozen in liquid nitrogen and kept at -80°C until required. Right and Left sections were used for the biochemical analysis.

VII.4.5.1. PI3K activity

PI3K activity was determined by a technique described previously (Boucher et al 2004). Briefly, after tissue lysis and overnight immunoprecipitation, PI3K activity was determined in presence of 200 μM adenosine, 35 μM ATP, 30 mM MgCl_2 , 100 μg of phosphatidylinositol and 20 μCi [γ ^{32}P]-ATP for 20 minutes at room temperature, followed by extraction in chloroform. Lipids were separated on TLC plates with a solvent at -80°C and analyzed with a Kodak Image Station (Model 440CF).

VII.4.5.2. Determination of the Bax/Bcl-2 content

Tissue samples were lysed in a buffer containing protease and phosphatase inhibitors (leupeptin, microcystine, benzamidine). After solubilization, equal amount of proteins in each line were loaded on a 15% SDS-PAGE gels and, after migration, proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane. Primary antibody directed against Bax or Bcl-2 (Santa Cruz, CA) at a concentration of 1:1000 was followed by a secondary peroxidase-coupled antibody (anti-rabbit IgG-HRP or anti-mouse IgG-HRP from Santa Cruz, CA) at a concentration of 1:5000. Renaissance chemiluminescence kit (Perkin Elmer, Mississauga) was used to visualize the bands and the quantitative analysis was done with the Kodak ImageStation. After quantification, membranes were placed in stripping buffer (0.1M glycine, 1% SDS, pH 2.0, 1 hour at room temperature) and same procedures were repeated with the other antibody (Bax or Bcl-2) to obtain the Bax/Bcl-2 ratio.

VII.4.5.3. Caspase-3 activity

Caspase-3 activity was determined as previously described (Boucher et al. 2004). Briefly, cytosolic proteins were extracted in lysis buffer (1 % Triton

X-100, 0.32 M Sucrose, 10mM Tris (pH 8.0), 5 mM EDTA, 2 mM DTT, 1mM PMSF, 10 µg/mL Leupeptin, 10 µg/mL Pepstatin A, 10 g/mL Aprotinin). Enzymatic reactions were performed in reaction buffer (50 mM Tris (pH 7.5), 5 mM MgCl₂, 1 mM EGTA, 0.1 % CHAPS, 1 mM DTT) with 25 µg of proteins and fluorogenic substrate, Ac-DEVD-AMC (40µM). Reactions were incubated at 37°C for 3 hours and stopped with the addition of 0.4 M NaOH and 0.4 M glycine buffer. Fluorescence was quantified with a spectrofluorometer (Photon Technology International, Lawrenceville, NJ, USA) at an excitation wavelength of 365 nm and an emission wavelength of 465 nm. Linearity was been tested and observed up to 100µg of protein.

VII.4.5.4. TUNEL assay

TUNEL staining was done in accordance with the protocol provided by the manufacturer (Oncogene, La Jolla, CA). Cryostat sections were fixed in paraformaldehyde (4%), rinsed and dried. Sections were permeabilized and, after washing, the labeling reaction was performed for 1.5 hour at 37°C. The reaction was stopped and the sample was stained with 1µg/ml PI for 10 minutes at room temperature. After two washes, sample was viewed using a Leica epi-illumination microscope. All sections were photographed at the same magnification (400X) using a Nikon Coolpix 995 with a specific filter to determine TUNEL positive cells. A second picture of the section was taken

with a filter to count the total number of cells (PI positive). ImageJ software (version 1.33u) was used to determine the number of positive cells and the total number of cells. About 500 cells were counted per sample (three samples per group).

VII.4.6. Statistical analysis

Results are expressed as mean (\pm standard error of the mean). Comparisons were made using analysis of variance adapted for factorial experimental design (Winer 1971), followed by Dunnett's T test correction. TUNEL staining data were evaluated with a χ^2 statistical test. $p < 0.05$ was considered significant.

VII.5. Results

VII.5.1. Infarct size

In our experimental model, infarct size in the MI group was $54\pm 2\%$ of the area at risk ($n = 17$) and $50\pm 2\%$ for the MI+PTX group ($n = 9$; $p = 0.2059$ vs MI only). The area at risk represents around 50% of left ventricle. Number of Sham rats was 14 for the Sham and 7 for the Sham + PTX.

VII.5.1.1. PI3K activity

Activity of PI3K observed in the amygdala was significantly decreased in MI group ($36\pm 10\%$) as compared to the Sham group (Figure 1A). This effect is completely blocked in MI+PTX group ($3.6\pm 3.4\%$ of Sham). No significant difference was observed between groups in hippocampus and vermis (figure 2A and 3A).

VII.5.1.2. Bax/Bcl-2 ratio

Evaluation of Bax content by western blot indicated a non-significant increase in the MI group as compared to Sham (MI: $18\pm 3\%$; Sham+PTX - $11\pm 9\%$; MI+PTX $7\pm 7\%$). In parallel, Bcl-2 content evaluated by western blot

indicated a non-significant decrease in the MI group compared to Sham (MI: $-42\pm 4\%$; Sham+PTX: $-12\pm 20\%$; MI+PTX: $22\pm 36\%$). However, apoptosis is a balance between pro- and anti-apoptotic signals and expressed as a ratio indicating a shift toward pro- or anti-apoptotic signal. We found an increase in the Bax/Bcl-2 ratio in the MI group ($100\pm 13\%$ of Sham; figure 1B) indicating a change in the balance toward a pro-apoptotic signal. In MI+PTX group ($-7\pm 19\%$) the ratio was similar to the one observed in the Sham+PTX group ($3\pm 18\%$). No significant difference was observed in the ratio between Sham and MI groups in the hippocampus and in the vermis (figure 2B and 3B).

VII.5.1.3.

Caspase-3 activity

Caspase-3 activity was significantly increased in the amygdala of MI group compared to Sham rats ($66\pm 10\%$; Figure 1C) but not in Sham+PTX ($9\pm 12\%$) or MI+PTX group ($9\pm 25\%$). Caspase-3 activity was not altered in neither the hippocampus nor the vermis for the different groups (figure 2C and 3C).

VII.5.1.4. TUNEL

TUNEL-positive cells were rarely detected in the amygdala of Sham or MI+PTX groups (table 1; figure 4). In contrast, the number of TUNEL-positive cells was significantly higher in the amygdala of MI rats compared to Sham animals ($p < 0.001$; table 1). We detected a few positive cells in the hippocampus and the vermis, but no significant differences were found between groups.

VII.6. Discussion

The amygdala is a key component of the limbic system and has been associated with emotional, motivational and homeostatic components of MDD (Nieuwenhuys 1996b). The amygdala maintains connections with other brain areas including the hippocampus, thalamus, neocortex, striatum and basal forebrain. The amygdala is also involved in the regulation of cardiovascular functions mainly by modulation of neuronal activity including the autonomic parasympathetic level and the baroreceptor reflex arc (Ter Horst 2000). The present results are thus consonant with an involvement of limbic apoptosis in post MI mood disorders. Surprisingly the hippocampus, a structure involved in mood disorders, memory and especially vulnerable to stress (Lupien and Lepage 2001), did not show signs of apoptosis. At least two possibilities can explain this finding: apoptosis takes place only in a sub-compartment of the hippocampus, or it takes place after a delay shorter or longer than 72 hours. In cardiac arrest survivors in whom memory is impaired, however, global cerebral atrophy was observed, without selective hippocampal damage. Taken together these results suggest that, contrary to other types of stress, cardiac stress does not affect the hippocampus (Grubb et al 2000).

Cytokines synthesis has been previously observed in the limbic system following MI and this was prevented by the i.p. administration of PTX

(Francis et al 2004). The effect of PTX in the present study indicates that cytokines act as a major promoter of post MI apoptosis in the limbic system. This prophylactic effect is independent of infarct size since PTX was not associated with a change of infarct size compared to non-PTX rats. Synthesis of cytokines by the ischemic myocardium could directly be responsible for post-MI apoptosis in the limbic system but other signal transduction mechanisms could also be involved. Alternatives are presently under investigation.

Apoptosis can be induced by two pathways, extrinsic and intrinsic, although there are some proteins that are common to both. Our data suggest that the extrinsic pathway is probably the one that promote post-MI apoptosis observed in the amygdala in our model. Since PTX completely blocked apoptosis, this suggests that an extracellular signal, probably cytokines, is responsible for the induction of apoptosis.

In conclusion, we found a localized apoptotic process in the limbic system three days after the myocardium have sustained an ischemic insult. These changes are prevented by inhibiting cytokines synthesis. These observations may have a clinical impact and be related with mood disorders often observed following MI.

VII.7. Acknowledgments

This work was supported by National Sciences and Engineering Research Council of Canada. GR is a scholar of the Fonds de Recherche en Santé du Québec. BPW was recipient of the J.A. DeSève Ph.D. scholarship. MB is a scholar of Fonds de Recherche en Santé du Québec/Réseau de Santé Cardiovasculaire/Heart & Stroke Foundation of Québec.

VII.8. References

- Boucher M, Pesant S, Falcao S, et al (2004): Post-ischemic cardioprotection by A_{2A} adenosine receptors: dependent of phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 43:416-422.
- Boucher M, Wann BP, Kaloustian S, et al (2005): Sustained Cardioprotection Afforded by A_{2A} Adenosine Receptor Stimulation After 72 Hours of Myocardial Reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 45:439-446.
- Deten A, Zimmer H-G (2002): Heart function and cytokine expression is similar in mice and rats after myocardial infarction but differences occur in TNF α expression. *Pflugers Arch - Eur. J. Physiol.* 445:289-296.
- Francis J, Chu Y, Johnson AK, Weiss RM, Felder RB (2004): Acute myocardial infarction induces hypothalamic cytokine synthesis. *Am. J. Physiol.* 286:H2264-H2271.
- Frassure-Smith N, Lespérance F (2003): Depression and other psychological risks following myocardial infarction. *Arch. Gen. Psychiatry* 60:627-636.
- Grubb NR, Fox KA, Smith K, et al (2000): Memory impairment in out-of-hospital cardiac arrest survivors is associated with global reduction in brain volume, not focal hippocampal injury. *Stroke* 31:1509-14.

- Lucassen PJ, Fuchs E, Czéh B (2004): Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol. Psych.* 55:789-796.
- Lupien SJ, Lepage M (2001): Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behavioural Brain Research* 127:137-158.
- Manji HK, Drevets wC, Charney DS (2001): The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine* 7:541-547.
- Nieuwenhuys R (1996): The greater limbic system, the emotional motor system and the brain. *Prog. Brain Res.* 107:551-580.
- Pudil R, Pidrman V, Krejsek J, et al (1999): Cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction. *Clin. Chim. Acta* 280:127-134.
- Ter Horst GJ (2000): Emotions and Heart-Activity Control. In Ter Horst GJ (ed), *The nervous system and the heart*. Totowa, NJ: Humana Press, pp 55-115.
- Winer BJ (1971): *Statistical principles in experimental design*, 2nd edition ed. New-York: McGraw-Hill.

VII.9. Tableau

VII.9.1. Table 1. Total and Positive TUNEL cells
in amygdala

Group	Positive cells	Total cells	% of positive cells
Sham	2	1754	.11
MI	19	1702	1.12*
MI + PTX	3	1610	.19

$p < 0.05$ vs Sham

VII.10. Figures

Figure 1

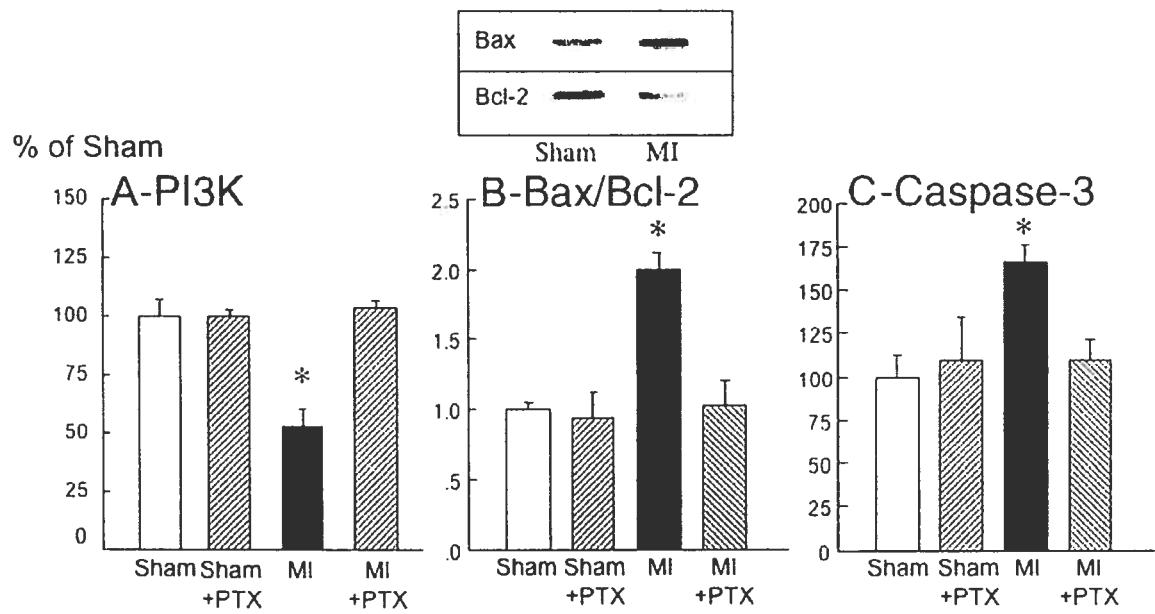


Figure 2

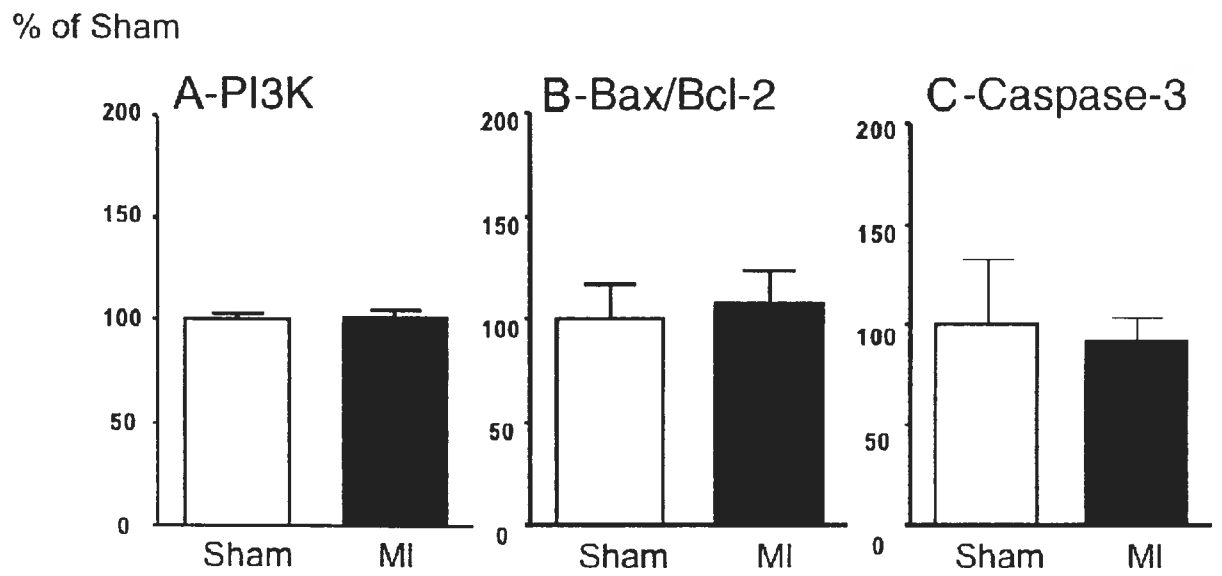


Figure 3

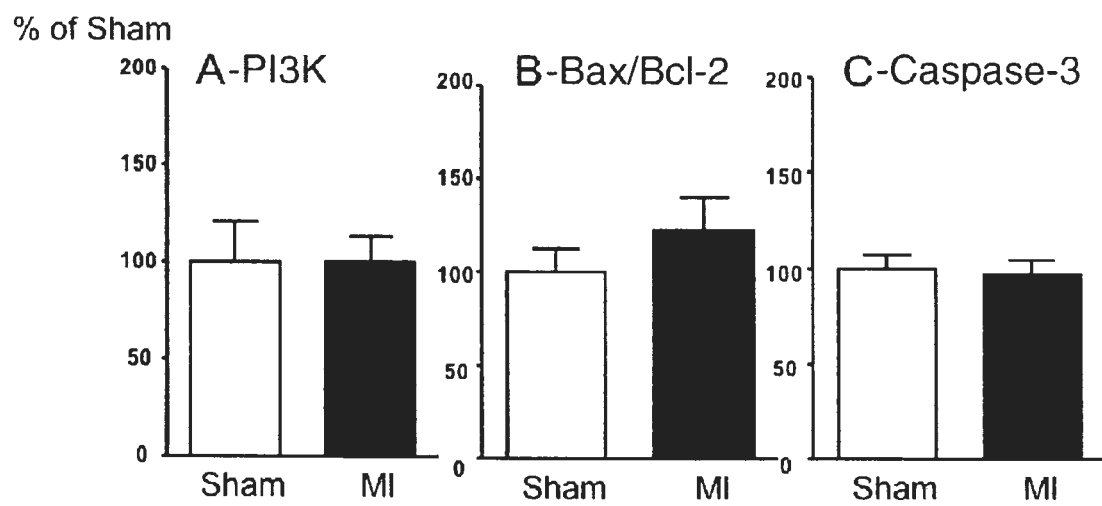


Figure 4



VII.11. Figure legends

Figure 1.A): PI3K activity, as assessed by phosphatidylinositol phosphorylation, was decreased in the amygdala of the MI rats as compared to other experimental groups (n=4-7 per group; $F(3,17)=13.082$; $*p < 0.001$ vs Sham). B) Western blot analysis of Bax and Bcl-2 expression in the amygdala. MI rats demonstrated an increase of the ratio of Bax/Bcl-2 in the MI as compared to other groups (n=4-7 per group; $F(3,20)=6,787$ $*p < 0.01$ vs Sham). C) Caspase-3 activity was significantly increased in amygdala of rats with myocardial infarction as compared to other groups (n= 3-8 per group; $F(3,15)=10.702$; $*p < 0.01$ vs Sham).

Figure 2. A): PI3K activity, as assessed by phosphatidylinositol phosphorylation, was similar in the hippocampus of the MI rats as compared to Sham group (n= 4 per group; $p = .74$).

B) Western blot analysis of Bax and Bcl-2 expression in the hippocampus. Ratio of Bax/Bcl-2 is similar in the MI as compared to Sham group (n=4 per group; $p = .75$). C) Caspase-3 activity was also similar in the

hippocampus of rats with myocardial infarction as compared to Sham group (n = 3 and 8 per group; p = .76).

Figure 3. A): PI3K activity, as assessed by phosphatidylinositol phosphorylation, was similar in the vermis of the MI rats as compared to Sham group (n= 4 per group; p = .99).

B) Western blot analysis of Bax and Bcl-2 expression in the vermis. Ratio of Bax/Bcl-2 is similar in the MI as compared to Sham group (n= 5 and 6 per group; p = 0.37). C) Caspase-3 activity was also similar in the vermis of rats with myocardial infarction as compared to Sham group (n= 4 per group; p = .79).

Figure 4. Typical example of positive cells in amygdala. Red spots correspond to nucleus of negative cells and yellow spot corresponds to nucleus of positive cells.

VIII. Chapitre VIII: Deuxième article.

VIII.1. Contributions dans la réalisation du deuxième article

J'ai pratiqué toutes les chirurgies réalisées dans ce deuxième article de ma thèse : en effet, j'ai induit non seulement l'infarctus du myocarde chez les rats mais également coupé leurs cerveaux afin d'obtenir les différentes régions cérébrales étudiées.

J'ai également coordonné et/ou pratiqué toutes les manipulations comportementales et biochimiques réalisées dans cet article. De plus, j'ai coordonné et/ou réalisé l'analyse des résultats et rédigé le premier jet de l'article.

Title: Vulnerability for apoptosis in the limbic system following myocardial infarction in the rat: a possible model for human post-infarct major depression

Abbreviated title: Post MI depression in the rat

Boubacar Pasto Wann, Thierno Madjou Bah, Matthieu Boucher, Jérôme Courtemanche, Nathalie Le Marec, Guy Rousseau, Roger Godbout

Corresponding author:

Roger Godbout, Ph.D.

Centre de recherche

Hôpital du Sacré-Coeur

5400 Boul. Gouin ouest

Montréal (Québec) Canada H4J 1C5

Phone: (514) 338-2222, ext. 2460

Fax: (514) 338-2694

E-mail: [REDACTED]

Three figures; 0 tables; 18 pages; 2688 words

Article publié dans : J Psychiatry Neurosci 2007;32(1) :11-16.

VIII.2. Abstract

Objective: Major Depressive Disorder occurs in 15-30% of patients having had a myocardial infarction (MI), but the neurobiological mechanisms involved are not well understood. We have previously found early intracellular signalling changes in the limbic system following acute MI in the rat. The aim of the present study was to test the presence of behavioural deficits compatible with animal models of depression following acute MI in the rat and to verify whether this is associated with apoptosis vulnerability markers. **Methods:** Occlusion of the left-anterior descending artery was induced for 40 minutes under anaesthesia in adult male Sprague-Dawley rats. Control sham rats underwent the same surgical procedure without occlusion. After surgery, subgroups of MI and Sham rats were treated with desipramine (10mg / kg, i.p.) for 14 days. All rats were tested on measures of behavioural depression 14 days after surgery: sucrose preference and forced swimming, as well as with a memory test (Morris Water Maze: MWM). After sacrifice, MI size was determined; apoptosis was estimated in the prefrontal cortex, hypothalamus, amygdala and hippocampus by measuring Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 activity.

Results: Untreated MI rats drank significantly less sucrose and swam significantly less than sham rats. No difference was found on the MWM. Behavioural depression was prevented by desipramine. Bax/Bcl-2 ratio was significantly increased in the prefrontal cortex and hypothalamus of MI rats compared to sham; caspase-3 activity

showed no difference between the two groups. Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex was correlated with swim time. **Conclusion:** It is concluded that behavioural impairment and limbic apoptotic events observed following a myocardial infarct are consistent with a model of human post MI depression.

Keywords: Anhedonia; apoptosis; Bax/Bcl-2; Antidepressant; Reperfusion

VIII.3. Introduction

Major Depressive Disorder (MDD) occurs in 15-30% of patients having had a myocardial infarction (MI)^{1,2,3}, suggesting a pathophysiological cross talk between the heart and the brain. Interface models have been proposed and have lead to various hypotheses, one of which suggests that the release of proinflammatory cytokines is involved in the pathophysiology of post MI depression⁴. This is supported by the fact that the administration of proinflammatory cytokines such as tumour necrosis factor alpha (TNF- α) induces depressed mood in healthy humans^{5,6}. Proinflammatory cytokines also display pro-apoptotic properties in limbic areas such as the hippocampus, further supporting their role in the pathophysiology of depression^{7,8}. We have recently shown in the rat that proinflammatory cytokine release can induce apoptosis (programmed cell death) of limbic neural tissue following acute MI^{9,10}. Apoptosis is regulated by different classes of proteins^{11,12} including caspase-3 which can induce cleavage of other proteins and alter cell integrity. Activation of caspase-3 is considered to be a hallmark of apoptosis^{12,18}. Upstream of caspase-3 are anti-apoptotic proteins (e.g., Bcl-2) and pro-apoptotic proteins (e.g., Bax), which regulate the release of cytochrome C from mitochondria, activating caspase to induce apoptosis. It has been shown

for example that Bcl-2 shuts off the apoptotic signal transduction pathway upstream of caspase activation¹⁴. The Bax/Bcl-2 ratio is used as an index of vulnerability for apoptosis^{12,19}.

Apoptosis is suggested to be involved in mood disorders¹³ and antidepressant treatments are known to prevent apoptosis^{16,17} and even increase neurogenesis in the rat hippocampus¹⁵. Fluoxetine (a selective 5-HT uptake inhibitor) and moclobemide (a MAO-A inhibitor) are antidepressants known to upregulate Bcl-2^{32,33}. Lithium and valproate, mood-regulating molecules used in bipolar disorders, also increase the expression of the anti-apoptotic protein Bcl-2³⁴. Thus, the aim of the present study was to verify if biochemical markers of apoptosis are associated with behavioural signs of depression following MI in the rat.

VIII.4. Methods

VIII.4.1. Experimental groups.

Thirty adult male Sprague-Dawley rats were used. They were housed individually under constant temperature (22°C) and humidity (40-50%); food and water were available *ad libitum*. Light period was 12 hours long and started at 08:00 AM. In 14 rats, the left coronary artery was occluded for 40 minutes (MI rats); the remaining rats were sham operated and were submitted to the same protocol except that the coronary artery was not occluded. Five MI rats and seven sham rats were treated with desipramine 10 mg/ml (Sigma, Saint Louis) at a daily morning dose of 10 mg/kg, i.p.; the other rats received 0.9% saline in equal volume. The first dose was administered immediately following suturing and the last dose was administered the morning prior to being sacrificed (i.e., 14-18 days post surgery). Behavioural tests were conducted between the 14th and the 18th day postsurgery (see below). Animal care and handling procedures were approved by the Local Animal Care Committee and followed the guidelines of the Canadian Council for Animal Care.

VIII.4.2. Surgical procedure.

Anaesthesia was induced with ketamine/xylazine (35-50 mg/kg and 5 mg/kg i.m. respectively), then maintained on isoflurane (1.5%) ventilation.

ECG and heart rate were monitored throughout. A left thoracotomy was performed at the fifth intercostal space; the left coronary artery was occluded for 40 min. using a silk thread. Ischemia was confirmed by alterations of the ST segment (time of complete stimulation of the ventricles) and myocardial surface cyanosis. After the thread was removed and the thorax sutured, each animal was returned to its home cage. All surgeries were performed between 08:00 AM and noon.

VIII.4.3. Behavioural measures.

Tests used were selected for their validity with regards to behavioural depression syndrome. All tests were conducted individually, in the morning, starting 14 days following surgery.

VIII.4.3.1. Forced Swim Test:

This test was originally described by Porsolt^{20,21} and it is a measure of behavioural despair^{20,21}. Rats were placed in a clear plastic cylindrical pool (45 cm tall x 25 cm diameter) filled with 30 cm of water maintained at 22-25°C. Rats were tested for two consecutive days (15 min. on 14th day post surgery and 5 min. on 15th day post surgery). Time spent swimming, trying to escape and being immobile on day 15 post surgery was scored by an experimenter.

VIII.4.3.2. Sucrose Preference Test:

Decreased sucrose intake is a measure of anhedonia^{22,23}. Rats had free access to two 250 ml bottles for five consecutive days (i.e., 14-18 days postsurgery): one containing tap water and the other containing a 1% sucrose solution. The position of the bottles was alternated each day. Volume intake was estimated by weighing bottles each morning, at light onset.

VIII.4.3.3. Morris Water Maze (MWM):

This is a test of motor performance and spatial memory requiring an intact hippocampus²⁴. Rats were placed in a pool (150 cm diameter, 50 cm deep) filled to 25 cm with water maintained at 22-25°C and made opaque with powdered milk. A submerged platform is placed just below the surface of the water. The rats are tested on four trials each day, five minutes apart, for six consecutive days (i.e., 14-19 days postsurgery). The number of quadrants crossed, the number of successful trials and the time taken to reach the platform is recorded; for details, see²⁵. None of the rats tested with the MWM received desipramine.

VIII.4.4. Tissue analyses.

Brain regions were identified according to the atlas of Paxinos and Watson²⁶.

VIII.4.4.1. Infarct size:

The heart was cannulated via the aorta and washed with saline, and the coronary artery was reoccluded at the same site to determine the area at risk by infusing 2 ml of Evans Blue (0.5%) into the aorta. The left ventricle was placed at -80°C for 5 min and then sliced into four or five 2 mm transverse sections. After 5 min of incubation in triphenyltetrazolium chloride (1.5%), infarct size was estimated as a percent of area at risk¹⁰.

VIII.4.4.2. Bax/Bcl-2 content:

Tissue samples were lysed in a buffer containing protease and phosphatase inhibitors (leupeptin, microcystine, and benzamidine). After solubilization, equal amounts of proteins in each line were loaded on a 15% sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) gels, and after migration, proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane. Primary antibody directed against Bax or Bcl-2 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA) at a concentration of 1:1000 was followed by a secondary peroxidase-coupled antibody (anti-rabbit immunoglobulin-horseradish peroxidase [IgG-HRP] or anti-mouse IgG-HRP, from Santa Cruz Biotechnology, CA) at a concentration of 1:5000. A Renaissance chemiluminescence kit (Perkin Elmer, Mississauga, Canada) was used to visualize the bands and the quantitative analysis was conducted using

a Kodak ImageStation. After quantification, membranes were placed in stripping buffer (0.1 M glycine, 1% SDS, pH 2.0, 1 hour at room temperature); the same procedures were repeated with the other antibody (Bax or Bcl-2) to obtain the Bax/Bcl-2 ratio¹⁰.

VIII.4.4.3. Caspase-3 activity.

Cytosolic proteins were extracted in lysis buffer (1% Triton X-100, 0.32 M sucrose, 10 mmol/ml Tris [pH 8.0], 5 mmol/ml ethylenediamine tetraacetate, 2mmol/ml DL-1,4-dithiothreitol (DLL), 1 mmol/ml phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF), 10 mg/ml Leupeptin, 10 mg/ml Pepstatin A, 10 g/ml Aprotinin). Enzymatic reactions were performed in a reaction buffer (50 mmol/ml Tris [pH 7.5], 5 mmol/ml MgCl₂, 1 mmol/ml ethylene glycol bis-2-aminoethyl ether-N,N',N',n'-tetra-acetic acid, 0.1% 3[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS), 1 mmol/ml DTT) with 25 mg of proteins and fluorogenic substrate, N-acetyl-asp-glu-val-asp-7- amido-4 methylcoumarin (Ac-DEVD-AMC) (40 μmol/ml). Reactions were incubated at 37°C for 3 hours and stopped with the addition of 0.4 M NaOH and 0.4 M glycine buffer. Fluorescence was quantified with a spectrofluorometer (Photon Technology International, Lawrenceville, New Jersey) at an excitation wavelength of 365 nm and an emission wavelength of 465 nm. Linearity has been tested and observed up to 100 μg of protein¹⁰.

VIII.4.5. Statistical analysis.

ANOVA for factorial designs (2X2) was performed for the Forced Swim Test, the Sucrose test and the Bax/Bcl-2 ratio (prefrontal cortex) to compare MI and sham rats, with and without desipramine. ANOVA for factorial designs with repeated measures (2X6; days as repeated measures) was performed to analyze results obtained in the Morris Water Maze. Orthogonal contrasts according to Gram-Schmidt were performed. Linear regression coefficient was calculated with GraphPad Prism version 4b (GraphPad Software, San Diego CA). Caspase-3 activity and Bax/Bcl-2 ratio (amygdala, hippocampus, and hypothalamus) were analyzed with Student T Test to compare MI and sham rats. In all cases, alpha level was set at .05.

VIII.5. Results

VIII.5.1. Forced Swim Test (Figure 1A):

ANOVA indicated a significant interaction between MI and treatment ($F_{1,16} = 20,33$; $p < 0,001$) for immobility, swimming ($F_{1,16} = 6,25$; $p < 0,05$) and escape time ($F_{1,16} = 15,86$; $p < 0,001$). For immobility and swimming, further analysis indicated that the response of the untreated MI group was largely responsible for this interaction: untreated MI rats were more immobile ($F_{1,16} = 12,42$, $p < 0,005$) and swam less ($F_{1,16} = 11,93$, $p < 0,005$) than untreated sham rats. On the other hand, desipramine-treated MI rats did not differ significantly from the desipramine-treated sham group with respect to immobility and swimming performance.

VIII.5.1.1. Sucrose preference test (Figure 1B):

Total liquid did not differ between groups. ANOVA indicated an interaction between MI and treatment in the Sucrose preference test ($F_{1,13} = 11,1$; $p < 0,01$). For sucrose preference, further analysis indicated that the response for the untreated MI group was largely responsible of this interaction: untreated MI rats drink significantly less sucrose ($F_{1,13} = 21,74$; $p < 0,001$) than the untreated sham rats. On the other hand, desipramine-treated MI rats did not differ significantly from the desipramine-treated sham group with respect to the sucrose intake.

VIII.5.1.2. Morris Water Maze:

ANOVA indicated no difference between MI and Sham groups (n=5 in each group). There was a significant ($F_{1,40}=12.59$, $p<0,001$) linear trend in the longitudinal data for days 1 to 6 suggesting a learning effect in both groups of rats. Higher order polynomial terms were not statistically significant.

VIII.5.2. Tissue analyses.

VIII.5.2.1. Infarct size:

MI was $71.0\pm 2.0\%$ (s.e.m.) of the area at risk.

VIII.5.2.2. Bax/Bcl-2 content (Figure 2):

Bax/Bcl-2 ratios was significantly different between MI and SHAM groups in the hypothalamus (MI: 200 ± 9.1 , Sham: 100 ± 6.9 ; $n=4$. $t = 8.76$; $df = 6$; $p < 0.001$). In the prefrontal cortex, the ANOVA indicated a significant interaction between MI and treatment ($F_{1,11} = 6,5$; $p < 0,05$). Further analysis indicated that the change in Bax/Bcl-2 content for the untreated MI group was largely responsible for this interaction: compared with the untreated sham rats, untreated MI rats shown a higher Bax/Bcl-2 content ($F_{1,11} = 19,18$; $p < 0,005$). On the other hand treated MI rats did not differ significantly from the desipramine-treated group with respect to the Bax/Bcl-2 content. Bax/Bcl-2

ratios did not differ between MI and Sham groups for the amygdala ($t = .91$; $df = 6$; $p = .39$) and the hippocampus ($t = 1.09$; $df = 6$; $p = .32$).

VIII.5.2.3. Relation between BAX/Bcl-2 ratios and specific behavioural changes (Figure 3):

An inverse linear regression between Bax/Bcl-2 ratio and swimming time in the Forced Swim Test was observed: an increase in prefrontal cortex Bax/Bcl-2 ratio is associated with a shorter period of swimming.

VIII.5.2.4. Caspase-3 activity:

No difference between the MI and sham rats was found in any of the four limbic structures investigated.

VIII.6. Discussion

This study shows that MI rats display behavioural signs compatible with depression two weeks after the cardiovascular event, including anhedonia, i.e., less sucrose intake^{22,27} and behavioural despair, i.e., decreased forced swimming^{20,21} and both were reversed by antidepressant treatment (desipramine 10mg / kg, i.p., for 14 days). In the latter case, desipramine decreased the passive strategy (immobility) in favour of active strategies (escape and swim), which is consistent with previous observations in other models^{28,29}. In contrast, MI rats were not impaired on the MWM, a task that requires an intact hippocampus. This is consistent with our observation of lack of hippocampal apoptosis. The lack of impairment on the MWM further suggests that MI rats did not suffer from overt motor problems or fatigue over the six-day protocol.

The increased Bax/Bcl-2 ratio we observed in MI rats relative to sham rats is in agreement with the results obtained by Eilat¹³ in peripheral blood leukocytes of patients with major depression compared to controls. Our results show that neurons of the prefrontal cortex and hypothalamus are vulnerable to apoptosis 2-3 weeks following an acute MI while the hippocampus is spared. Surprisingly, we found no Bax/Bcl-2 ratio difference in the hippocampus and

amygdala of MI and sham. At least two possibilities could explain these negative results. First, there could be a different time course for post MI apoptosis in these structures since we have previously reported the presence of apoptosis in the amygdala three days after MI¹⁰. Second, subdivisions of these limbic structures may need to be independently analyzed since the apoptotic signal in limbic subcompartments may be lost when averaged across an entire structure. This possibility may be less likely in the case of the hippocampus since, in the present study, MI rats displayed normal performance on the MWM.

A statistically significant inverse linear relationship was observed between bax/bcl-2 ratio in the prefrontal cortex and swimming time in the Forced Swim Test. In our opinion, the fact that signs of behavioural despair correlate with higher Bax/Bcl-2 ratios (increased apoptosis vulnerability) suggests a link between limbic cell death and behavioural markers of depression. Since only prefrontal cortex tissue was available for this correlation analysis, more research with other apoptotic structures should be done in order to verify whether the present observation is neuroanatomically specific or not.

The absence of significant differences in caspase-3 activity between MI and sham rats at the level of prefrontal cortex and hypothalamus despite

increased Bax/Bcl-2 ratios may be interpreted in multiple ways. First, this may indicate that this apoptotic process, i.e., stimulation of caspase-3, is indeed not active at this point in time and that a shorter or longer post-MI time-course could be involved (see above and Wann¹⁰). A second possibility is that caspase-3 is activated only in a subcompartment of the structures investigated in the present experiment. Thirdly, a dissociation between Bax/Bcl-2 activity and caspase-3 activity has been reported in the past¹² suggesting that this is not an exceptional process. Indeed, cell death can actually occur without activation of caspase-3, such as in cases of autophagy or paraptosis. Molecules that are involved in apoptosis such as Bcl-2, Bax and apoptosis-inducible factors are also involved in caspase-independent cell death processes^{30,31}. The possibility that caspase-3 independent apoptosis is present in our model deserves to be tested in the near future.

In conclusion, we propose that the behavioural impairment and limbic apoptotic events reported here following MI are compatible with a model of human post MI depression and that this model follows a particular time course.

VIII.7. Acknowledgements:

This work was supported by a grant from the Canadian Institutes of Health Research to GR and RG. GR is a scholar of the Fonds de Recherche en Santé du Québec. BP Wann is recipient of the J.A. DeSève Ph.D. scholarship. We thank Pierre Fortier and Caroline Bouchard for their skilful assistance and technical expertise.

VIII.8. Références

1. Carney R, Freedland K, Jaffe A. Insomnia and depression prior to myocardial infarction. *Psychosom Med.* 1990;52:603-609.
2. Frasure-Smith N, Lespérance F, M T. Depression following myocardial infarction: Impact on 6-months survival. *JAMA.* 1993;270:999-1005.
3. Honig A, Lousberg R, Wojchiechowski F, Cheriex E, Wellens H, Praag HV. Depression following a first heart infarct: Similarities with and difference from 'ordinary' depression. *Ned T Geneeskunde.* 1997;141:196-199.
4. Dantzer R, Aubert A, Bluthe RM, et al. Mechanisms of the effects of cytokines. In: Dantzer R, Wollman EE, Yirmiya R, eds. *Cytokines, stress and depression.* New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 1999. p. 83-106.
5. Maier S, Watkins L. Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev.* 1998;105:83-107.
6. Musselman D, Lawson D, Gumnick J, Manatunga A, Penna S, Goodkin R, et al. Paroxetine for the prevention of depression induced by high-dose interferon alfa. *N Engl J Med.* 2001;344:961-966.

7. Lucassen P, Muller M, Holsboer F, Bauer J, Holtrop A, Wouda J, Hoogendijk WG, Kloet ED, Swaab D. Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *Am J Pathol.* 2001;158:453-468.
8. Francis J, Zhang Z, Weiss M, Felder RB. Neural regulation of the proinflammatory cytokine response to acute myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;287:H791-H797.
9. Boucher M, Wann B, Kaloustian S, Massé R, Schampaert E, Cardinal R, Rousseau G. Sustained cardioprotection afforded by a2a adenosine receptor stimulation after 72 hours of myocardial reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2005;45:439-446.
10. Wann B, Boucher M, Kaloustian S, Nim S, Godbout R, Rousseau G. Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat. *Biol Psychiatry.* 2006;59:430-433.
11. Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula S, Ahmad M, Alnemri E, Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell.* 2005;91:479-489.

12. Jarskog L, Selinger E, Lieberman J, Gilmore J. Apoptotic proteins in the temporal cortex in schizophrenia: High bax/bcl-2 ratio without caspase-3 activation. *Am J Psychiatry*. 2004;161:109-115.
13. Eilat E, Mendlovic S, Doron A, Zakuth V, Spierer Z. Increased apoptosis in patients with major depression: A preliminary study. *J Immunol*. 1998;163:533-534.
14. Chinnaiyan AM, Orth K, O'Rourke K, et al. Molecular ordering of the cell death pathway: Bcl-2 and Bcl-xL function upstream of the Ced-3 like apoptotic proteases. *J. Biol. Chem*. 1996;271:4573-4576.
15. Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, et al. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neuroscience*. 2000;20:9104-9110.
16. Lucassen PJ, Fuchs E, Czéh B. Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol. Psychiatry*. 2004;55:789-796.
17. Nahon E, Israelson A, Abu-Hamad S, et al. Fluoxetine (Prozac) interaction with the mitochondrial voltage-dependent anion channel and protection against apoptotic cell death. *Febs Letter*. 2005;579:5105-5110.

18. Casciola-Rosen L, Nicholson D, Chong T, Rowan K, Thornberry N, Miller D, Rosen A. Apopain/ CPP32 cleaves proteins that are essential for cellular repair: a fundamental principle of apoptotic death. *J Exp Med.* 1996;183:1957-1964.
19. Cregan S, Dawson V, Slack R. Role of AIF in caspase-dependent and caspase-independent cell death. *Oncogene.* 2004;23:2785-2796.
20. Porsolt RD, Anton G, Deniel M, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol.* 1978;47:379-391.
21. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioural despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch Int Pharmacodyn Ther.* 1977;229:327-336.
22. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacol.* 1987;93:358-364.
23. Redei E, Ahmadiyeh N, Baum A, Sasso D, Slone J, Solberg L, Will C, Volenec A. Novel animal models of affective disorders. *Semin Clin Neuropsychiat.* 2001;6:43-67.

24. Morris RG. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Meth.* 1984;11:47-60.
25. Beaulieu I, Godbout R. Spatial learning on the Morris Water Maze Test after a short-term paradoxical sleep deprivation in the rat. *Brain Cogn.* 2000;43:27-31.
26. Paxinos G, Watson C (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates.* San Diego: Academic Press, 1986.
27. Grippo AJ, Santos CM, Johnson RF, Beltz TG, Martins JB, Felder RB, Johnson AK. Increased susceptibility to ventricular arrhythmias in a rodent model of experimental depression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:H619-H626.
28. Detke M, Rickels M, I IL. Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacol.* 1995;121:66-72.
29. Reneric J, Lucki I. Antidepressant behavioural effects by dual inhibition of monoamine reuptake in the rat forced swimming test. *Psychopharmacol.* 1998;136:190-197.

30. Bröker LE., Kruyt FAE., Giaccone G. Cell Death Independent of caspases: A Review. *Clin. Cancer Res.* 2005;11: 3155-3162
31. Pattingre S., Tassa A., Qu X., Garuti R., Liang XH., Mizushima N., Packer M., Schneider MD., Levine B. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy *Cell.* 2005;122: 927-939
32. Chiou SH, Ku HH, Tsai TH, Lin HL, Chen LH, Chien CS, Ho LL, Lee CH, Chang YL. Moclobemide upregulated Bcl-2 expression and induced neural stem cell differentiation into 5-HTergic neuron via extracellular-regulated kinase pathway. *Br J Pharmacol.* 2006 May 15; Epub ahead of print
33. Chiou SH, Chen SJ, Peng CH, Chang YL, Ku HH, Hsu WM, Ho LL, Lee CH. Fluoxetine up-regulates expression of cellular FLICE-inhibitory protein and inhibits LPS-induced apoptosis in hippocampus-derived neural stem cell. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;343:391-400.
34. Li R, El-Mallahk RS. A novel evidence of different mechanisms of lithium and valproate neuroprotective action on human SY5Y neuroblastoma cells: caspase-3 dependency. *Neurosci Lett.* 2000;294:147-150.

VIII.9. Figure legends

Figure 1: Results (Mean±SEM) of behavioural tests in MI and control sham rats, with and without chronic antidepressant treatment (see methods). (A) Forced Swim Test (sham n= 6, Sham + AD n= 3, MI n=7, MI + AD n=4). Note that the SEM bar in the MI+AD group (immobility) is too small to be displayed; (B) Sucrose Preference Test (sham n= 5, Sham + AD n=3, MI n=5, MI+AD n= 4). MI: myocardial infarcted rats. AD: Desipramine treated rats. * indicates a statistically significant difference between the untreated MI group and the untreated sham group.

Figure 2: Top: a picture of representative gel (Western blot analyses), acquired with a Kodak Image Station 440CF. Bottom: Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex three weeks after surgery (Mean±SEM). AD: Desipramine treated rats (sham n= 4, Sham + AD n=3, MI n=4, MI+AD n= 4). * indicates a statistically significant difference between the untreated MI group and the untreated sham group.

Figure 3: Linear regression between Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex and Swimming time in the Forced swim test indicates an inverse relation ($r^2=0,71$; $p < .0001$). (▼ Sham; ● Sham+AD; ▲ MI; ◆MI+AD).

Figure 1

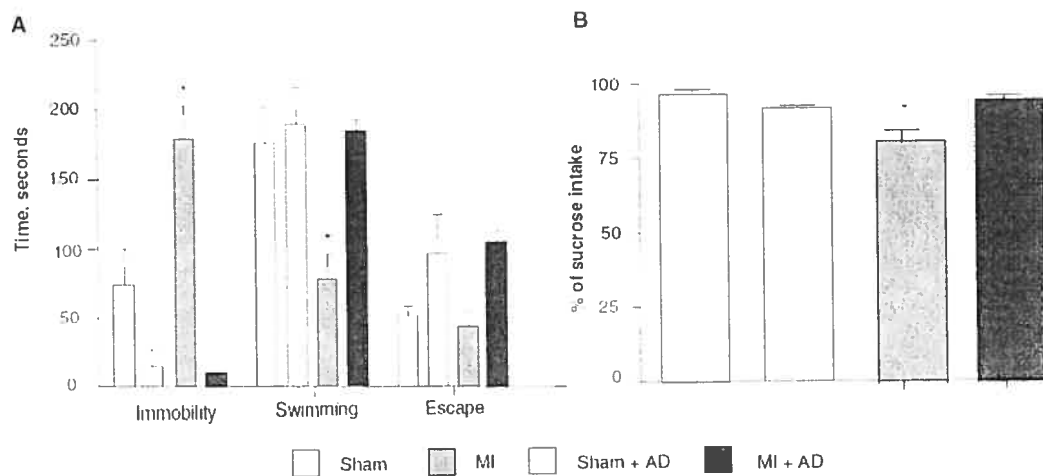


Figure 2

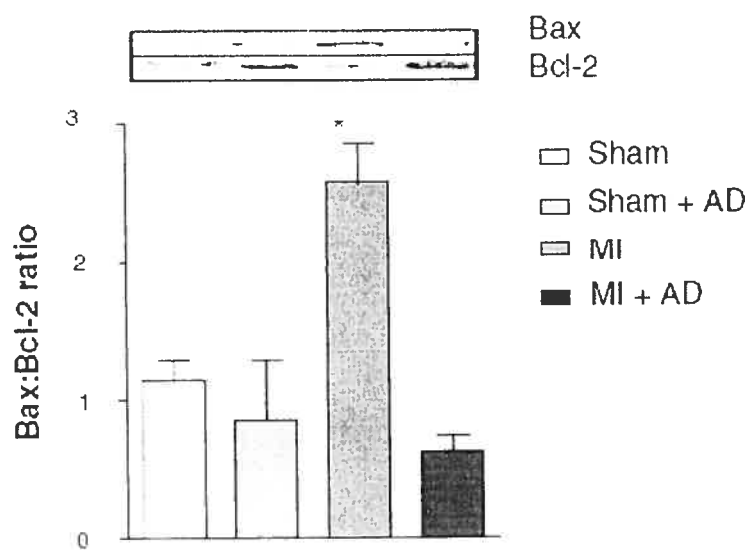
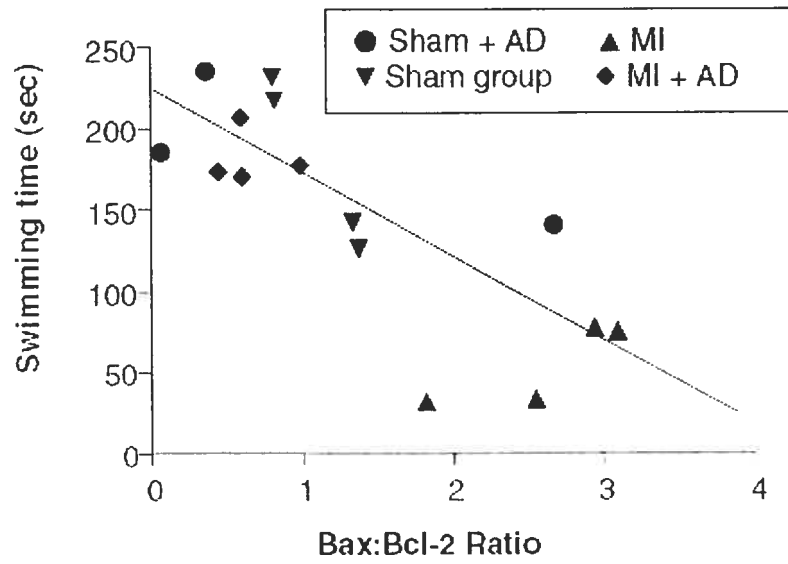


Figure 3



IX. Chapitre IX: Troisième article

IX.1. Contributions dans la réalisation du troisième article

J'ai pratiqué toutes les chirurgies réalisées dans ce troisième article de ma thèse : en effet, j'ai induit non seulement l'infarctus du myocarde chez les rats mais également coupé leurs cerveaux afin d'obtenir les différentes régions cérébrales étudiées.

J'ai également coordonné et/ou pratiqué toutes les manipulations comportementales et biochimiques réalisées dans cet article. De plus, j'ai coordonné et/ou réalisé l'analyse des résultats et rédigé le premier jet de l'article.

Behavioural signs of depression and apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: effects of sertraline.

Boubacar Pasto Wann¹, Thierno Madjou Bah¹, Sevan Kaloustian^{1,2}, Matthieu Boucher^{1,2}, Anne-Marie Dufort¹, Nathalie Le Marec^{1,3}, Roger Godbout^{1,3}, Guy Rousseau^{1,2}.

¹Centre de recherche, Hôpital Sacré-Cœur de Montréal, Montréal, Canada

²Department of Pharmacology, Université de Montréal, Montréal, Canada

³Department of Psychiatry, Université de Montréal, Montréal, Canada

Abbreviated title: Post MI depression and sertraline in the rat

Corresponding author:

Roger Godbout, Ph.D.

Centre de recherche

Hôpital du Sacré-Cœur

5400 Boul. Gouin ouest

Montréal (Québec) Canada H4J 1C5

Phone: (514) 338-2222, ext. 2460

Fax: (514) 338-2694

E-mail: [REDACTED]

This study was supported by a grant from the Canadian Institutes of Health Research to GR and RG (MOP 74472). Sertraline was generously provided by Pfizer Canada.

IX.2. ABSTRACT

Clinical studies indicate that major depression is diagnosed in 15-30% of patients following myocardial infarction and this may also be observed in the rat. Here we report on the effects of the antidepressant sertraline on behavioural and biochemical events that follow myocardial infarction in a rat model. The left-anterior descending artery was occluded for 40 minutes under anaesthesia in 80 adult male Sprague-Dawley rats. After surgery, subgroups of myocardial infarction and control sham rats were treated either with sertraline or saline. Rats were tested on measures of behavioural depression 14 days after surgery using the Forced swimming test and the Sucrose preference test. Apoptosis was estimated in subgroups of rats by measuring caspase-3 activity and TUNEL positive cells (3 days after surgery) in the following limbic structures: amygdala, hippocampus, hypothalamus, frontal and prefrontal cortices. Bax/Bcl-2 ratio was measured 14 days after surgery. Behavioural signs of depression (decreased sucrose intake and swim time) were found in myocardial infarct rats treated with saline but not in those treated with sertraline. Compared to sham rats, caspase-3 activity and TUNEL positive cells were significantly increased in most limbic structures of myocardial infarct rats. Decreased prefrontal Bax/Bcl-2 ratio in myocardial

infarct rats positively correlated with swim time. Apoptosis was not found in myocardial infarct rats treated with sertraline. These results establish the bases of a rat depression model following myocardial infarction and show for the first time that a selective serotonin reuptake inhibitor prevents both behavioural and biochemical markers in this model.

Keywords: Depression model, anhedonia, behavioural despair, apoptosis, serotonin uptake

IX.3. INTRODUCTION

The presence of an animal behavioural syndrome compatible with human depression two weeks following myocardial infarction (MI) has recently been described in the rat (Wann et al., 2007). In this study, MI rats remained more immobile in a Forced Swimming Test and drank significantly less sucrose water than sham rats, suggesting a state of behavioural despair and anhedonia. These behavioural signs were blocked by pre-treatment with the tricyclic antidepressant desipramine. Moreover, the behavioural syndrome was preceded by signs of vulnerability for apoptosis in the prefrontal cortex and hypothalamus of MI following MI, as shown by an increase in the ratio between pro-apoptotic proteins (Bax) and anti-apoptotic proteins (Bcl-2). However, in order to formally establish a post-MI depression model based on these observations, we decided to use a clinically-relevant pharmacological treatment as well as to document its impact on definitive signs of central apoptosis, possibly related to the physiopathology of depression.

Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are known to control symptoms of depression and have no potential adverse cardiovascular side effects like tricyclics do (Roose et al., 1998; Grippo et al., 2006). Thus, SSRIs have been used as a treatment of choice for post MI depression (Glassman et al., 2006; Strik et al., 2000). Recently, it has been shown *in vitro*

that the SSRI fluoxetine can inhibit apoptosis by blocking mitochondrial permeability transition pores (Nahon et al., 2005). It is therefore reasonable to reason that SSRIs might as well have the capacity to block post MI apoptosis *in vivo*.

The aim of the present study was thus to further investigate the rat phenotype of post MI behavioural syndrome by using: 1) a clinically-relevant antidepressant SSRI molecule, i.e., sertraline, in order to prevent post MI depression and, possibly, to prevent apoptosis in the limbic system; 2) biochemical measures that would establish that apoptosis actually occurs in the limbic system, i.e., caspase-3 activity which is considered to be a hallmark of apoptosis (Jarskog et al., 2004; Casciola-Rosen et al., 1996) and number of TUNEL positive cells, a marker of DNA fragmentation (Compton, 1992); 3) tissue from subcompartments of limbic structures in order to have a more precise picture of the networks involved, such as: basolateral and centromedial amygdala; anterior and posterior hypothalamus; CA1, CA3 and dentate gyrus (DG) of hippocampus, and frontal and prefrontal cortices.

IX.4. METHODS

IX.4.1. Experimental groups

Eighty adult male Sprague-Dawley rats were housed individually under constant temperature (22°C) and humidity (40-50%); food and water were available *ad libitum*. Light period was 12 hours long and started at 08:00 AM. In 40 rats, the left coronary artery was occluded for 40 minutes (MI rats); the remaining rats were sham operated and were submitted to the same protocol except that the coronary artery was not occluded. Half of the rats were treated with sertraline 10 mg/ml (Sigma, St. Louis, MO) at a daily morning dose of 10 mg/kg, i.p. while the other half received 0.9% saline in equal volume (1ml/kg, i.p.). The first dose was administered immediately following suturing the thoracic cage and the last dose was administered the morning prior to being sacrificed. Animal care and handling procedures were approved by the Local Animal Care Committee and followed the guidelines of the Canadian Council for Animal Care.

IX.4.1.1. Surgical procedure

Anaesthesia was induced with ketamine/xylazine (35-50 mg/kg and 5 mg/kg i.m. respectively), then maintained on isoflurane (1.5%) ventilation.

ECG and heart rate were monitored throughout. A left thoracotomy was performed at the fifth intercostal space; the left coronary artery was occluded for 40 min. using a silk thread. Ischemia was confirmed by alterations of the ST segment and myocardial surface cyanosis. After the thread was removed and the thorax sutured, each animal was returned to its home cage. All surgeries were performed between 08:00 AM and noon.

IX.4.2. Behavioural measures

Behavioural tests were conducted between the 14th and the 18th day postsurgery. All tests were conducted individually, in the morning. Tests used were selected for their validity with regards to behavioural depression syndrome.

IX.4.2.1. Forced Swimming Test

This test was originally described by Porsolt (Porsolt et al., 1978) and it is a measure of behavioural despair (West, 1990). Rats were placed in a clear plastic cylindrical pool (45 cm tall x 25 cm diameter) filled with 30 cm of water maintained at 22-25°C. Rats were tested for two consecutive days (15 min. on 14th day post surgery and 5 min. on 15th day post surgery). The following dependant variables (duration in minutes) were collected on day 15 post surgery: swimming, trying to escape, being immobile.

IX.4.2.2. Sucrose Preference Test

decreased sucrose intake is a measure of anhedonia (Redei et al., 2001; Willner et al., 1987). Rats had free access to two 250 ml bottles for five consecutive days (i.e., 14-18 days postsurgery): one containing tap water and the other containing a 1% sucrose solution. The position of the two bottles alternated each day. Volume intake was estimated by weighing bottles each morning, at light onset (Anesi et al., 1994).

IX.4.2.3. Infarct size

The heart was cannulated via the aorta and washed with saline, and the coronary artery was reoccluded at the same site to determine the area at risk by infusing 2 ml of Evans Blue (0.5%) into the aorta. The left ventricle was placed at -80°C for 5 min and then sliced into four or five 2 mm transverse sections. After 5 min of incubation in triphenyltetrazolium chloride (1.5%), infarct size was estimated as a percent of area at risk¹⁰.

IX.4.3. Tissue analyses

Caspase-3 activity measures and TUNEL assays were performed three days after surgery. The Bax-Bcl2 ratio was determined after behavioural tests were completed. Brain regions were identified according to the atlas of Paxinos and Watson (1986).

IX.4.3.1. Caspase-3 activity

Cytosolic proteins were extracted in lysis buffer (1% Triton X-100, 0.32 M sucrose, 10 mmol/mL Tris [pH 8.0], 5 mmol/mL ethylenediamine tetra-acetate, 2 mmol/mL DL-1,4-dithiothreitol (DLL), 1 mmol/mL phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF), 10 mg/mL Leupeptin, 10 mg/mL Pepstatin A, 10 g/mL Aprotinin). Enzymatic reactions were performed in a reaction buffer (50 mmol/mL Tris [pH 7.5], 5 mmol/mL MgCl₂, 1 mmol/mL ethylene glycol bis-2-aminoethyl ether-N,N',N',n'-tetra-acetic acid, 0.1% 3[(3-cholamidopropyl) dimethylammonio]-1-propanesulfonate (CHAPS), 1 mmol/mL DTT) with 25 µg of proteins and fluorogenic substrate, N-acetyl-asp-glu-val-asp-7-amido-4 methylcoumarin (Ac-DEVD-AMC) (40 µmol/mL). Reactions were incubated at 37°C for 3 hours and stopped with the addition of 0.4 M NaOH and 0.4 M glycine buffer. Fluorescence was quantified with a spectrofluorometer (Photon Technology International, Lawrenceville, New Jersey) at an excitation wavelength of 365 nm and an

emission wavelength of 465 nm. Linearity has been tested and observed up to 100 µg of protein (Wann et al., 2006).

IX.4.3.2. TUNEL assays

Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) staining was done in accordance with the protocol provided by the manufacturer (Oncogene, La Jolla, California). Cryostat sections were fixed in paraformaldehyde (4%), rinsed, and dried. Sections were permeabilized, and after washing the labeling reaction were performed for 1.5 hours at 37°C. The reaction was stopped and the sample was stained with 1g/mL propidium iodide (PI) for 10 min at room temperature. After two washes, sample was viewed using a Leica epi-illumination microscope. All sections were photographed at the same magnification (400 X) using a Nikon Coolpix 995 with a specific filter to determine TUNEL positive cells. A second picture of the section was taken with a filter to count the total number of cells (PI positive). ImageJ software (version 1.33u) was used to determine the number of positive cells and the total number of cells (Wann et al., 2006).

IX.4.3.3. Bax/Bcl-2 content

Tissue samples were lysed in a buffer containing protease and phosphatase inhibitors (leupeptin, microcystine, and benzamidine). After solubilization, equal amounts of proteins in each line were loaded on a 15%

sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) gels, and after migration, proteins were transferred onto a nitrocellulose membrane. Primary antibody directed against Bax or Bcl-2 (Santa Cruz Biotechnology Inc., Santa Cruz, CA) at a concentration of 1:1000 was followed by a secondary peroxidase-coupled antibody (anti-rabbit immunoglobulin-horseradish peroxidase [IgG-HRP] or anti-mouse IgG-HRP, from Santa Cruz Biotechnology, CA) at a concentration of 1:5000. A Renaissance chemiluminescence kit (Perkin Elmer, Mississauga, Canada) was used to visualize the bands and the quantitative analysis was conducted using a Kodak ImageStation. After quantification, membranes were placed in stripping buffer (0.1 M glycine, 1% SDS, pH 2.0, 1 hour at room temperature); the same procedures were repeated with the other antibody (Bax or Bcl-2) to obtain the Bax/Bcl-2 ratio¹⁰.

IX.4.4. Statistical Analysis

To compare MI and sham rats, with and without sertraline for the Forced Swimming and Sucrose Preference tests and caspase-3 activity, analyses of variance (ANOVA) for factorial designs (2X2) was used. Chi-square with partitioning the degree of freedom was performed for analysis of the TUNEL assay according to Siegel and Castellan (1988). Linear regression

coefficient between Bax/Bcl-2 ratio and swimming time in the Forced Swim Test was calculated with GraphPad Prism version 4b (GraphPad Software, San Diego CA). In all cases, alpha level was set at 0,05.

IX.5. RESULTS

IX.5.1. 2 weeks post-MI

IX.5.1.1. Myocardial infarct size and area at risk

Area at risk was similar between MI and MI-Sertraline groups and represent around 45% of the left ventricle. Myocardial infarction estimated by area at risk was similar between groups and represented $52,6 \pm 3,3\%$ of the area at risk for the MI group and $55,6 \pm 3,4\%$ of the area at risk for the MI-Sertraline group.

IX.5.1.2. Forced Swimming Test

Figure 1 illustrates the performance of MI and control sham rats, with and without chronic sertraline treatment, in the Forced Swimming Test. ANOVA indicated a significant interaction between MI and treatment for immobility [$F(1,28) = 5,12; p < 0,05$] and swimming [$F(1,28) = 5,059; p < 0,05$] but not for the escape [$F(1,28) = 0,58; p > 0,05$]. The performance of saline-MI rats was responsible for this interaction. Further analysis indicated that saline-treated MI rats remained more immobile [$F(1,28) = 10,59; p < 0,005$] and swam less [$F(1,28) = 4,25; p < 0,05$] than saline-treated sham rats. Figure 1

also shows that the performance of sertraline-treated MI rats was not different from that of sham rats.

-----INSERT FIGURE 1 ABOUT HERE-----

IX.5.1.3. Sucrose Preference Test

Figure 2 illustrates sucrose intake in MI and control sham rats, with and without chronic sertraline treatment. ANOVA indicated a significant interaction between MI and treatment during the Sucrose Preference Test [$F(1,20) = 4,85; p < 0,05$]. Saline-treated MI rats were responsible for this interaction as they drank significantly less sucrose than saline-treated sham rats [$F(1,20) = 7,99; p < 0,05$]. There were no significant differences between sertraline treated-MI rats and sertraline sham rats.

-----INSERT FIGURE 2 ABOUT HERE-----

IX.5.1.4. Bax/Bcl-2

Bax/Bcl-2 ratios were significantly different between MI and sham groups in the prefrontal cortex (MI+Saline: $4,2 \pm 1,2$; Sham+Saline: $1,0 \pm 0,1$;

MI+Sert: $0,9 \pm 0,6$; Sham+Sert: $0,9 \pm 0,5$). ANOVA also indicated a significant interaction between MI and treatment [$F(1,12) = 5,23$; $p < 0,05$]. Further analysis indicated that the change in Bax/Bcl-2 content for the untreated MI group was largely responsible for this interaction: compared the untreated sham rats, untreated MI rats show a higher Bax/Bcl-2 content [$F(1,12) = 10,58$; $p < 0,01$]. On the other hand treated MI rats did not differ significantly from the Sertraline-treated group with respect to the Bax/Bcl-2 content.

IX.5.1.5. Relation between Bax/Bcl-2 ratio and swimming time in the Forced swim test

Figure 3 shows that an increase in prefrontal cortex Bax/Bcl-2 ratio is significantly associated with shorter time swimming ($r^2 = 0,67$; $p < 0,0001$).

-----INSERT FIGURE 3 ABOUT HERE-----

IX.5.2. Tissue analyses (3 days post-MI)

IX.5.2.1. Caspase-3

Figure 4 illustrates levels of caspase-3 activity in MI and sham rats, with and without chronic sertraline treatment. ANOVA indicated a significant group x treatment interaction for basolateral amygdala [$F(1,16) = 5,21; p < 0,05$] (Figure 4A) and centromedial amygdala [$F(1,16) = 6,46; p < 0,05$] (Figure 4B). Further analyses showed that caspase-3 activity in basolateral of saline-treated MI rats was significantly increased compared to saline-treated sham rats [$F(1,16) = 15,25; p < 0,01$]. Further analyses of centromedial amygdala data also indicated a significant increased for caspase-3 activity in MI rats compared to the saline-treated sham rats [$F(1,16) = 10,55; p < 0,01$]. Caspase-3 activity was not different in sertraline-treated MI rats compared to sham rats.

----- INSERT FIGURE 4A to 4E ABOUT HERE -----

ANOVA on caspase-3 activity in the hippocampus showed a significant interaction between MI and treatment for CA1 [$F(1,15) = 4,63; p < 0,05$] (Figure 4C) and DG [$F(1,25) = 5,15; p < 0,05$] (Figure 4D). Further

analysis for CA1 indicated that caspases-3 activity was significantly increased in saline-treated rats [$F(1,15) = 10,37; p < 0,01$] compared to saline-treated sham rats. For DG, ANOVA indicated that caspases-3 activity was significantly increased in saline-treated MI rats [$F(1,25) = 12,75; p < 0,005$] compared to saline-treated sham rats. Caspase-3 activity was not different between sertraline treated MI rats and sham rats.

In the hypothalamus ANOVA revealed a significant group x treatment interaction for the anterior hypothalamus only [$F(1,13) = 5,17; p < 0,05$] (Figure 4E). Further analyses indicated that caspases-3 activity was significantly increased in saline-treated MI rats compared to sham rats [$F(1,13) = 9.70; p < 0,01$].

No significant differences were found in the frontal and prefrontal cortices, CA3 region of the hippocampus, and posterior hypothalamus. Moreover, Caspase-3 activity was not different in sertraline- treated MI rats compared to sham control groups.

IX.5.2.2.

TUNEL

Table 1 summarizes the results of TUNEL signal detection in the various limbic structures studied. Saline-treated IM rats showed significantly more TUNEL-positive cells than sham rats in the lateral ($p < 0,01$) and medial

($p < 0,05$) amygdala, in the CA1 ($p < 0,001$) and DG ($p < 0,001$) subcompartments of the hippocampus as well as in the anterior hypothalamus ($p < 0,001$). The number of positive TUNEL cells was not different in sertraline treated-MI rats and sertraline treated sham rats. DNA fragmentation was virtually absent in the CA3, posterior hypothalamus, frontal and prefrontal cortices of both groups.

-----INSERT TABLE 1 ABOUT HERE-----

IX.6. DISCUSSION

IX.6.1. Behavioural syndrome following MI in the rat

The behavioural data described in the present study is compatible with depressive states described in humans following MI (Willner et al., 1992; Willner, 1997; Grippo et al., 2006;). Moreover, the prophylactic effect of sertraline confirms that the behavioural syndrome following MI in the rat constitutes a potential experimental model of this condition. Indeed, compared to sham controls, MI rats showed behavioural signs of anhedonia (i.e., decreased sucrose intake) and despair (decreased swimming, increased immobility), similar to those observed in other antidepressant-sensitive models such as chronic mild stress (Grippo et al., 2006), social defeat or subordination (Rygula et al., 2005).

Other behavioral measures have been used to document rat models of depression. These include decreased sleep, decreased exploratory behavior, decreased social and sexual behaviour, impaired learning and memory (Krueger and Majde 1994; Yirmiya, 1996; Nestler et al., 2002a). Demonstration of deficits in these additional components of the rat depression behavioral repertoire, and the more if those measures are blocked by

antidepressant treatments, would add powerful heuristic value to the model proposed here.

IX.6.2. Biochemical findings: further evidence for actual apoptosis in the limbic system following myocardial infarct.

Confirming and extending our previous findings (Wann et al., 2007), the present study shows biochemical data that is also compatible with models of depression. We observed definitive signs of apoptosis in the limbic system following MI, with increased caspase-3 activity and/or increased DNA fragmentation in the amygdala, hippocampus, hypothalamus and prefrontal cortex. These structures are involved in the manifestation of symptoms in major depressive disorder (Nestler et al., 2002a; Nestler et al., 2002b).

The amygdala has been reported to play a significant role in the physiopathology of depression (Nestler et al., 2002a). More precisely, it is known to be implicated in the control of emotional memory, anhedonia, anxiety and reduction of motivation (Dowlatshahi et al., 1998; Schaaf et al., 2000; Fossati et al., 2004). In the present study we found apoptotic processes following MI in both parts of the amygdala: the basolateral area, which has been involved in the physiopathology of depression including various rat models (Wrynn et al., 2000; Wallace et al., 2004; Keilhoff et al., 2006), and

the centromedial area, which is known to mediate cardiovascular responses to stress (Saha, 2005).

The hippocampus was also found to display cellular death. This was documented in the dentate gyrus and CA1 subcompartments but not in the CA3. These results resolve the issue raised in our previous paper in which the bax/bcl2 ratio was not significantly altered following MI when the hippocampus was analyzed as a whole (Wann et al., 2006). The present results corroborate previous studies showing the presence of apoptosis in the dentate gyrus and CA1 but not in CA3 following, for example, glucocorticoids overexposure (Lucassen et al., 2001) or brain ischemia (Schmidt-Kastner and Freund, 1991), suggesting that CA3 neurons are relatively more resistant to hypoxia, ischemia or certain forms of neurotoxicity than CA1 or dentate gyrus neurons. Since we have previously shown (Wann et al., 2007) that MI rats perform normally in the Morris Water maze, a CA3-sensitive task (Morris, 1984), we can predict that behavioral impairment bound to appear following MI does not include elements specifically mediated by the CA3 region of the hippocampus, such as spatial memory (Muller, 1996). The hippocampus is thought to mediate cognitive aspects of depressive disorder such as memory impairments, suicidal ideas, guilt and hopelessness (Nestler et al., 2002a), these aspects should be further investigated in the animal model proposed here.

Our results showed the presence of apoptosis in the anterior hypothalamus and not in the posterior hypothalamus. These results would support disturbance observed in depressed patients who have difficulties falling and remaining asleep (Buysse et al., 1997; Antonijevic, 2006) since the anterior hypothalamus is involved in sleep induction and maintenance (Sallanon et al., 1989; Saper et al., 2005) and that lesions of the anterior hypothalamus results in insomnia (Szymusiak, 1995; Teresa et al., 2001).

No significant neuronal death was found in the prefrontal cortex following MI (Table 1). On one hand, this is consistent with the absence of impairment we have reported previously in the Morris water maze (Wann et al., 2007), since the prefrontal cortex is involved in the carrying out spatial orientation tasks (Wilson et al., 1993; Lacroix et al., 2002). On the other hand, we have found a significant correlation between Bax/Bcl2 ratio and performance in the Forced swim test (Figure 3): the higher the prefrontal cortex Bax/Bcl2 ratio is the lesser swimming time is. These results confirm those we have published recently (Wann et al., 2007).

The present results also show that apoptotic processes in the limbic system can be prevented by the SSRI antidepressant sertraline. This is consistent with previous results by others showing that SSRIs such as fluoxetine and tianeptine can suppress apoptosis in the hippocampus and temporal cortex (Lucassen et al., 2004; Nahon et al., 2005). The precise

mechanisms by which antidepressants prevent apoptosis are, however, not well known. Indeed, it has been shown that antidepressants can exert neurotrophic or neuroprotective effects via cell survival and growth factors such as CREB, BDNF and Bcl2 (Duman et al., 1999; Lucassen et al., 2004; Manji et al., 2000). Fluoxetine, an SSRI like sertraline, is able to block apoptotic processes in the limbic system (Lee et al., 2001). The mechanism by which this is achieved might include the fact that fluoxetine is able to penetrate the cellular membrane and bind to mitochondria (Mukherjee et al., 1998) where it inhibits the permeability of transition pore for metabolites, including the release of cytochrome C and other proteins (Nahon et al., 2005). Sertraline, a SSRI, could act in the same manner.

In conclusion the present study confirms that a depression syndrome occurs following MI in the rat, that it includes apoptosis in the limbic system as soon as three days after MI and that the antidepressant SSRI molecule sertraline acts therapeutically in both the behavioural and biochemical signs of this syndrome. Finally, the results reported here stress again the need to further investigate the relationships between limbic system dysfunction and disturbance of the cardiovascular system (TerHorst, 1999).

IX.7. Acknowledgements

This research was supported by a grant from the Canadian Institutes of Health Research to GR and RG (MOP-74472). BPW is recipient of the J.A. DeSève Ph.D. scholarship. We are grateful to Pierre Fortier and Caroline Bouchard for their skilful assistance and technical expertise.

IX.8. References.

- Anesi A, Franciotta D, Di-Paolo E, Zardini E, Melzi-d'Eril G, Zerbi F (1994) PHA-stimulated cellular immune function and T-lymphocyte subsets in major depression disorders. *Funct Neurol* 9: 17
- Antonijevic I (2006) Depressive disorders - Is it time to endorse different pathophysiologies? *Psychoneuroendocrinol* 31: 1-15
- Buyse D, Frank E, Lowe K, Cherry C, Kupfer D (1997) Electroencephalographic sleep correlates of episode and vulnerability to recurrence in depression. *Biol Psychiatry* 41: 406-418
- Compton M (1992) A biochemical hallmark of apoptosis: internucleosomal degradation of the genome. *Cancer Metastasis Rev* 11: 105-19
- Dowlatshahi D, MacQueen G, Wang J, Young L (1998) Increased temporal cortex CREB concentrations and antidepressant treatment in major depression. *Lancet* 352: 1754- 1755
- Duman R, Malberg J, Thome J (1999) Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 46: 1181-1191

- Fossati P, Radtchenko A, Boyer P (2004) Neuroplasticity: from MRI to depressive symptoms. *Eur Neuropsychopharmacol* 14: S503-S510
- Glassman AH, Bigger JT, Gaffney M, Shapiro PA, Swenson JR (2006) Onset of major depression associated with acute coronary syndromes: relationship of onset, major depressive disorder history, and episode severity to sertraline benefit. *Arch Gen Psychiatry* 63: 283-8
- Grippe A, Beltz T, Weiss R, Johnson A (2006) The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. *Biol Psychiatry* 59: 309-316
- Keilhoff G, Becker A, Grecksch G, Bernstein HG, Wolf G (2006) Cell proliferation is influenced by bulbectomy and normalized by imipramine treatment in a region-specific manner. *Neuropsychopharmacol* 31: 1165-1176
- Krueger J, Majde J (1994) Microbial products and cytokines in sleep and fever regulation. *Crit Rev Immunol* 14: 355-79
- Lacroix L, White I, Feldon J (2002) Effect of excitotoxic lesions of rat medial prefrontal cortex on spatial memory. *Behav Brain Res* 133: 69-81

- Lee H, Kim J, Yim S, Kim M, Kim S, Kim Y, Kim C, Chung J (2001) Fluoxetine enhances cell proliferation and prevents apoptosis in dentate gyrus of maternally separated rats. *Mol Psychiatry* 6: 725-728
- Lucassen P, Fuchs E, Czeh B (2004) Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol Psychiatry* 55: 789-796
- Lucassen P, Muller M, Holsboer F, Bauer J, Holtrop A, Wouda J, Hoogendijk WG, Kloet ED, Swaab D (2001) Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *Am J Pathol* 158: 453-468
- Manji H, Moore G, Chen G (2000) Clinical and preclinical evidence for the neurotrophic effects of mood stabilizers: implications for the pathophysiology and treatment of manic depressive illness. *Biol Psychiatry* 48: 740-54
- Morris RG (1984) Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods* 11: 47-60
- Mukherjee J, Das M, Yang Z, Lew R (1998) Evaluation of the binding of the radiolabeled antidepressant drug, 18F-fluoxetine in the rodent brain: an in vitro and in vivo study. *Nucl Med Biol* 25: 605-610

- Muller R (1996) A Quarter of a century of place cells. *Neuron* 17: 813-822
- Nahon E, Israelson A, Abu-Hamad S, Shoshan-Barmatz V (2005) Fluoxetine (Prozac) interaction with the mitochondrial voltage-dependent anion channel and protection against apoptotic cell death. *FEBS* 579: 5105-5110
- Nestler E, Barrot M, DiLeone R, Eisch A, Gold S, Monteggia L (2002a) Neurobiology of depression. *Neuron* 34: 13-25
- Nestler E, Gould E, Manji H, Bucan M, Duman RS, Gershenfeld H, Hen R, Koester S, Lederhendler I, Meaney M, Robbins T, Winsky L, Zalcman S (2002b) Preclinical models: status of basic research in depression. *Biol Psychiatry* 52: 503-528
- Porsolt R, Anton G, Blavet N, Jalfre M (1978) Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments 1. *Eur J Pharmacol* 47: 379-91
- Redei E, Ahmadiyeh N, Baum A, Sasso D, Slone J, Solberg L, Will C, Volenec A (2001) Novel animal models of affective disorders. *Semin. Clin Neuropsychiat* 6: 43-67
- Roose P, Glassman A, Attia E, et al (1998) Cardiovascular Effects of fluoxetine in depressed patients with heart disease. *Am J Psychiatry* 155: 660-665

- Saha S (2005) Role of the central nucleus of the amygdala in the control of blood pressure: descending pathways to medullary cardiovascular nuclei. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 32: 450-456
- Sallanon M, Sakai K, Denoyer M, Jouvet M (1989) Long lasting insomnia induced by preoptic neuron lesions and its transient reversal by muscimol injection into the posterior hypothalamus. *Neuroscience* 32: 669-683
- Saper CB, Scammell TE, Lu J (2005) Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature* 437:1257-1263
- Schaaf M, DeKloet E, Vreugdenhil E (2000) Corticosterone effects on BDNF expression in the hippocampus. Implications for memory formation. *Stress* 3: 201-208
- Schmidt-Kastner R, Freund TF (1991) Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. *Neuroscience* 40: 599-636
- Strik J, Honig A, Lousberg R, Lousberg A, Cheriex E, Tuynman-Qua H, Kuijpers P, Wellens H, Praag HV (2000) Efficacy and safety of fluoxetine in the treatment of patients with major depression after first myocardial infarction: findings from a double-blind, placebo-controlled trial. *Psychosom Med* 62: 783-789

- Szymusiak R (1995) Magnocellular nuclei of the basal forebrain: substrates of sleep and arousal regulation. *Sleep* 18: 478-500
- Teresa L, Steininger, gong H, McGinty D, Szymusiak R (2001) Subregional organization of preoptic area/anterior hypothalamic projections to arousal-related monoaminergic cell groups. *J Comp Neurol* 429: 638-653
- TerHorst G (1999) General Autonomic Control of the Heart, Angina, and Pathogenic Mechanisms of Post-Myocardial Infarction depression. *Eur J Morphol* 37: 257-266
- Wallace TL, Stellitano KE, Neve RL, Duman RS (2004) Effects of cyclic adenosine monophosphate response element binding protein overexpression in the basolateral amygdala on behavioral models of depression and anxiety. *Biol Psychiatry* 56: 151-160
- Wann B, Bah T, Boucher M, Sevan K, Lemarec N, Rousseau G, Godbout R (2007) Vulnerability for apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: a possible model for human post-infarct major depression. *J Psychiatry Neurosci* 32: 11-6
- Wann B, Boucher M, Kaloustian S, Nim S, Godbout R, Rousseau G (2006) Apoptosis detected in the amygdala following myocardial infarction in the rat. *Biol Psychiatry* 59: 430-433

- West A (1990) Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 14: 863-77
- Willner P (1997) Validity, reliability, and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation *Psychopharmacology (Berl)* 134: 319-329
- Willner P, Muscat R, Papp M (1992) Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev* 16: 525-534
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R (1987) Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant *Psychopharmacology* 93: 358- 364
- Wilson F, Scalaide S, Goldman-Rakic P (1993) Dissociation of object and spatial processing domains in primate prefrontal cortex. *Science* 25: 1955-1958
- Wrynn AS, Mac Sweeney CP, Franconi F, Lemaire L, Pouliquen D, Herlidou S, Leonard BE, Gandon J, de Certaines JD (2000) An in-vivo magnetic resonance imaging study of the olfactory bulbectomized rat model of depression. *Brain Res* 879: 193-199.

Yirmiya R (1996) Endotoxin produces a depressive-like episode in rats.

Brain Res 711: 163-74

IX.9. Figure legends

FIGURE 1. Swim time (mean and standard error of the mean) of MI and control sham rats in the Forced Swim Test, with and without chronic antidepressant treatment (sertraline). N = 8 per group.

Immo: Immobility; MI: myocardial infarcted rats; Sham: Sham-operated rats; Sal: saline-treated rats; Sert: sertraline-treated rats.

* indicates a statistically significant difference between the untreated MI group and the untreated sham group.

FIGURE 2. Sucrose preference (mean and standard error of the mean) in the Sucrose Preference Test of MI and control sham rats, with and without chronic antidepressant treatment (Sertraline). N = 6 per group.

MI: myocardial infarcted rats; Sham: Sham-operated rats; Sal: saline-treated rats; Sert: sertraline-treated rats. * indicates a statistically significant difference between the untreated MI group and the untreated sham group.

FIGURE 3. Linear regression between Bax/Bcl-2 ratio in the prefrontal cortex and swim time in the Forced Swim Test, indicating an

inverse relationship. ($r^2=0,67$; $p < 0,0001$). ● Sham; ◆ Sham + Sert;
 ▲ MI; ■ MI + Sert. N = 4 per group.

MI: myocardial infarcted rats; Sham: Sham-operated rats; Sal: saline-treated rats; Sert: sertraline-treated rats.

FIGURE 4. Levels of caspase-3 activity (mean and standard error of the mean) with and without chronic antidepressant sertraline treatment. MI: myocardial infarcted rats; Sham: Sham-operated rats; Sal: saline-treated rats; Sert: sertraline-treated rats. * indicates a statistically significant difference between the untreated MI group and the untreated sham group.

A. In the Basolateral Amygdala. N = 5 per group.

B. In the Centromedial Amygdala. N = 5 per group.

C. In the CA1 region of the hippocampus. N= 5 sham+Sal, 5 sham+Sert, 4 MI+Sal, 5 MI+Ser.

D. In the Dentate Gyrus of the hippocampus. N= 8 sham+Sal, 7 sham+Sert, 5 MI+Sal, 9 MI+Sert.

E. In the anterior hypothalamus. N= 4 sham+Sal, 3 sham+Sert, 4 MI+Sal, 6 MI+Sert.

TABLE 1

Proportion (% of total) of TUNEL-positive cells showing DNA fragmentation in MI and control sham rats, with and without chronic sertraline treatment. MI: myocardial infarcted rats; Sham: Sham-operated rats; Sal: saline-treated rats; Sert: sertraline-treated rats. * indicates a statistically significant difference between the untreated MI group and the untreated sham group. Four rats were used in each group.

Regions	Sham	Sham+Sert	MI+Sal	MI+Sert
Anterior Hypothalamus	0,16	0,08	1,02*	0,17
Posterior Hypothalamus	0,30	0,24	0,53	0,38
Basolateral Amygdala	0,15	0,14	1,26*	0,00
Centromedial Amygdala	0,13	0,24	0,92*	0,14
CA1	0,00	0,13	0,95*	0,18
CA3	0,00	0,00	0,11	0,13
Dentate Gyrus	0,16	0,23	0,57*	0,27
Frontal Cortex	0,27	0,27	0,33	0,44
Prefrontal Cortex	0,70	1,31	0,48	0,42

Figure 1.

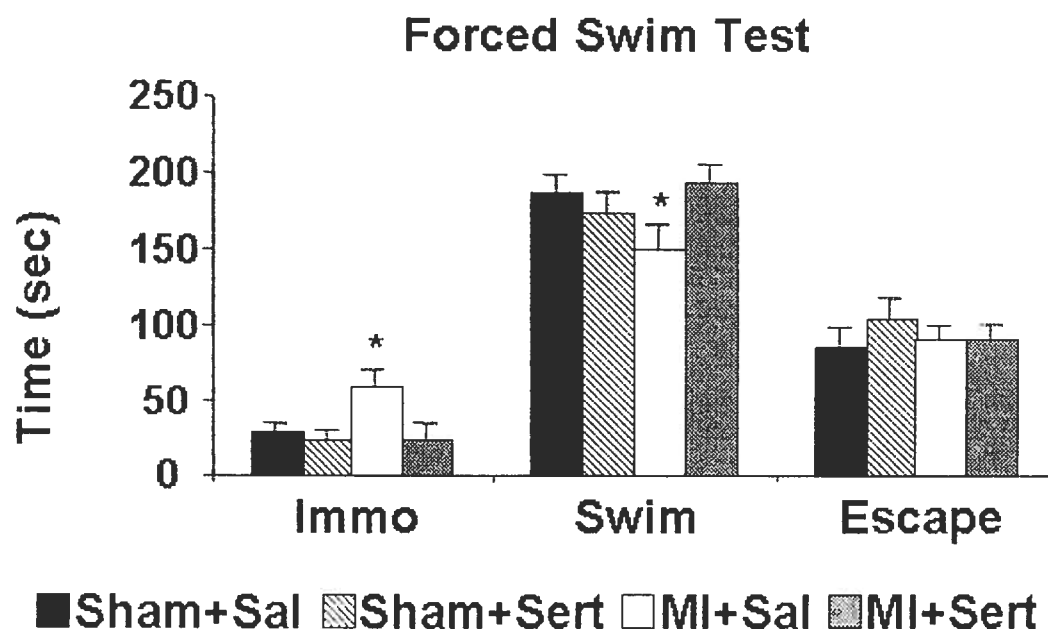


Figure 2.

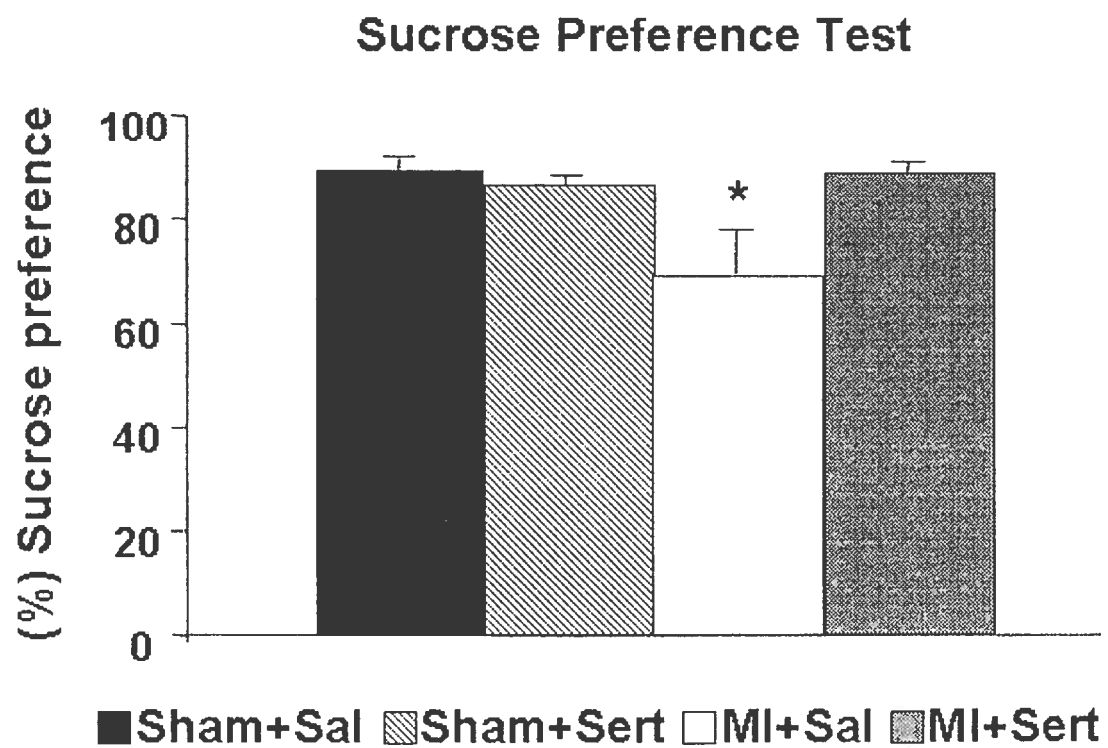


Figure 3.

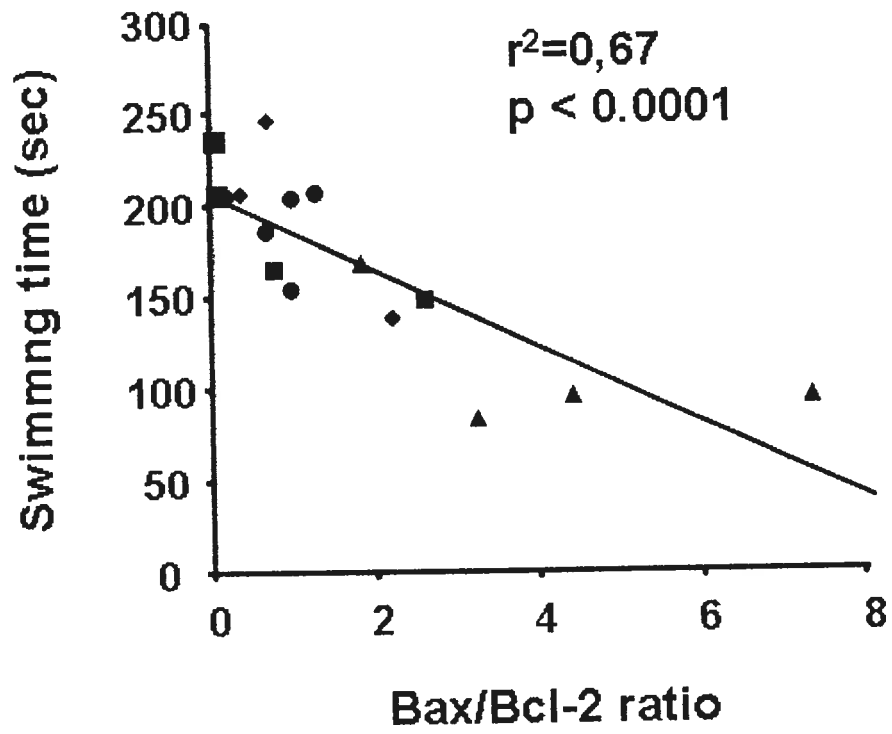


Figure 4a.

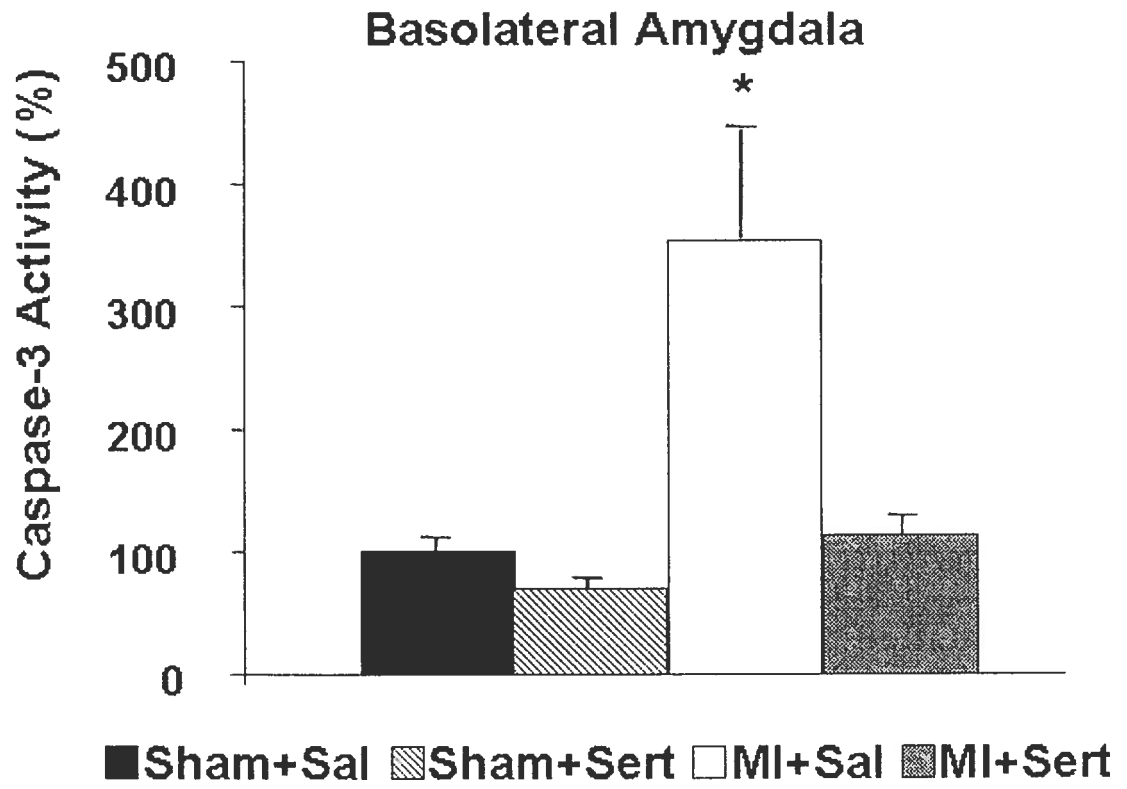


Figure 4b.

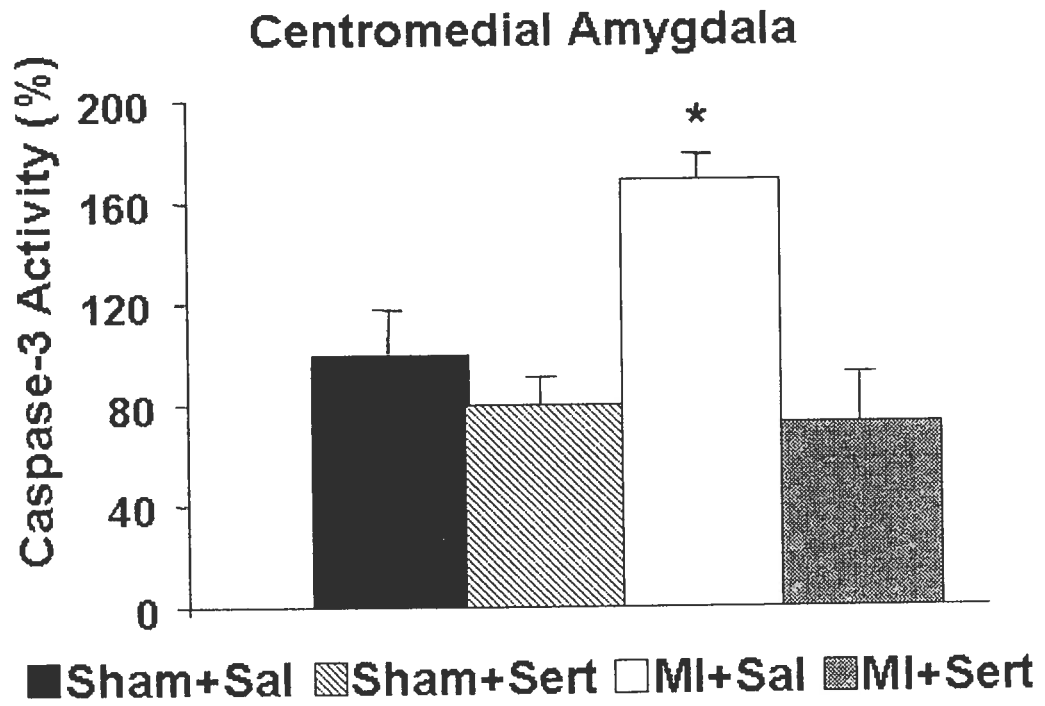


Figure 4c.

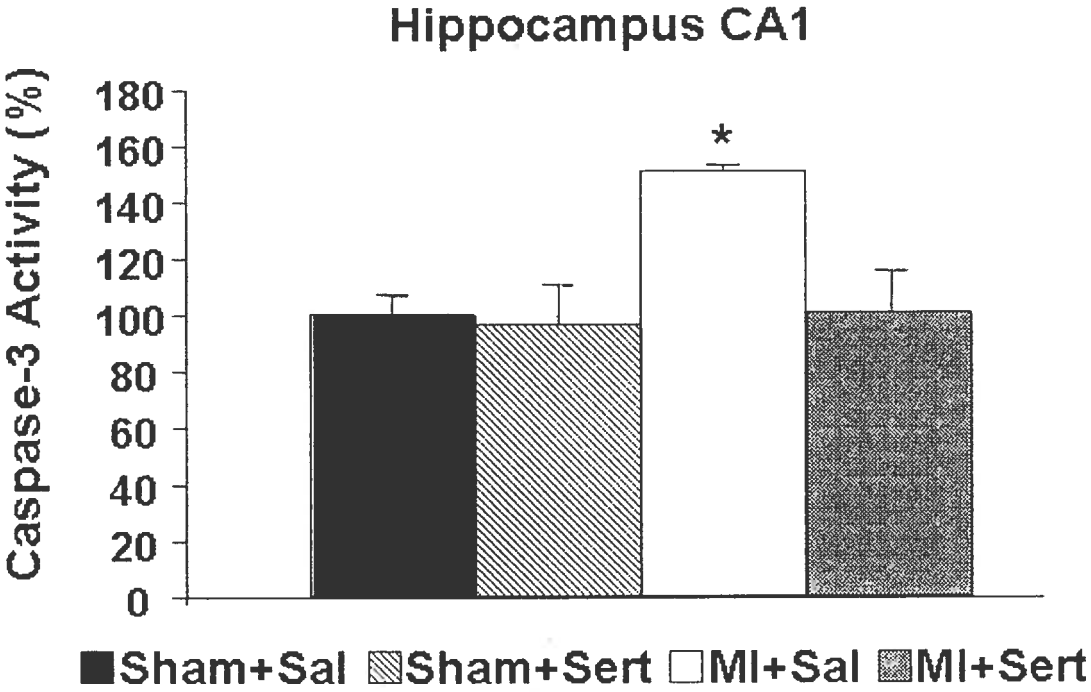


Figure 4d.

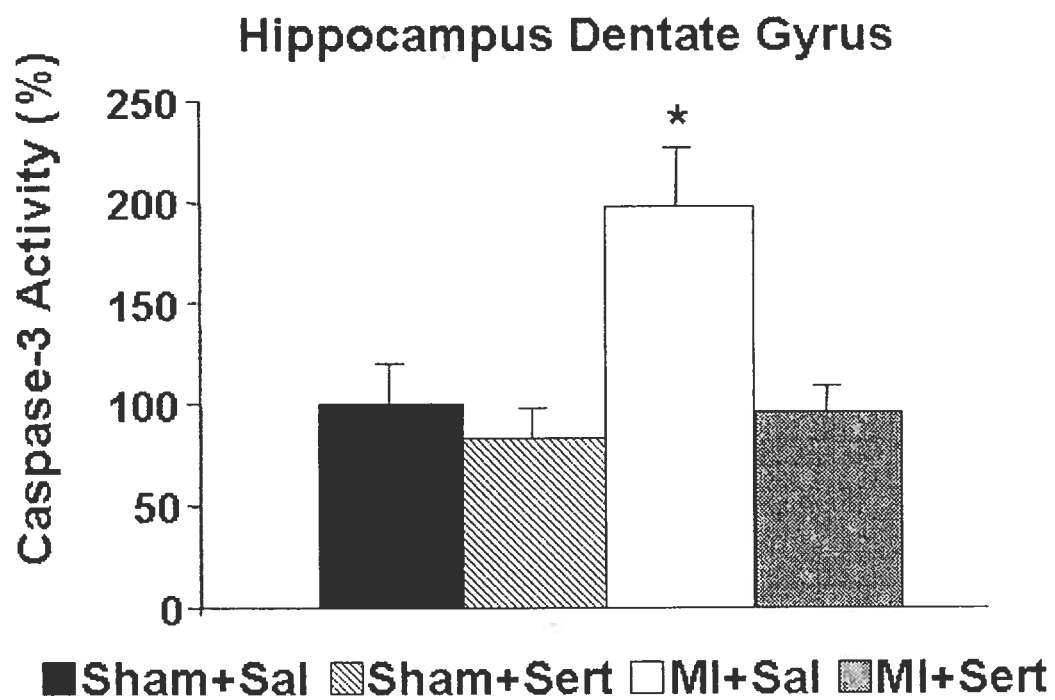
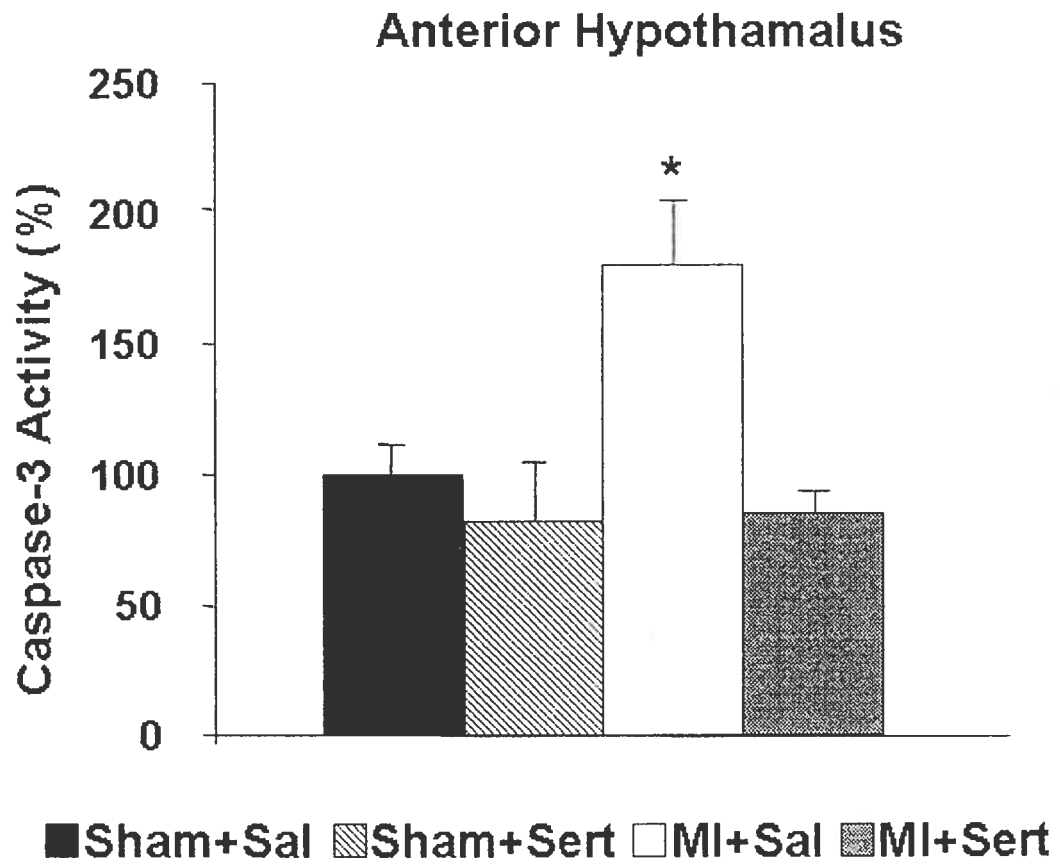


Figure 4e.



X. Chapitre X : Discussion générale

X.1. Comportementale

Pour vérifier l'existence d'un syndrome comportemental compatible avec l'élaboration d'un modèle de la dépression post infarctus du myocarde, nous avons d'abord évalué des rats IM à deux tests comportementaux appropriés.

Nous avons d'une part utilisé le test de nage forcé, utilisé dans d'autres modèles de la dépression comme un marqueur de détresse comportementale (Porsolt et al 1978; Weiss and Kilts 1998; Willner 1984). Nos résultats ont montré que les rats expérimentaux s'immobilisaient significativement plus longtemps que les rats témoins, adoptant ainsi une stratégie comportementale passive résultant d'une déficience du système motivationnel caractéristique du trouble dépressif (Rygula et al 2005). Certains auteurs, comme West (1990), ont plutôt proposé que le comportement d'immobilité serait plutôt une stratégie adaptative utilisée en situation de danger pour conserver l'énergie. Le fait que deux antidépresseurs aient renversé ce comportement dans la présente étude favorise et valide toutefois le fait que l'immobilité en situation de nage forcée soit inadaptée. De plus les résultats obtenus avec un autre test comportemental, la préférence au sucrose, appuie notre position. En effet, nous avons examiné un autre comportement compatible avec les modèles

animaux de la dépression, l'anhédonie. Pour ce faire nous avons utilisé le test de préférence au sucrose (Wann et al 2007; Willner et al 1987) et les rats expérimentaux (IM) ont bu significativement moins d'eau sucrée que les rats témoins. Cette diminution significative de la préférence au sucrose indique une désensibilisation du mécanisme cérébral de la récompense (Rygula et al 2005). En effet, les changements dans la fonction du récepteur D2 dans le noyau accumbens sont responsables de l'état anhédonique induit par un stress chronique modéré (Papp et al 1994).

L'administration d'antidépresseurs pendant la période suivant immédiatement la fin de la chirurgie et l'administration des tests comportementaux a permis de prévenir les déficits observés chez les rats IM ne recevant qu'un traitement inerte, non actif (véhicule: solution saline). Ainsi nous avons montré que l'administration de desipramine, un antidépresseur à structure tricyclique, prévenait le développement de l'anhédonie, ce qui va dans le même sens que les résultats observés par Grippo (2004, 2006) avec la fluoxétine, un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonie (ISRS) dans un autre modèle de la dépression (stress chronique). Nous avons également montré ici que la desipramine a prévenu les déficits au test de nage forcée. À ce test, les rats IM traités avec la desipramine ont montré une réduction significative du temps d'immobilisation au niveau des rats témoins, ce qui laisse supposer une réactivation du système motivationnel, et ils ont ont

développé une stratégie plus active, nageant autant que les rats témoins. De plus, comme les rats témoins, les rats IM traités avec la desipramine ont tenté plus longtemps de s'échapper que les rats IM non traités. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Kawashima et al. (1989) qui ont également utilisé des antidépresseurs tricycliques dans le test de nage forcée. Selon Kawashima et al (1989), les antidépresseurs augmentent la mobilité dans le test de la nage forcée au moins en partie en augmentant la vigueur et l'agressivité avec lesquelles les animaux répondent au stress suite à leur présence dans l'eau, incluant l'échappement ou l'escalade sur les parois de la piscine ainsi que des immersions dans la piscine.

Cette thèse a également montré que les rats qui ont subi l'IM n'avaient aucune perturbation comportementale dans un test de mémoire spatiale (piscine de Morris). Ces résultats sont compatibles d'une part avec notre observation sur l'absence d'apoptose dans le sous-champ CA3 de l'hippocampe, lequel est de façon générale impliqué dans l'orientation spatiale (Handelmann and Olton 1981; Lassalle et al 2000) et plus particulièrement dans le test de Morris (Morris et al 1982). Le test de Morris est un test de la fonction de l'hippocampe (Morris 1981). Dans d'autres modèles animaux de la dépression, telle que la bulbectomie olfactive des rats, il a été rapporté des perturbations comportementales durant ce test. Ces perturbations seraient dues à une dysfonction de l'hippocampe (Altemus and

Almli 1997; Song and Leonard 2005). Les protocoles expérimentaux dans ces études diffèrent complètement de celui que l'on utilise. En effet, ces protocoles procèdent soit à une ablation de l'hippocampe ou à une destruction des bulbes olfactifs des rats. Dans cette thèse le modèle développé est comme les autres modèles de la dépression. Il touche juste certaines dimensions de la physiopathologie de la dépression notamment la détresse comportementale et l'anhédonie. De plus, les résultats normaux observés à ce test confirment que les rats IM ne souffrent pas d'un déficit moteur non spécifique ou de fatigue.

X.2. Biochimique

Nos premiers résultats ont montré une vulnérabilité à l'apoptose après un IM chez le rat. Ces résultats ont montré un ratio Bax/Bcl2 significativement élevé dans le cortex préfrontal et dans l'hypothalamus des rats du groupe expérimental comparé à celui témoin. Ensuite, nous avons montré de façon plus claire la présence d'apoptose dans plusieurs du système limbique impliquées dans la dépression.

En effet, les résultats de notre étude ont montré la présence d'apoptose dans le système limbique après l'induction de l'IM suivi de trois jours de reperfusion. Plusieurs structures du système limbique sont impliquées dans la manifestation des divers symptômes du trouble dépressif majeur et leur

contrôle par les antidépresseurs. On peut citer parmi les structures les plus importantes l'amygdale, l'hippocampe, l'hypothalamus et le cortex préfrontal.

Nos résultats ont montré la présence d'apoptose dans l'amygdale basolatérale et centromédiane suite à un IM. Ces résultats fournissent également, au moins en partie, une base cellulaire qui nous permet de mieux comprendre l'altération fonctionnelle et probablement structurelle observée dans cette région du système limbique associée avec la dépression (Dowlatshahi et al 1998; Fossati et al. 2004). En effet, l'amygdale serait impliquée dans la mémoire émotionnelle, dans l'anhédonie, dans l'anxiété et la réduction de la motivation qui prédominent chez les patients déprimés (Nestler et al. 2002). L'amygdale basolatérale joue un rôle important dans la régulation des réponses liées à l'anxiété (LeDoux 1992). Les lésions du groupe nucléaire basolatéral inhibent l'acquisition et l'expression du conditionnement de la peur (Maren et al 1996). Le noyau central du complexe amygdaloïde centromédian envoie des projections sur le noyau du faisceau solitaire (NFS) qui est le site médullaire de la première synapse pour les fibres afférentes provenant des barorécepteurs, des chémorécepteurs et du cœur. De plus, il projette sur le bulbe ventrolatéral rostral qui est également la région médullaire qui renferme les neurones qui assurent le maintien de la pression sanguine et de l'activité nerveuse sympathique. À travers ces projections

l'amygdale joue un rôle fondamental dans la régulation du système cardiovasculaire en réponse aux stimuli stressants (Saha 2005). La dysfonction du groupe nucléaire centromédian perturberait les fonctions du système cardiovasculaire (TerHorst 1999). Nos résultats illustrent donc bien cette voie par laquelle passe l'interaction entre l'amygdale et l'activité cardiovasculaire. D'autres recherches devraient porter sur la pression sanguine et autres mesures du système nerveux sympathique pour compléter le modèle proposé dans cette thèse.

En ce qui concerne l'hippocampe, nous avons d'abord rapporté une absence d'apoptose dans cette structure et nous avons évoqué deux possibilités (Wann et al., 2006, 2007): soit qu'il s'agissait d'un problème de décours temporel (l'apoptose arriverait avant ou après trois jours post IM), soit qu'il s'agissait d'une susceptibilité différente selon les sous-ensembles cellulaires qui constituent l'hippocampe. Nos résultats présentés dans le troisième manuscrit montrent qu'au moins la deuxième explication est plausible, sans pour autant nier la première: nous avons montré la présence de mort cellulaire par apoptose dans le gyrus dentelé et la partie CA1 de l'hippocampe et non dans sa partie CA3. De plus, ces résultats corroborent les études antérieures qui ont démontré la présence d'un processus apoptotique, bien que limité, dans le gyrus dentelé et le CA1 de l'hippocampe et non dans le CA3 de rats soumis à un stress psychosocial, un modèle de dépression chez

l'animal qui évoque une surexposition aux glucocorticoïdes (Lucassen et al. 2001a). L'absence d'apoptose dans le CA3 s'expliquerait, entre autre, par le fait que les neurones de cette subdivision de l'hippocampe sont plus résistants durant l'hypoxie ou l'ischémie que les neurones du CA1 (Plamondon et al 2006; Ruan et al 2006a; Ruan et al 2006b; Schmidt-Kastner and Freund 1991; Yi-Wen et al 2006). En effet, après une ischémie du cerveau antérieur moyen l'excitabilité des cellules pyramidales du CA1 se retrouve réduite alors que cette réduction n'est pas observée dans le CA3 (Howard et al. 1998). Le fait que les cellules du CA3 restent intactes expliquerait, au moins en partie, l'absence de perturbation comportementale que nous avons observée dans la piscine de Morris après un IM (Wann et al 2006a). Dans les sous-champs CA1 et CA3 de l'hippocampe sont localisés essentiellement des neurones pyramidaux impliqués dans le traitement de l'information liée à l'orientation spatiale. L'activité de ces neurones est presque similaire (Muller, 1996). Le sous-champ CA3 tient une position stratégique dans l'hippocampe parce qu'il reçoit l'information sensorielle provenant de l'environnement externe et interne via principalement des fibres moussues qui sont les axones des cellules granulaires du gyrus dentelé et le chemin perforant qui est l'input majeur de l'hippocampe issu du cortex entorhinal (Amaral et Witter, 1989; Dolorfo et Amaral, 1998). Le sous-champ CA3 serait impliqué dans l'acquisition initiale de l'information spatiale ou le

traitement de cette information pendant une tâche nécessitant le fonctionnement de la mémoire (Handelmann and Olton 1981; Lassalle et al 2000). Le sous-champ CA1, en tant que partie intégrante de l'hippocampe serait impliqué dans l'apprentissage et la consolidation des mémoires explicites de court terme à long terme (Campbell and MacQueen 2004).

Nos résultats ont également montré la présence d'apoptose dans le gyrus dentelé après IM. Ces résultats soutiennent ceux obtenus dans des études antérieures suite à une surexposition des animaux aux glucocorticoïdes (Lucassen et al. 2001a; Muller et al. 2001). En effet, l'un des traits particuliers du gyrus dentelé est la présence de neurogenèse chez l'adulte (Heine et al 2004; Lucassen et al 2004a; Pham et al 2003), i.e., la capacité de remplacer en son sein les cellules neuronales qui meurent. Cependant, l'exposition à un stress aigu et chronique peut réduire ou supprimer la fréquence de prolifération et de survie des nouveaux neurones granulaires générés chez l'adulte (Heine et al 2004; Pham et al 2003). Le stress aigu augmenterait l'apoptose tandis que celui chronique la diminuerait (Heine et al 2004). Les résultats de Heine et al. (2004) ont démontré que, bien que le stress chronique supprime la prolifération et l'apoptose, trois semaines de recouvrement normalisaient toutes ces altérations observées. Donc on peut penser que l'apoptose dans le gyrus dentelé ne serait que transitoire? Donc pas impliqué dans les troubles comportementaux décrits dans cette thèse?.

Nous avons également montré la présence d'apoptose au sein de l'hypothalamus antérieur (HA) et non dans sa partie postérieure. Le noyau paraventriculaire (PVN) de l'hypothalamus antérieur innerve les groupes cellulaires préganglionnaires parasympathique et sympathique du tronc cérébral et de la moelle épinière (Luiten et al 1987). À travers cette voie et également d'autres, l'hypothalamus joue un rôle important dans la régulation du système cardiovasculaire (Luiten et al 1987). On pourrait donc penser que les rats déprimés suite à un IM pourraient être encore plus sensibles à un infarctus additionnel que les rats témoins en montrant par exemple un taux de mortalité plus élevé, possibilité qui reste à être investiguée.

Les résultats obtenus dans l'hypothalamus antérieur pourraient également soutenir d'autres perturbations observées chez les patients déprimés mais non étudiées dans cette thèse. Les neurones GABAergiques de l'hypothalamus antérieur sont par exemple impliqués dans l'induction et le maintien du sommeil en inhibant les neurones histaminergiques de l'hypothalamus postérieur responsables de l'éveil (Sallanon et al 1989; Saper et al 2005) et la lésion des neurones de l'hypothalamus antérieur provoque une insomnie persistante (Szymusiak 1995; Teresa et al 2001). Or les patients déprimés ont un mauvais sommeil. En effet les patients avec dépression majeure rapportent des perturbations de leur sommeil incluant des difficultés d'endormissement et de maintien du sommeil (Antonijevic 2006; Buysse et al

1997; Kupfer et al 1990). L'examen objectif du sommeil en laboratoire montre une réduction de la durée du sommeil lent, un appauvrissement de l'activité EEG dans les bandes lentes Delta et un raccourcissement du délai d'apparition du sommeil paradoxal (Antonijevic 2006; Buysse et al 1997; Kupfer et al 1990)

L'hypothalamus serait également impliqué dans les symptômes neurovégétatifs de la dépression comme la perturbation de l'appétit. La perte d'intérêt sexuel est un autre comportement des patients déprimés qui est sous le contrôle de l'hypothalamus malheureusement le comportement sexuel n'a pas été évalué dans cette thèse (Nestler et 2002).

En ce qui concerne le cortex préfrontal, nous avons trouvé une relation entre le ratio Bax/Bcl2 et le déficit dans le test de nage forcée, ce qui suggère un lien entre les marqueurs comportementaux de la dépression et la mort cellulaire dans le système limbique. Malheureusement nous n'avons pas pu confirmer fermement la présence d'un processus apoptotique dans le cortex préfrontal car nous n'y avons pas observé une augmentation significative de l'activité de la caspase-3 ou de la présence des cellules TUNEL positives comparé aux rats témoins. D'une part cette constatation est en accord avec l'absence de perturbation comportementale dans le test de Morris, lequel est sensible aux altérations du cortex préfrontal (Lacroix et al 2002; Wilson et al 1993). D'autre part, l'absence d'apoptose pourrait s'expliquer de la même

façon que nous l'avons fait dans Wann et al. (2007): a) il se pourrait qu'une sous-région spécifique du cortex préfrontal, non analysée sélectivement dans cette thèse, puisse présenter de l'apoptose, ce qui reste à vérifier; b) il se pourrait que l'apoptose se produise avant ou après le troisième jour suivant l'IM.

X.3. Intégration

La reperfusion après un IM libère dans la circulation sanguine, entre autres, des cytokines pro-inflammatoires telles qu'IL-1 β . Cette molécule est capable de stimuler les neurones paraventriculaires de l'hypothalamus pour induire la sécrétion du CRF. Ce qui provoque une hyperactivation de l'axe HPA (Fleshner et al 1995) et la libération d'un excès de corticostéroïdes (ou cortisol) (Lucassen et al 2001). De plus, une surexposition des neurones, par exemple de l'hippocampe, provoque une apoptose (Lucassen et al 2001).

D'après nos résultats, l'apoptose observée dans le système limbique suite à un IM serait associée à la synthèse de cytokines pro-inflammatoires par le myocarde ischémique. Pour vérifier l'implication de ces cytokines nous en avons bloqué la synthèse par une administration quotidienne de pentoxyfilline. Nos résultats confirment ceux obtenus antérieurement par Francis et al. (2004) qui ont montré qu'un traitement chronique avec la pentoxyfilline peut prévenir l'augmentation de cytokine notamment le TNF- α

après IM. Une question demeure: comment les cytokines circulantes, qui sont de grosses molécules, font-elles pour atteindre le système limbique, de l'autre côté de la barrière hémato-encéphalique? Nous avons testé avec succès la possibilité d'un changement dans la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (Wann et al 2004). En effet nous avons injecté intrapéritonéalement du Bleu de Evans 2% (4 ml/kg) quatre heures avant d'induire un IM chez un groupe de rat et nous avons trouvé des dépôts de colorant dans le septum, l'hippocampe mais pas dans l'hypothalamus, ni dans l'amygdale, ni dans le striatum. Ces résultats suggèrent que l'IM modifie la perméabilité membranaire de sorte que le passage des cytokines pourrait être facilité, du moins dans certaines régions du système limbique, mais une telle conclusion nécessite d'autres expériences (en cours présentement).

Enfin, nos résultats montrent que les processus apoptotiques observés dans le système limbique ont été bloqués par le traitement des rats avec la sertraline. Ces résultats sont en harmonie avec des évidences antérieures qui ont montré la capacité des antidépresseurs tels que la fluoxétine et la tianeptine à supprimer le processus apoptotique, induit par un stress aigu et chronique, dans certaines structures cérébrales comme l'hippocampe et le cortex temporal (Lucassen et al 2004a; Nahon et al 2005). Le mécanisme d'action par lequel les antidépresseurs bloquent l'apoptose n'est pas encore bien connu. On sait que les antidépresseurs peuvent moduler les facteurs

impliqués dans la survie et la croissance cellulaires tels la protéine de liaison CREB et le facteur neurotrophique provenant du cerveau (BDNF (Duman et al 1999; Lucassen et al 2004a; Manji et al 2000b). La sertraline, comme tous les inhibiteurs de la recapture sélective de la sérotonine (ISRS), augmente la concentration synaptique de ce neurotransmetteur (Fuller et al 1991). De plus , il a été démontré que les ISRS sont également capable d'augmenter la prolifération cellulaire et prévenir l'apoptose, par exemple dans le gyrus dentelé (Lee et al 2001) et stimuler la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) (Brandes and al 1992). Il a été montré par exemple que le prototype des ISRS, la fluoxétine, pénètre la membrane cellulaire, se distribue dans plusieurs compartiments intracellulaires et se lie principalement à la mitochondrie (Mukherjee et al 1998). La fluoxétine augmente également la sensibilité au voltage du canal anionique de la mitochondrie dépendant du voltage. Ce canal est une protéine qui fonctionne en transportant les métabolites (tels que les anions, cations, adénine nucléotides) à travers la mitochondrie (Gincel et al 2001; Rostovtseva and Colombini 1997). Cette protéine joue également un rôle important dans le processus apoptotique en participant à la libération du cytochrome C. La fluoxétine peut donc inhiber l'ouverture de la perméabilité des pores mitochondriales au passage des métabolites (Nahon et al 2005). Nous pensons

que c'est ainsi que tous les ISRS, incluant la sertraline utilisée dans cette thèse, pourraient bloquer le processus apoptotique.

X.4. Conclusion

Dans cette thèse nous avons reproduit les signes comportementaux de la dépression, incluant l'anhédonie et la détresse comportementale, afin de jeter les bases d'un modèle de la dépression post infarctus du myocarde. Nous avons ensuite évalué l'efficacité de deux types d'antidépresseurs, la desipramine (un tricyclique) et la sertraline (un ISRS), qui tous les deux ont prévenu les symptômes dépressifs attendus chez les rats IM. De plus, nous avons examiné l'impact de l'IM sur le système limbique, lequel joue un rôle fondamental dans le comportement émotionnel, motivationnel, la mémoire et l'intégration des réponses homéostatiques (Afifi and Bergman 1998). Nous avons trouvé la présence d'apoptose dans la plupart des structures du système limbique que nous avons étudiées. Ce processus apoptotique a été bloqué d'une part par l'administration quotidienne soit de pentoxyphylline (un inhibiteur de synthèse des cytokines) soit de sertraline (un antidépresseur ISRS). Nous avons enfin établi une relation entre le ratio Bax/Bcl2 dans le cortex préfrontal, un indice de vulnérabilité à l'apoptose, et la détresse comportementale. Ces résultats laissent ouvertes d'innombrables pistes

d'investigation à explorer. À notre avis, la stratégie d'investigation pourrait suivre deux voies qui compléteraient ce qui n'a pu être accompli dans cette thèse, soit: 1) Étudier le décours temporel des événements post ischémiques en recherchant la présence de comportements dépressifs trois jours après l'IM et les signes d'apoptose deux semaines après l'IM et reprendre ces mesures un mois après l'IM afin de vérifier si les effets sont durables; 2) Entreprendre l'études d'autres marqueurs comportementaux de la dépression comme le sommeil, l'EEG et les rythmes biologiques.; 3) Utiliser des mesures biochimiques qui permettraient de vérifier si l'apoptose est spécifique aux cellules neuronales ou si elle est également présente dans les cellules gliales.

X.5. Bibliographie

- Adams J, Cory S (1998): The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 281:1322-1326.
- Afifi A, Bergman R (1998): Diencephalon. In : *Functional Neuroanatomy*.235-261.
- Ahern DK, Gorkin L, Anderson JL, Tierney C, Hallstrom A, Ewart C, et al (1990): Biobehavioral variables and mortality or cardiac arrest in the Cardiac Arrhythmia Pilot Study (CAPS). *Am J Cardiol* 66:59-62.
- Akselrod S, Gordon D, Madwed JB, Snidman NC, Shannon DC, Cohen RJ (1985): Hemodynamic regulation: investigation by spectral analysis. *Am J Physiol* 249:H867-H875.
- Akselrod S, Gordon D, Ubel F, Shannon D, Barger A, Cohen R (1981): Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* 213:220-222.
- Alheid G, deOlmos J, Beltramino C (1995): Amygdala and extended amygdala. In: Paxinos G (ed). *The Rat Nervous System*. Academic Press: New York:495-578.
- Allen G, Cechetto D (1992): Functional and anatomical organization of cardiovascular pressor and depressor sites in the lateral hypothalamic area: I. Descending projections. *J Comp Neurol* 315:313- 332.

Alnemri E, Livingston D, Nicholson D, Salvesen G, Thornberry N, Wong W, et al

(1996): Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell* 87:171.

Altemus K, Almli C (1997): Neonatal Hippocampal Damage in Rats: Long-Term Spatial Memory Deficits and Associations With Magnitude of Hippocampal Damage.

HIPPOCAMPUS 7:403-415.

Alvarez P, Squire L (1994): Memory consolidation and the medial temporal lobe: a simple network model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91:7041-7045.

Ambrosio G, Chiariello M (1991): Myocardial reperfusion injury: Mechanism and management. *Am J Med* 3C-86-83C-88S.

Anderson T, Gerhard M, Meredith I, Charbonneau F, Delagrangé D, Creager M, et al (1995): Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis *Am J Cardiol*

75:71B-74B.

Anderson T, Meredith I, Charbonneau F, Yeung A, Frei B, Selwyn A, et al (1996): Endothelium-dependent coronary vasomotion relates to the susceptibility of LDL to oxidation in humans *Circulation* 93:1647-1650.

Anesi A, Franciotta D, Di-Paolo E, Zardini E, Melzi-d'Eril G, Zerbi F (1994): PHA-stimulated cellular immune function and T-lymphocyte subsets in major depression disorders. *Funct Neurol* 9:17.

- Anguelova M, Benkelfat C, G GT (2003a): A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter. *II Suicidal behavior Mol Psychiatry* 8:646-653.
- Anguelova M, Benkelfat C, Turecki G (2003b): A systematic review of association studies investigating genes coding for serotonin receptors and the serotonin transporter *I Affective disorders Mol Psychiatry* 8:574-591.
- Antonijevic I (2006): Depressive disorders—is it time to endorse different pathophysiologies? *Psychoneuroendocrinology* 31:1-15.
- Araujo BM, Lapchak PA, Collier B, Quirion R (1989): Localization of interleukin-2 immunoreactivity and interleukin-2 receptors in the rat brain: interaction with the cholinergic system. *Brain Res* 498:257-266.
- Araya-Gomez V, Gonzalez-Hermozillo J, Itturalde P (1994): Identification of patients at risk of malignant arrhythmia in the 1st year after myocardial infarction (In Spanish). *Arch Inst Cardiol Mex* 64:145-159.
- Aroma A, Raitasalo R, Reunanen A, Impivaara O, Heliovaara M, Knekt P, et al (1994): Depression and cardiovascular diseases. *Acta Psychiatr Scand* 377:77-82.

- Bacon S, Smith A (1993): A monosynaptic pathway from an identified vasomotor centre in the medial prefrontal cortex to an autonomic area in the thoracic spinal cord *Neuroscience* 54 719-728.
- Baldwin A, Sadeghian K, Kelley A (2002): Appetitive instrumental learning requires coincident activation of NMDA and dopamine D1 receptors within the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* 22:1063-1071.
- Balogh S, Fitzpatrick DF, Hendricks SE, Paige SR (1993): Increases in heart rate variability with successful treatment in patients with major depressive disorder. *Psychopharmacol Bull* 29:201-206.
- Ban E, Marquette C, Sarrieau A, Fitzpatrick F, Fillion G, Milon G, et al (1993): Regulation of interleukin-1 receptor expression in mouse brain and pituitary by lipopolysaccharide and glucocorticoids. *Neuroendocrinology* 58:581-587.
- Banks W, Kastin A (1996): Passage of peptides across the blood-brain barrier: pathophysiological perspectives. *Life Sci* 59:1923-1943.
- Banks W, Ortiz L, Plotkin S, Kastin A (1991): Human interleukin (IL) 1 alpha, murine IL-1 alpha and murine IL-1 beta are transported from blood to brain in the mouse by a shared saturable mechanism. *J Pharmacol Exp Ther* 259 988-996.

- Banks WA (1999): Physiology and pathology of the blood- brain barrier: implications for microbial pathogenesis, drug delivery and neurodegenerative disorders. *J NeuroVirol* 5:538-555.
- Bauer M, Gauer G, Luz C, Silveira R, Nardi N, vonMuhlen C (1995): Evaluation of immune parameters in depressed patients. *Life Sci* 57:665.
- Beer M, Kennett G, Curzon G (1990): A single dose of 8-OH-DPAT reduces raphe binding of [3H]8-OH-DPAT and increases the effect of raphe stimulation on 5-HT metabolism. *Eur J Pharmacol* 178:179-187.
- Beller G, Conroy J, Smith T (1976): Ischemia-Induced Alterations in Myocardial (Na⁺⁺K⁺)-ATPase and Cardiac Glycoside Binding. *J Clin Invest* 57:341-350.
- Bellinger F, Madamba S, Siggins G (1993): Interleukin 1 beta inhibits synaptic strength and long-term potentiation in the rat CA1 hippocampus. *Brain Res* 628:227-234.
- Best B (1992): *The Amygdala. In : Chapter 9 - The Amygdala and the Emotions*
- Bleier R, Albrecht R (1982): Macrophages of hypothalamic third ventricle. I. Functional characterization of supraependymal cells in situ. *J Neuropathol Exp Neurol* 41:315-329.
- Blier P (2003): The pharmacology of putative early-onset antidepressant strategies *Eur Neuropsychopharmacol* 13:57-66.

Blier P, deMontigny C (1994): Current advances in the treatment of depression.

Trends Pharmacol Sci 15:220-226.

Bolli R (1990): Mechanism of myocardial stunning *Circulation* 82:723-738.

Bonaccorso S, Marino V, Biondi M, Grimaldi F, Ippoliti F, Maes M (2002): Depression induced by treatment with interferon-alpha in patients affected by hepatitis C virus.

J Affect Disord 72:237-241.

Boucher M, Pesant S, Falcao S, de Montigny C, Schampaert E, Cardinal R, et al (2004): Post-ischemic cardioprotection by A_{2A} adenosine receptors: dependent of phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J Cardiovasc Pharmacol* 43:416-422.

Boucher M, Wann BP, Kaloustian S, Masse R, Schampaert E, Cardinal R, et al (2005): Sustained Cardioprotection Afforded by A_{2A} Adenosine Receptor Stimulation After 72 Hours of Myocardial Reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 45:439-446.

Brandes L, et al (1992): Stimulation of malignant growth in rodents by antidepressant drugs at clinically relevant doses. *Cancer Res* 52:3796-3800.

Bredesen D (1995): Neural apoptosis. *Ann Neurol* 38:839-851.

Bruhn I, Paredes A, Adsett CA, Wolf S (1974): Psychological predictors of sudden death in myocardial infarction. *J Psychosom Res* 18:187-191.

- Burmeister M (1999): Basic concepts in the study of diseases with complex genetics. *Biol Psychiatry* 45:522-532.
- Burns S, Wyss J (1985): The involvement of the anterior cingulate cortex in blood pressure control *Brain Res* 340 71- 77.
- Buysse D, Frank E, Lowe K, Cherry C, Kupfer D (1997): Electroencephalographic sleep correlates of episode and vulnerability to recurrence in depression. *Biol Psychiatry* 41:406-418.
- Cairncross K, Forster C, Wren A (1979): Olfactory projection systems, drugs and behavior. *Psychoneuroendocrinol* 4: 253-272.
- Caldwell C, Irwin M, Lohr J (1991): Reduced natural killer cell cytotoxicity in depression but not schizophrenia. *Biol Psychiatry* 30:1131.
- Campbell S, MacQueen G (2004): The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *J Psychiatry Neurosci* 29:417-426.
- Capuron L, Gummnick J, Musselman D, Lawson D, Reemsnyder A, Nemeroff C, et al (2002): Neurobehavioral effects of interferon- α in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology* 26:643-652.

- Carney R, Blumenthal J, Stein P, Watkins L, Catellier D, Berkman L, et al (2001):
Depression, heart rate variability, and acute myocardial infarction. *104:2024-2028.*
- Carney R, Freedland K, Jaffe A (1990): Insomnia and depression prior to myocardial
infarction. *Psychosom Med 52:603-609.*
- Carney R, Saunders R, Freedland K, al e (1995a): Depression is associated with reduced
heart rate variability in patients with coronary heart disease. *Am J Cardiology*
76:562-564.
- Carney R, Saunders R, Freedland K, Stein P, Rich M, Jaffe A (1995b): Association of
depression with reduced heart rate variability in coronary artery disease. *Am J*
Cardio 76:562-564.
- Carney RM, Rich MW, te Velde A, Saini J, Clark, K, Jaffe AS (1987): Major depressive
disorder in coronary artery disease *Am J Cardiol 60:1273-1275.*
- Carson D, Ribereiro J (1993): Apoptosis and disease. *Lancet 341:1251.*
- Casciola-Rosen L, Nicholson D, Chong T, Rowan K, Thornberry N, Miller D, et al (1996):
Apopain/CPP32 cleaves proteins that are essential for cellular repair: a fundamental
principle of apoptotic death. *J Exp Med 183:1957-1964.*
- Cassidy E, O'Keane V (2000): Depression and interferon-alpha therapy. *Br J Psychiatry*
176:494.

Cechetto D, Chen S (1992): Hypothalamic and cortical sympathetic responses relay in the medulla of the rat. *Am J Physiol* 263:R544- R552.

Cechetto D, Saper C (1990): *Role of the cerebral cortex in autonomic functions*, in D. Loewy, K.M. Spyer (Eds.), *Central Regulation of Autonomic Functions*, Oxford Univ. Press, New York

Chien K, Reeves J, Buja L, Bonte F, Parkey R, Willerson J (1981): Phospholipid alterations in canine ischemic myocardium. Temporal and topographical correlations with Tc-99m-PPi accumulation and an in vitro sarcolemmal Ca²⁺ permeability defect. *Circ Res* 48:711-719.

Chou J, Matsuo H, Duan H, G GW (1998): Solution structure of the RAIDD CARD and model for CARD/CARD interaction in caspase-2 and caspase-9 recruitment. *Cell* 94:171-180.

Ciriello J, Hochstenbach S, Roder S (1994): *Central projections of baroreceptor and chemoreceptor afferent fibers in the rat*, in *Nucleus of the Solitary Tract*.

Clerck Fd (1991): Effects of serotonin on platelets and blood vessels. *J Cardiovasc Pharmacol* 17:SI-S5.

- Clinton S, Libby P (1992): Cytokines and growth factors in atherogenesis *Arch Pathol Lab Med* 116:1292-1300.
- Collins J, Riccardi R, al PTe (1985): Plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetics of recombinant interferon alpha A in monkeys : comparison of intravenous, intramuscular, and intraventricular delivery. *Cancer Drug Deliv* 2:247-253.
- Connor T, Leonard B (1998): Depression, stress and immunological activation: the role of cytokines in depressive disorders. *Life Sci* 62:583-606.
- Conrad C, Galea L, Kuroda Y, McEwen B (1996): Chronic stress impairs rat spatial memory on the Y maze, and this effect is blocked by tianeptine pretreatment. *Behav Neurosci* 110:1321-1334.
- Coogan A, O'Neill L, O'Connor J (1999): The P38 mitogen-activated protein kinase inhibitor SB203580 antagonizes the inhibitory effects of interleukin-1beta on long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vitro. *Neuroscience* 93:57-69.
- Crippa G, Kuboyama R, Peres-Polon V, Correâ F (1999): Cardiovascular response to the injection of acetylcholine into the anterior cingulate cortex region of the medial prefrontal cortex of unanesthetized rats *Cereb Cortex* 9 362- 365.

- Cripps T, Malik M, Farrell T, Camm A (1991): Prognostic value of reduced heart rate variability after myocardial infarction: clinical evaluation of a new analysis method. *Br Heart J* 65:14-19.
- Czachura J, Rasmussen K (2000): Effects of acute and chronic administration of fluoxetine on the activity of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the rat *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 362:266-275.
- Dalack G, Roose S (1990): Perspectives on the relationship between cardiovascular disease and affective disorder. *J Clin Psychiatry* 51:4-11
- Dantzer R (1994): How do cytokines say hello to the brain? Neural versus humoral mediation. *Eur Cytokine Netw* 5:271-273.
- Dantzer R, Bluthé R-M, Castanon N, Chauvet N, Capuron L, Goodall G, et al (2001): Cytokine effects on behavior. *Psychoneuroimmunology*:703-727.
- Dantzer R, Wollman E, Yirmiya R (1999): Cytokines, Stress, and depression *New York, Kluwer Academic/Plenum Publishers, .*
- Davies M, Thomas A, Knapman P, Hangartner J (1986): Intramyocardial platelet aggregation in patients with unstable angina suffering sudden ischemic cardiac death. *Circulation* 73: 418- 427.

Davies S, Ranjadayalan K, Wickens D, Dormandy T, Timmis A (1990): Lipid peroxidation associated with successful thrombolysis *Lancet* 335:741-743.

Davis M, Walker D, Lee Y (1997): Roles of the amygdala and bed nucleus of the stria terminalis in fear and anxiety measured with the acoustic startle reflex: possible relevance to PTSD *Ann NY Acad Sci* 821 305-333.

Davis M, Whalen P (2001): The amygdala: vigilance and emotion. *Molecular Psychiatry* 6:13-34.

Deak T, Bellamy C, D'Agostino L, Rosanoff M, McElderry N, Bordner K (2005): Behavioral responses during the forced swim test are not affected by anti-inflammatory agents or acute illness induced by lipopolysaccharide. *Behavioural Brain Research* 160:125-134.

DeCierck F (1991): Effects of serotonin on platelets and blood vessels. *J Cardiovasc Pharmacol* 17:S1-S5.

Delatour B, Gisquet-Verrier P (2000): Functional role of rat prelimbic-infralimbic cortices in spatial memory: evidence for their involvement in attention and behavioural flexibility *Behav Brain Res* 109 113-128.

- Deten A, Zimmer H-G (2002): Heart function and cytokine expression is similar in mice and rats after myocardial infarction but differences occur in TNF α expression. *Pflugers Arch - Eur J Physiol* 445:289-296.
- Diaz M, Frei B, Vita J, Keaney J (1997): Antioxidants and atherosclerotic heart disease *N Engl J Med* 337:408-416.
- Dowlatshahi D, MacQueen G, Wang J, Young L (1998): Increased temporal cortex CREB concentrations and antidepressant treatment in major depression. *Lancet* 352:1754-1755.
- Downward J (1999): How Bad phosphorylation is good for survival. *Nat Cell Biol* 1:E33±E35.
- Drevets W (2000): Neuroimaging studies of mood disorders. *Biol Psychiatry* 48:813-829.
- Drevets W (2001): Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders *Curr Opin Neurobiol* 11:240-249.
- Drevets W, Price J, Simpson J, Todd R, Reich T, Vannier M, et al (1997): Subgenual prefrontal cortex abnormalities in mood disorders. *Nature* 386: 824-827.
- Drevets W, Videen T, Price J, Preskorn S, Carmichael S, Raichle M (1992): A functional anatomical study of unipolar depression. *J Neurosci* 12:3628-3641.

Duman R (2002): Pathophysiology of depression: the concept of synaptic plasticity.

Eur Psychiatry 17:306-310.

Duman R, Heninger G, Nestler E (1997): A molecular and cellular theory of depression.

Arch Gen Psychiatry

54:597-606.

Duman R, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C (2000): Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry* 48:732-739.

Duman R, Malberg J, Thome J (1999): Neural plasticity to stress and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry* 46:1181-1191.

Dunn A (1992): The role of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in the neurochemical and neuroendocrine responses to endotoxin. *Brain Res Bull* 29:807-812.

Dunn A, Swiergiel A, deBeaurepaire R (2005): Cytokines as mediators of depression: What can we learn from animal studies? *Neuroscience and biobehavioral reviews* 29 891-909.

Dyer A, Persky V, Stamler J, Paul O, Shekelle R, Berkson D, et al (1980): Heart rate as a prognostic factor for coronary heart disease and mortality: findings in three Chicago epidemiologic studies *Am J Epidemiol* 112

Eede F, Claes S (2004): Mechanisms of depression: role of the HPA axis. *Drug*

Discovery Today: Disease Mechanisms 1.

Eeftinga F, Rensinga B, Wigmana J, Pannekoeka W, Liua W, Cramera M, et al (2004):

Role of apoptosis in reperfusion injury. *Cardiovascular Research* 61:414- 426.

Elhwuegi A (2004): Central monoamines and their role in major depression. *Prog*

Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 28:435-451.

Ericsson A, Arias C, Sawchenko P (1997): Evidence for an intramedullary prostaglandin-

dependent mechanism in the activation of stress-related neuroendocrine circuitry by

intravenous interleukin-1. *J Neurosci* 17:7166-7179.

Fadeel B (2003): Programmed cell clearance. *Cell Mol Life Sci* 60:2575-2585.

Fava M, Kendler K (2000): Major depressive disorder. *Neu-Sci* 20:59-61 ron 28, 335-341.

Ferrari R, C C, A C, al e (1991a): Oxygen free radicals and myocardial damage: Protective

role of thiol-containing agents. *Am J Med* 91:95S-105S.

Ferrari R, C.Ceconi, Curello S, al e (1985): Oxygen-mediated myocardial damage during

ischemia and reperfusion: Role of the cellular defenses against oxygen toxicity. *J*

Mol Cell Cardiol 17:937-945.

Ferrari R, Ceconi C, Curello A, al e (1991b): Oxygen free radicals and myocardial damage:

Protective role of thiol-containing agents. *Am J Med* 91:95S-105S.

- Flaherty J (1991): Myocardial injury mediated by oxygen free radicals. *Am J Med* 91:79S-85S.
- Fleshner M, Goehler L, Hermann J, Relton J, Maier S, Watkins L (1995): Interleukin-1 beta induced corticosterone elevation and hypothalamic NE depletion is vagally mediated. *Brain Res Bull* 37:605-610.
- Fleshner M, Goehler L, Schwartz B, McGorry M, Martin D, Maier S, et al (1998): Thermogenic and corticosterone responses to intravenous cytokines (IL-1beta and TNF-alpha) are attenuated by subdiaphragmatic vagotomy. *J Neuroimmunol* 86:134-141.
- Folts J, Crowell EJ, Rowe G (1976): Platelet aggregation in partially obstructed vessels and its elimination with aspirin. *Circulation* 54:365-370.
- Ford DE, Mead LA, Chang PP, Cooper-Patrick I, Wang NY, Klag MI (1998): Depression is a risk factor for coronary artery disease in men: the precursors study *Arch Intern Med* 158 1422-1426.
- Fossati P, Radtchenko A, Boyer P (2004): Neuroplasticity: from MRI to depressive symptoms. *European Neuropsychopharmacology* 14:S503-S510.
- Francis J, Chu Y, Johnson AK, Weiss RM, Felder RB (2004): Acute myocardial infarction induces hypothalamic cytokine synthesis. *Am J Physiol* 286:H2264-H2271.

- Frangogiannis N, Smith C, Entman M (2002): The inflammatory response in myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 53:31-47.
- Frasure-Smith N, Lespérance F (2003): Depression and other psychological risks following myocardial infarction. *Arch Gen Psychiatry* 60:627-636.
- Frasure-Smith N, Lespérance, M T (1995a): Depression and 18 months prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 91:999-105.
- Frasure-Smith N, Lesperance F (2006): Recent evidence linking coronary heart disease and depression. *Canadian journal of psychiatry* 51:730-737.
- Frasure-Smith N, Lesperance F, Talajic M (1995b): Depression and 18-month prognosis after myocardial infarction. *Circulation* 91:999-1005.
- Frasure-Smith N, Lespérance F, Talajic M (1993): Depression following myocardial infarction: Impact on 6-months survival *JAMA* 270:999-1005.
- Freund T, Buzsaki G (1996): Interneurons of the hippocampus *Hippocampus* 6:347-470.
- Fritschy J, Weinmann O, Wenzel A, Benke D (1998): Synapsespecific localization of NMDA and GABA(A) receptor subunits revealed by antigen-retrieval immunohistochemistry. *J Comp Neurol* 390:194-210.
- Fuller R, Wong D, Robertson D (1991): Fluoxetine, a selective inhibitor of serotonin uptake. *Med Res Rev* 11:17-34.

Fuster J (1989): *The prefrontal cortex* New York: Raven Press.

Fuster J (1996): *The prefrontal cortex*. 3rd ed. New York: Raven press.

Galeno T, Broody M (1983): Hemodynamic responses to amygdaloid stimulation in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol* 245:R281-286.

Galeno T, VanHoesen G, Brody M (1984): Central amygdaloid nucleus lesion attenuates exaggerated hemodynamic responses to noise stress in the spontaneously hypertensive rat *Brain Res* 291:249-259.

Ganote C, Seabra-Gomes R, Nayler W, Jennings R (1975): Irreversible myocardial injury in anoxic perfused rat hearts. *Am J Pathol* 80:419-450.

Gelsema A, McKittrick D, Caleresu F (1987): Cardiovascular responses to chemical and electric stimulation of the amygdala in rats. *Am J Physiol* 253:R712-R718.

Gimbrone M, Resnick N, Nagel T, Khachigian L, Collins T, Topper J (1997): Hemodynamics, endothelial gene expression, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 811:1-10.

Gincel D, Zaid H, Shoshan-Barmatz V (2001): Calcium binding and translocation by the voltage-dependent anion channel: a possible regulatory mechanism in mitochondrial function. *Biochem J* 358:147-155.

Glassman A (1998): Depression, cardiac death, and the central nervous system.

Neuropsychobiology 37:80-83.

Gohier B, Goeb JL, Rannou-Dubas K, Fouchard I, Cales P, Garre JB (2003): Hepatitis C, alpha interferon, anxiety and depression disorders: a prospective study of 71 patients. *World J Biol Psychiatr* 4:115-118.

Goldstein L, Rasmusson A, Bunney B, Roth R (1996): Role of the amygdala in the coordination of behavioral, neuroendocrine, and prefrontal cortical monoamine responses to psychological stress in the rat. *J Neurosci* 16:4787-4798.

Goldstein MG, Niaura R (1992): Psychological factors affecting physical condition. Cardiovascular disease literature review. Part 1: Coronary artery disease and sudden death. *Psychosomatics* 33:134-145.

Goodchild A, Dampney R, Bandler R (1982): A method for evoking physiological responses by stimulation of cell bodies but not axons of passage, within a localized region of the central nervous system. *J Neurosci Methods* 6:357-363.

Gottlieb R, Burleson K, Kloner R, Babior B, Engler R (1994): Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 94:1621-1628.

Gould E, Panapat P, Rydel T, Hastings N (2000): Regulation of hippocampal neurogenesis in adulthood *Biol Psychiatry* 48:715-720.

- Green D, Reed J (1998): Mitochondria and apoptosis. *Science* 281:1309-1312.
- Greene WA, Goldstein S, Moss A (1972): Psychosocial aspects of sudden death. A preliminary report. *Arch Intern Med* 129:725-731.
- Grippe A, Beltz T, Weiss R, Johnson A (2006): The Effects of Chronic Fluoxetine Treatment on Chronic Mild Stress-Induced Cardiovascular Changes and Anhedonia. *BIOL PSYCHIATRY* 59:309-316.
- Gross G, Kersten J, Warltier D (1999): Mechanisms of postischemic contractile dysfunction. *Ann Thorac Surg* 68:1898-1904.
- Grubb NR, Fox KA, Smith K, Best J, Blane A, Ebmeier KP, et al (2000): Memory impairment in out-of-hospital cardiac arrest survivors is associated with global reduction in brain volume, not focal hippocampal injury. *Stroke* 31:1509-1514.
- Guillemin R (1978): Control of adenohipophysial functions by peptides of the central nervous system. *Harvey Lect* 71:71-131.
- Hanahan D, Weinberg R (2000): The hallmarks of cancer. *Cell* 100:57-70.
- Handelmann G, Olton D (1981): Spatial memory following damage to hippocampal CA3 pyramidal cells with kainic acid: impairment and recovery with preoperative training. *Brain Res* 217:41-58.

Hansen P (1995): Role of neutrophils in myocardial ischemia and reperfusion.

Circulation 91 872-1885.

Haour F, Marquette C, Ban E, Crumeyrolle-Arias M, Rostene W, Tsiang H, et al (1995):

Receptors for interleukin-1 in the central nervous and endocrine systems. *Am Endocrinol* 56:173-179.

Hardy S, Holmes D (1988): Prefrontal stimulus-produced hypotension in rat

Exp Brain Res 73 249- 255.

Harrison J, Schultz J (1976): Studies on the chlorinating activity of myeloperoxidase. *J Biol*

Chem 251:1371-1374.

Hart BL (1988): Biological basis of the behavior of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev*

12:123-137.

Hartmann A, Hunot S, Michel P, Muriel M, Vyas S, Faucheux B, et al (2000): Caspase-3: a

vulnerability factor and final effector in apoptotic death and dopaminergic neurons in Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci* 97:2875-2880.

Hearse D (1977): Reperfusion of the ischemic myocardium. *J Mol Cell Cardiol* 9:605-616.

Heine V, Maslam S, Zareno J, Joels M, Lucassen P (2004): Suppressed proliferation and

apoptotic changes in the rat dentate gyrus after acute and chronic stress are reversible. *Eur J Neurosci* 19:131-144.

Hibbeln J, Makino K (2001): Omega-3 Fats in Depressive Disorders and Violence:

The Context of Evolution and Cardiovascular Health. *n Brain Lipids in Biological Psychiatry*.

Hilton S, Zbrozyna A (1963): Amygdaloid region for defense reactions and its efferent pathway to the brain stem. *J Physiol* 165: 160-173.

Hofmann K, Bucher P, Tschopp J (1997): The CARD domain: a new apoptotic signalling motif. *Trends Biochem Sci* 22:155-156.

Holland P, Gallagher M (1999): Amygdala circuitry in attentional and representational processes *Trends Cogn Sci* 3:65-73.

Honig A, Lousberg R, Wojchickowski F, Cheriex E, Wellens H, Praag HV (1997): Depression following a first heart infarct: Similarities with and difference from 'ordinary' depression *Ned T Geneeskunde* 141:196-199.

Hopkins SJ, Rothwell NJ (1995): Cytokines and the nervous system. I: expression and recognition. *Trends Neurosci* 18:83-88.

Hoyer D, Clarke D, Fozard J, Hartig P, Martin G, Mylecharane E, et al (1994): International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacol Rev* 46:157-203.

Hunot S, Flavell R (2001): Apoptosis. Death of a monopoly? *Science* 292:865-866.

- Hurley-Gius K, Herbert H, Moga M, Saper C (1991): Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *J Comp Neurol* 308 249-276.
- Hurwitz E, Morgenstern H (2001): Immediate and longterm effects of immune stimulation: hypothesis linking the immune response to subsequent physical and psychological wellbeing. *Med Hypotheses* 56:620-624.
- Ikegaya Y, Delcroix I, Iwakura Y, Matsuki N, Nishiyama N (2003): Interleukin-1beta abrogates long-term depression of hippocampal CA1 synaptic transmission. *Synapse* 47:54-57.
- Inohara N, Ekhterae D, Garcia I, Carrio R, Merino J, Merry A, et al (1998): Mtd, a novel Bcl-2 family member activates apoptosis in the absence of heterodimerization with Bcl-2 and Bcl-XL. *J Biol Chem* 273:8705-8710.
- Inversen S, Inversen L, Saper C (2000): The autonomic nervous system and hypothalamus. In: principles of neural science. 4 th edition.965-997.
- Iwata J, LeDoux J, Reis D (1986): Destruction of intrinsic neurons in the lateral hypothalamus disrupts the classical conditioning of autonomic but not behavioral emotional responses in the rat *Brain Res* 368 161- 166.
- Jang Y, Lincoff A, Plow E, Topol E (1994): Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 24:1591-1601.

- Jennings R, Ganote C (1974): Structural changes in myocardium during acute ischemia. *Circ Res* 35:156-172.
- Jennings R, Reimer K, Steenbergen C (1986): Myocardial ischemia revisited. The osmolar load, membrane damage, and reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 18:769-780.
- Jennings R, Steenburgen C, Reimer K (1995): Myocardial ischemia and reperfusion *Monogr Pathol* 37:47-80.
- Jiang X, Wang X (2000): Cytochrome c promotes caspase-9 activation by inducing nucleotide binding to Apaf-1. *J Biol Chem* 275:31199-31203
- Jolly S, Schumacher W, Kunkel S, Abrams G, Liddicoat J, Lucchesi B (1985): Platelet depletion in experimental myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 80:269-279.
- Jordan EJ, Zhao Z-Q, Vinten-Johansen J (1999): The role of neutrophils in myocardial ischemia-reperfusion injury
Cardiovascular Research 43 860-878.
- Jurgensmeier J, Xie Z, Deveraux Q, Ellerby L, Bredesen D, Reed J (1998): Bax directly induces release of cytochrome c from isolated mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:4997-5002.

- Kapp B, Gallagher M, Underwood M, McNall C, White D (1982a): Cardiovascular responses elicited by electrical stimulation of the amygdala central nucleus in the rabbit *Brain Res* 234:251-262.
- Kapp B, Gallagher M, Underwood M, McNall C, Whitehorn D (1982b): Cardiovascular responses elicited by electrical stimulation of the amygdala central nucleus in the rabbit. *Brain Res* 234:251-262.
- Kasibhatla S, Tseng B (2003): Why target apoptosis in cancer treatment? . *Mol Cancer Ther* 2:573-580.
- Katsuki H, Nakai S, Hirai Y, Akaji K, Kiso Y, Satoh M (1990): Interleukin- 1 beta inhibits long-term potentiation in the CA3 region of mouse hippocampal slices. *Eur J Pharmacol* 181:323-326.
- Katsuura G, Gottschall PE, Arimura A (1988): Identification of a highaffinity receptor for interleukin-1 beta in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 156:61- 67.
- Kawashima K, Araki H, Aihara H (1989): Effects of chronic administration of tricyclic antidepressants and methamphetamine on the duration of immobility in rats forced to swim. *Res Commun Psychol Psychiat Behav* 14:43-59.

- Kelly J, Wrynn A, Leonard B (1997): The olfactory bulbectomized rat as a model of depression : an update. *Pharmacol Ther* 74:299-316.
- Kennett G, Marcou M, Dourish C, Curzon G (1987): Single administration of 5-HT_{1A} agonists decreases 5-HT_{1A} presynaptic, but not postsynaptic receptor-mediated responses: relationship to antidepressant-like action. *Eur J Pharmacol* 138:53-60.
- Kent S, Bluthé R-M, Kelley KW, Dantzer R (1992a): Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sc* 13:24-28
- Kent S, Bluthé R-M, Kelley KW, Dantzer R (1992b): Sickness behavior as a new target for drug development. *Trends Pharmacol Sci* 13:24-28.
- Kerr J, Winterford C, Harmon B (1994): Apoptosis: its significance in cancer and cancer chemotherapy. *Cancer* 73:2013.
- Khaykin Y, Dorian P, Baker B, Shapiro C, Sandor P, Mironov D, et al (1998): Autonomic correlates of antidepressant treatment using heart-rate variability analysis. *Can J Psychiatry* 43:183-186.
- Kleiger R, Miller J, Bigger J, et al (1987): Decreased heart rate variability and its association with mortality after myocardial infarction. *Am J Cardiol* 113:256-262.

- Kloner R, K P, P W (1989a): Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion: Resolved and unresolved issues. *Circulation* 80:1115-1127.
- Kloner R, Przyklenk K, Whittaker P (1989b): Deleterious effects of oxygen radicals in ischemia/reperfusion: Resolved and unresolved issues. *Circulation* 80:1115-1127.
- Koechlin E, Corrado G, Pietrini P, Grafman J (2000): Dissociating the role of the medial and lateral anterior prefrontal cortex in human planning. *Proc Natl Acad Sci* 97 7651-7656.
- Koenig JI (1991): Presence of cytokines in the hypothalamic-pituitary axis. *Prog Neuroendocr Immunol* 4:143-153.
- Koizumi K, Terui N, Kollai M (1985): Effect of cardiac vagal and sympathetic nerve activity on heart rate in rhythmic fluctuations. *J Auton Nerv Syst* 12:251-259.
- Kristensen SD, Schmidt ER, Dyerberg J (1989): Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and human platelet function: a review with particular emphasis on implications for cardiovascular disease. *J Intern Med Suppl* 225:141-150.
- Krittayaphong R, Cascio W, Light KC, Sheffield D, Golden RN, Finkel I, et al (1997): Heart rate variability in patients with coronary artery disease: differences in patients with higher and lower depression scores. *Psychosom Med* 59:231-235.

- Kroemer G (1998): The mitochondrion as an integrator/coordinator of cell death pathways. *Cell Death Differ* 5:547.
- Kroemer G, Zamzami N, Susin S (1997): Mitochondrial control of apoptosis. *Immunol Today* 18:44-51.
- Kronfol Z (2002): Immune dysregulation in major depression: a critical review of existing evidence. *Int J Neuropsychopharmacol* 5:333-343.
- Kronfol Z, House JD (1989): Lymphocyte mitogenesis, immunoglobulin and complement levels in depressed patients and normal controls. *Acta Psychiatr Scand* 80:142-147.
- Krown K, Page M, Nguyen C, Zechner D, Gutierrez V, Comstock K, et al (1996): Tumor necrosis factor alpha-induced apoptosis in cardiac myocytes. Involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death. *J Clin Invest* 98:2854-2865.
- Kukreja R, Janin Y (1997): Reperfusion Injury: Basic Concepts and Protection Strategies. *J Thromb Thrombolysis* 4:7-24.
- Kupfer D, Frank E, McEachran A, Grochocinski V (1990): Delta sleep ratio. A biological correlate of early recurrence in unipolar affective disorder. *Arch Gen Psychiatry* 47:100-1105.
- Lacroix L, White I, Feldon J (2002): Effect of excitotoxic lesions of rat medial prefrontal cortex on spatial memory. *Behavioural Brain Research* 133:69-81.

- Ladwig K, Kieser M, Konig J, Breithardt G, Borggrefe M (1991): Affective disorders and survival after acute myocardial infarction (results from the post-infarction late potential study) *Eur Heart J* 12:959-964.
- Ladwig K, Roll, Breithardt G, Budde T, Borggrefe M (1994): Post infarct depression and incomplete recovery 6 months after acute myocardial infarction. *The Lancet* 343: 20- 23.
- Laghrissi-Thode F, Wagner W, Pollock B, Johnson P, Finkel M (1997): Elevated platelet factor 4 and β -thromboglobulin plasma levels in depressed patients with isehemic heart dlsease. *Biol Psychiatry* 42:290-295.
- Landfield P, Waymire J, G GL (1978): Hippocampal aging and adrenocorticoids: quantitative correlations. *Science* 202:1098-1102.
- Langer G (1978): The structure and function of the myocardial cell surface. *Am J Physiol* 235:H461-468.
- Larson SJ, Dunn AJ (2001): Behavioral effects of cytokines. *Brain Behav Immun* 15:371-387.
- Lassalle J, Bataille T, Halley H (2000): Reversible inactivation of the hippocampal mossy fiber synapses in mice impairs spatial learning, but neither consolidation nor memory retrieval, in the Morris navigation task. *Neurobiol Learn Mem* 73:243-257.

- Lechan R, Toni R, Clark B, Cannon J, Shaw A, Dinarello C, et al (1990): Immunoreactive interleukin-1 beta localization in the rat forebrain. *Brain Res* 514:135-140.
- Lechin F, Dijs Bvd, Orozco B, Lechin M, Baez S, Lechin A, et al (1995): Plasma neurotransmitters, blood pressure, and heart rate during supine-resting, orthostasis, and moderate exercise conditions in major depressed patients. *Bio Psychiatry* 38:166-173.
- LeDoux J (1992): *Emotion and the amygdala. In the Amygdala: Neurobiological Aspects of emotion, Memory and Mental Dysfunction*, J. Aggleton ed. WSiley-Liss. New York.
- LeDoux JE, Iwata, J., Cicchetti, P. & Reis, D.J. (1988): Different projections of the central amygdaloid nucleus mediate emotional responses conditioned to acoustic stimuli. *J Neurosci* 8 2527-2529.
- Lee H, Kim J, Yim S, Kim M, Kim S, Kim Y, et al (2001): Fluoxetine enhances cell proliferation and prevents apoptosis in dentate gyrus of maternally separated rats. *Mol Psychiatry* 6 725-728.
- Lefter A, Weyrich A, Buerke M (1994): Role of selectins, a new family of adhesion molecules, in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 28:289-294.

- Lefkowitz J, EF P, EJ To (1995): Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine. *N Engl J Med* 332:1553-1559.
- Lespérance F, Frasure-Smith N, Talajic M (1996): Major depression before and after myocardial infarction: Its nature and consequences *Psychosomatic medicine* 58:99-110.
- Li H, Zhu H, Xu C, Yuan J (1998): Cleavage of BID by caspase-8 mediates the mitochondrial damage in the fas pathway of apoptosis. *Cell* 94:491-501.
- Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula S, Ahmad M, Alnemri E, et al (2004): Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade. *Cell* 116:S57-59, 52 p following S59.
- Liao D, Cai J, Rosamond W, et al (1997): Cardiac autonomic function and incident coronary heart disease: a population-based case-cohort study. The ARIC Study. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am J Epidemiol* 145:696-706.
- Libby P (2002): Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420:868-874.
- Libby P, Hansson G (1991): Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions *Lab Invest* 64:5-15.
- Lieb J, Karmali R, Horrobin D (1983): Elevated levels of prostaglandin E2 and thromboxane B2 in depression. *Prostaglandins Leukotriene Med* 10:361-367.

- Linthorst A, Flachskamm C, Muller-Preuss P, Holsboer F, Reul J (1995): Effect of bacterial endotoxin and interleukin-1 beta on hippocampal serotonergic neurotransmission, behavioral activity, and free corticosterone levels: an in vivo microdialysis study. *J Neurosci* 15:2920-2934.
- Loewy A (1991): Forebrain nuclei involved in autonomic control. *Prog Brain Res* 87:253-268.
- Lucassen P, Fuchs E, Czeh B (2004a): Antidepressant Treatment with Tianeptine Reduces Apoptosis in the Hippocampal Dentate Gyrus and Temporal Cortex. *BIOL PSYCHIATRY* 55:789-796.
- Lucassen P, Muller M, Holsboer F, Bauer J, Holtrop A, Wouda J, et al (2001): Hippocampal Apoptosis in Major Depression Is a Minor Event and Absent from Subareas at Risk for Glucocorticoid Overexposure. *Am J Pathol* 158:453-468.
- Lucassen PJ, Fuchs E, Czeh B (2004b): Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biol Psych* 55:789-796.
- Lucki I (2001): A prescription to resist proscriptio for murine models of depression. *Psychopharmacology* 153:395-398.

- Luiten P, TerHorst G, Steffens A (1987): The hypothalamus, intrinsic connections and outflow pathways to the endocrine system in relation to the control of feeding and metabolism. *Prog Neurobiol* 28:1-54.
- Luo X, Budihardjo I, Zou H, Slaughter C, Wang X (1998): Bid, a Bcl2 interacting protein, mediates cytochrome c release from mitochondria in response to activation of cell surface death receptors. *Cell* 94:481-490.
- Lupien SJ, Lepage M (2001): Stress, memory, and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behavioural Brain Research* 127:137-158.
- MacFarlane M, Cain K, Sun X, Alnemri E, Cohen G (1997): Processing/activation of at least four interleukin-1beta converting enzyme-like proteases occurs during the execution phase of apoptosis in human monocytic tumor cells. *J Cell Biol* 137:469-479.
- Maes M (1995): Evidence for an immune response in major depression: a review and hypothesis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr* 19:11-38.
- Maes M, Meltzer H (1995): *The serotonin hypothesis of major depression. In: Psychopharmacology: the third generation of progress* New York.
- Maier S, Goehler L, Fleshner M, Watkins L (1998): The role of the vagus nerve in cytokine-to-brain communication. *Ann NY Acad Sci* 840:289-300.

- Makino S, al e (2002): Multiple feedback mechanisms activating corticotropin-releasing hormone system in the brain during stress. *Pharmacol Biochem Behav* 73:147-158.
- Malison R, Price L, Berman R, Dyck Cv, Pelton G, Carpenter L, et al (1998): Reduced brain serotonin transporter availability in major depression as measured by [123I]-2 beta-carbomethoxy-3 beta-(4-iodophenyl)tropane and single photon emission computed tomography. *Biol Psychiatry* 44:1090-1098.
- Manji H, Moore G, Chen G (2000a): Clinical and preclinical evidence for the neurotrophic effects of mood stabilizers: implications for the pathophysiology and treatment of manic depressive illness. *Biol Psychiatry* 48:740-754.
- Manji H, Moore G, Rajkowska G, Chen G (2000b): Neuroplasticity and cellular resilience in mood disorders. *Mol Psychiatry* 5:578 -593.
- Manji HK, Drevets wC, Charney DS (2001): The cellular neurobiology of depression. *Nature Medicine* 7:541-547.
- Maren S, Aharonov G, Fanselow M (1996): Retrograde abolition of conditional fear after excitotoxic lesions in the basolateral amygdala of rats: absence of a temporal gradient. *Behav Neurosci* 110:718-726.

- Margolis R, Chuang D, Post R (1994): Programmed cell death: implications for neuropsychiatric disorders. *Biol Psychiatry* 35:946-956.
- Mattson M, Maudsley S, Martin B (2004): BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci* 27:589-594.
- McCord J (1985): Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312:159-163.
- McCord J, Fridovich I (1969): Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte hemocuperein (hemocuperein). *J Biol Chem* 244:6049-6055.
- McEwen B (2000): Allostasis and allostatic load: implications for neuropsychopharmacology. *Neuropsychopharmacology* 22:108-124.
- McKinney W (2001): Overview of the past contributions of animal models and their changing place in psychiatry. *Semin Clin Neuropsychiatry* 6:68-78.
- Menkes D, MacDonald J (2000): Interferons, serotonin and neurotoxicity. *Psychol Med* 30:259-268.
- Merali Z, Lacosta S, Anisman H (1997): Effects of interleukin-1beta and mild stress on alterations of norepinephrine, dopamine and serotonin neurotransmission: a regional microdialysis study. *Brain Res* 761:225-235.

- Metherate R, Ashe J (1991): Basal forebrain stimulation modifies auditory cortex responsiveness by an action at muscarinic receptors *Brain Res* **559**:163-167.
- Miller E, Cohen J (2001): An integrative theory of prefrontal cortex function *Annu Rev Neurosci* **24**:167--202.
- Moens A, Claeys M, Timmermans J, Vrints C (2005): Myocardial ischemia/reperfusion-injury, a clinical view on a complex pathophysiological process. *International Journal of Cardiology* **100** 179- 190.
- MohanKumar SM, MohanKumar PS, Quadri SK (2000): Effects of bacterial lipopolysaccharade on central monoamines and fever in the rat: involvement of the vagus. *Neurosci Lett* **284**:159-162.
- Morris M (1981): Spatial navigation does not require the presence of local cues. *Learn Motiv* **12**:230-249.
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J (1982): Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* **297**:681-683.
- Mukherjee J, Das M, Yang Z, Lew R (1998): Evaluation of the binding of the radiolabeled antidepressant drug, 18F-fluoxetine in the rodent brain: an in vitro and in vivo study. *Nucl Med Biol* **25**:605-610.

- Mullane K, McGiff J (1985): Platelet depletion and infarct size in an occlusion-reperfusion model of myocardial ischemia in anesthetized dogs. *J Cardiovasc Pharmacol* 7:733-738.
- Muller R (1996): A Quarter of a Century of Place Cells. *Neuron* 17:813-822
- Murphy J, Monson R, Olivier D, Sobol A, Leighton A (1987): Affective disorder and mortality, a general population study. *Arch Gen Psychiatry* 44:473-480.
- Murry C, Richard V, Jennings R, et al (1991): Myocardial protection is lost before contractile function recovers from ischemic preconditioning. *Am J Physiol* 260:H796-H804.
- Musselman DL, Evans DL, Nemeroff CB (1998): The relationship of depression to cardiovascular disease: epidemiology, biology, and treatment. *Arch Gen Psychiatry* 55 580-592.
- Musselman DL, Lawson DH, Gumnick JF, Manatunga AK, Penna S, Goodkin RS, et al (2001a): Paroxetine for the prevention of depression induced by high-dose interferon alfa. *New Engl J Med* 344:961-966.
- Muzio M, Chinnaiyan A, Kischkel F, O'Rourke K, Shevchenko A, Scaffidi C, et al (1996): FLICE, a novel FADD-homologous ICE/CED-3-like protease, is recruited to the CD95 (Fas/APO-1) death-inducing signaling complex. *Cell* 85:817-827.

- Muzio M, Stockwell B, Stennicke H, Salvesen G, Dixit V (1998): An induced proximity model for caspase-8 activation. *J Biol Chem* 273:2926-2930.
- Myers M, Bolli R, Lekich R, et al (1985): Enhancement of recovery of myocardial function by oxygen free radical scavengers after reversible regional ischemia *Circulation* 72:915-921.
- Nagata S (1999): Fas ligand-induced apoptosis. *Annu Rev Genet* 33:29-55.
- Nahon E, Israelson A, Abu-Hamad S, Shoshan-Barmatz V (2005): Fluoxetine (Prozac) interaction with the mitochondrial voltage-dependent anion channel and protection against apoptotic cell death. *Federation of European Biochemical Societies* 579:5105-5110.
- Naylor W, Panagiotopoulos S, Elz J, Daly M (1988): Calcium-mediated damage during post-ischaemic reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 20:41-54.
- Nestler E, Barrot M, DiLeone R, Eisch A, Gold S, Monteggia L (2002a): Neurobiology of Depression. *Neuron* 34:13-25.
- Nestler E, Gould E, Manji H, Bucan M, Duman RS, Gershenfeld H, et al (2002b): Preclinical Models: Status of Basic Research in Depression. *Biol Psychiatry* 52:503-528.

- Newton K, Strasser A (1998): The Bcl-2 family and cell death regulation. *Curr Opin Genet Dev* 8:68-75.
- Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P (2004): Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Res* 94:1543-1553.
- Nieuwenhuys R (1996a): The greater limbic system, the emotional motor system and the brain. *Prog Brain Res* 107:551-580.
- Nieuwenhuys R (1996b): The greater limbic system, the emotional motor system and the brain. *Prog Brain Res* 107:551-580.
- Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara J, et al (1997): Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med* 336:1131-1141.
- Oltvai Z, Milliman C, Korsmeyer S (1993): Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74:609-619.
- Oppenheim R (1991): Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 14:453-501.
- Owens M, Nemeroff C (1994): Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem* 40:288-295.

- Papp M, Klimek V, Willner P (1994): Parallel changes in dopamine D2 receptor binding in limbic forebrain associated with chronic mild stress-induced anhedonia and its reversal by imipramine. *Psychopharmacology* 115:441-446.
- Penninx B, BEEKMAN A, HONIG A, DJI ID, SCHOEVEERS R, JTI IVE, et al (2001): Depression and cardiac mortality: Results from a community-based longitudinal study. *Archives of general psychiatry* 58:221-227.
- Pham K, Nacher J, Hof P, McEwen B (2003): Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 17:879 -886.
- Plamondon H, Morin A, Charron C (2006): Chronic 17β -estradiol pretreatment and ischemia-induced hippocampal degeneration and memory impairments: A 6-month survival study. *Hormones and Behavior* 50:361-369.
- Plata-Salaman CR (2000): Central nervous system mechanisms contributing to the cachexia-anorexia syndrome. *Nutrition* 16:1009- 1012.
- Poole-Wilson P, Tones M (1988): Sodium exchange during hypoxia and on reoxygenation in the isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 20:15-22.
- Porsolt R (2000): Animal models of depression: Utility for transgenic research. *Rev Neurosci* 11:53-58.

- Porsolt R, Anton G, Blavet N, Jalfre M (1978): Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments 1. *Eur J Pharmacol* 47:379-391.
- Proescholdt MG, Chakravarty S, Foster JA, Foti, S.B, Briley EM, Herkenham M (2002): Intracerebroventricular but not intravenous interleukin-1beta induces widespread vascular-mediated leukocyte infiltration and immune signal mRNA expression followed by brainwide glial activation. *Neuroscience* 112:731-749.
- Przyklenk K, Kloner R (1986): Superoxide dismutase plus catalase improve contractile function in the canine model of the "stunned myocardium" *Circ Res* 58:148-156.
- Pudil R, Pidrman V, Krejsek J, Gregor J, Tichy M, Andrys C, et al (1999): Cytokines and adhesion molecules in the course of acute myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 280:127-134.
- Ragozzino M, Adams S, Kesner R (1998): Differential involvement of the dorsal anterior cingulate and prelimbic-infralimbic areas of the rodent prefrontal cortex in spatial working memory. *Behav Neurosci* 112:747.
- Ragozzino M, Detrick S, Kesner R (2002): The effects of prelimbic and infralimbic lesions on working memory for visual objects in rats
Neurobiol Learn Mem 77: 29-43.

- Rajkowska G (2000): Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells *Biol Psychiatry* 48:766-777.
- RAL RD (1994): Functional organization of central pathways regulating the cardiovascular system *Physiol Rev* 74 323-364.
- Randall W (1984): *Nervous control of cardiovascular Function*. New York"Oxford Univ. Press.
- Rauch S, Kolk Bvd, Fisler R, Alpert N, Orr S, Savage C, et al (1996): A symptom provocation study of posttraumatic stress disorder using positron emission tomography and script-driven imagery *Archives of general psychiatry* 53:380-387.
- Redei E, Ahmadiyah N, Baum A, Sasso D, Slone J, Solberg L, et al (2001): Novel animal models of affective disorders. *Semin Clin Neuropsychiat* 6:43-67.
- Reed J (1997): Double identity for proteins of the Bcl-2 family. *Nature* 387:773-776.
- Reed J, Cuddy M, Haldar S, Croce C, Nowell P, Makover D, et al (1990): BCL2-mediated tumorigenicity of a human T-lymphoid cell line: synergy with MYC and inhibition by BCL2 antisense. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:3660-3664.
- Reich P (1985): Psychological predisposition to life-threatening arrhythmias. *Annu Rev Med* 36:397-405.

- Reichlin S (2001): Secretion of neuromodulatory mediators from the brain: an alternative pathway of neuroimmunomodulation. *Psychoneuroimmunology*:499-516.
- Reimer K, Jennings R (1979): The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab Invest* 40:633-644.
- Riad M, Zimmer L, Rbah L, Watkins K, Hamon M, Descarries L (2004): Acute Treatment with the Antidepressant Fluoxetine Internalizes 5-HT_{1A} Autoreceptors and Reduces the In Vivo Binding of the PET Radioligand [18F]MPPF in the Nucleus Raphe Dorsalis of Rat. *The Journal of Neuroscience* 24:5420 -5426.
- Richardson J (1991): The olfactory bulbectomized rat as a model of major depressive disorder. *Neuromethods* 19:61-79.
- Robbins T, Everitt B, Marston H, Wilkinson J, Jones G, Page K (1989): Comparative effects of ibotenic acid- and quisqualic acid-induced lesions of the substantia innominata on attentional function in the rat: further implications for the role of the cholinergic neurons of the nucleus basalis in cognitive processes. *Behav Brain Res* 35:221-240.

- Roberts A, Wallis J (2000): Inhibitory control and affective processing in the prefrontal cortex: neuropsychological studies in the common marmoset *Cereb Cortex* 10:252--262.
- Rodriguez J, Lazebnik Y (1999): Caspase-9 and Apaf-1 form an active holoenzyme. *Genes Dev* 13:3179--3184.
- Rolls E, Treves A (1998): *Neural Networks and brain function*. Oxford: Oxford University Press.
- Room P, Russchen F, Groenewegen H, Lohman A (1985): Efferent connections of the prelimbic (area 32) and infralimbic (area 25) cortices: an anterograde tracing study in the cat *J Comp Neurol* 89 40-55.
- Roosendaal B, Koolhaas J, Bohus B (1991): Central amygdala lesions affect behavioral and autonomic balance during stress in rats. *Physiol Behav* 50:777-781.
- Roosendaal B, Koolhaas J, Bohus B (1991): Central amygdala lesions affect behavioral and autonomic balance during stress in rats. *Physiol Behav* 50:777-781.
- Ross C, Ruggiero D, Reis D (1985): Projections from the nucleus tractus solitarii to the rostral ventrolateral medulla. *J Comp Neurol* 242:511-534.
- Ross R (1993): The pathogenesis of atherosclerosis. A perspective for the 1990s *Nature* 362:801-809.

- Rostovtseva T, Colombini M (1997): VDAC channels mediate and gate the flow of ATP: implications for the regulation of mitochondrial function. *Biophys J* 72:1954-1962.
- Rothwell NJ (1999): Annual review prize lecture cytokines-killers in the brain? *J Physiol* 514:3- 17.
- Rothwell NJ, Luheshi GN (2000): Interleukin 1 in the brain: biology, pathology and therapeutic target. *Trends Neurosci* 12:618-625.
- Rousseau G, Hebert D, Libersan D, Khalil A, St-Jean G, Latour J (1993): Importance of platelets in myocardial injury after reperfusion in the presence of residual coronary stenosis in dogs. *Am Heart J* 125:1553-1563.
- Roy N, Cardone M (2002): *Apoptosis, the molecular biology of programmed cell death*.
- Ruan Y-W, Zou B, Fan Y, Li Y, al e (2006a): Morphological heterogeneity of CA1 pyramidal neurons in response to ischemia. *J Neurosci Res*.
- Ruan Y-W, Zou B, Fan Y, Li Y, Lin N, Zeng Y-S, et al (2006b): Dendritic plasticity of CA1 pyramidal neurons after transient global ischemia. *Neuroscience* 140:191-201.
- Ruggiero D, Mraovitch S, Granata A, Anwar M, Reis D (1987): A role of insular cortex in cardiovascular function. *J Comp Neurol* 257 189- 207.

- Rush AI, George MS, Sackeim H, Marangell LB, Husain MM, Giller C, et al (2000): Vagus nerve stimulation (VNS) for treatment-resistant depressions: a multicenter study. *Biol Psychiatry* 47:276-286.
- Russell R, Roth A, Kucan J, Zook E, (1989): Reperfusion injury and oxygen free radicals: *J Reconstr Microsurg* 5:79-84.
- Rygula R, Abumaria N, Flugge G, Fuchs E, Ruther E, U.Havemann-Reinecke (2005): Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research* 162:127-134.
- Saha S (2005): Role of the central nucleus of the amygdala in the control of blood pressure: descending pathways to medullary cardiovascular nuclei. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 32:450-456
- Sakai K, Gebhard M, Spieckermann P, Bretschneider H (1975): Enzyme release resulting from total ischemia and reperfusion in the isolated, perfused guinea pig heart. *J Mol Cell Cardiol* 7:827-840.
- Saleh T, Connel B (1998): Role of the insular cortex in the modulation of baroreflex sensitivity *J Physiol* 274 (*Regulatory Integrative Comp Physiol*) 43: R1417- R1424.

- Sallanon M, Sakai K, Denoyer M, Jouvet M (1989): Long lasting insomnia induced by preoptic neuron lesions and its transient reversal by muscimol injection into the posterior hypothalamus. *Neuroscience* 32:669-683.
- Sanders A, Detera-Wadleigh S, Gershon E (1999): *Molecular genetics of mood disorders. In Neurobiology of Mental Illness*. New York: Oxford.
- Saper C (1982): Reciprocal parabrachial-cortical connections in the rat. *Brain Res* 242 33-40.
- Saper C (1995): Central autonomic nervous system, in the Rat Nervous System, 2nd ed. (Paxinos, G., ed.),.107-135.
- Saper C, Scammell T, Lu J (2005): Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *NATURE* 437.
- Saper C, Swanson L, Cowan W (1976): The efferent connections of the ventromedial nucleus of the hypothalamus of the rat *J Comp Neurol* 169: 409-422.
- Saper C, Swanson L, Cowan W (1979): An autoradiographic study of the efferent connections of the lateral hypothalamic area in the rat *J Comp Neurol* 183:689-706.
- Sapolsky R, Uno H, Rebert C, Finch C (1990): Hippocampal damage associated with prolonged glucocorticoid exposure in primates. *J Neurosci* 10:2897-2902.

- Schaaf M, DeKloet E, Vreugdenhil E (2000): Corticosterone effects on BDNF expression in the hippocampus. Implications for memory formation. *Stress* 3:201-208.
- Schatzberg A, Schildkraut J (1995): *Recent studies on norepinephrine systems on mood disorders. In: Psychopharmacology: the fourth generation of progress* New York: Raven.
- Schildkraut J (1965): The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 7:524-533.
- Schleifer S, Keller S, Bartlett J, Eckholdt H, Delaney B (1996): Immunity in young adults with major depressive disorder. *Am J Psychiatry* 153:477.
- Schleifer S, MACARI-HINSON M, COYLE D, SLATER W, KAHN M, GORLIN R, et al (1989): The nature and course of depression following myocardial infarction *Arch Intern Med* 149 1785-1789.
- Schmidt-Kastner R, Freund TF (1991): Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia. *Neuroscience* 40:599-636
- Schneider H, Pitossi F, Balschun D, Wagner A, Rey Ad, Besedovsky H (1998): A neuromodulatory role of interleukin-1beta in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7778-7783.

- Schwaber J, Kapp B, Higgins G, Rapp P (1982): Amygdaloid and basal forebrain direct connections with the nucleus solitary tract and dorsal motor nucleus *J Neurosci* 2:1424-1438.
- Shapiro AGaP (1998): Depression and the course of coronary artery disease. *Am J Psychiatry* 155:4-11.
- Sheline Y, Sanghavi M, Mintun M, MH MG (2000): 3D MRI studies of neuroatomic changes in unipolar major depression: the role of stress and medical comorbidity. *Biol Psychiatry* 48:791-800.
- Shen A, Jennings R (1972a): Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *Am J Pathol* 67:441-452.
- Shen A, Jennings R (1972b): Kinetics of calcium accumulation in acute myocardial ischemic injury. *Am J Pathol* 67:441- 452.
- Shields R (1993): Functional anatomy of the autonomic nervous system. *J Clin Neurophysiol* 10:2-13.
- Shintani F, Kanba S, Nakaki T, Nibuya M, Kinoshita N, Suzuki E, et al (1993): Interleukin-1b augments release of norepinephrine, dopamine, and serotonin in the rat anterior hypothalamus. *J Neurosci* 13:3574-3581.

- Slee E, Harte M, Kluck R, Wolf B, Casiano C, Newmeyer D, et al (1999): Ordering the cytochrome c-initiated caspase cascade: hierarchical activation of caspases-2, -3, -6, -7, -8, and -10 in a caspase-9-dependent manner. *J Cell Biol* 144:281-292.
- Smith M, Makino S, Kvetnansky R, Post R (1995): Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *J Neurosci* 15:1768-1777.
- Smith RS (1991): The macrophage theory of depression. *Med Hypotheses* 35:298-306.
- Sohn M, Ursu S, Anderson J, Stenger V, Carter C (2001): Inaugural article: the role of prefrontal cortex and posterior parietal cortex in task switching. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:4276.
- Song C, Leonard B (2005): The olfactory bulbectomised rat as a model of depression. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 29:627-647.
- Song C, merali Z, lacosta S, anisman H (1996): *Psychoneuroimmunol Res Sot*:0.24.
- Spencer S, Sawyer W, Loewy A (1989): Cardiovascular effects produced by l-glutamate stimulation of the lateral hypothalamic area *Am J Physiol* 257:H540- H552.
- Spyer K (1988): Central nervous system control of the cardiovascular system. In: Bannister, R, ed *Autonomic failure: A Textbook of Clinical Disorders of the autonomic nervous system. Oxford, England: Oxford University Press; :56-79.*

- Srinivasula S, Fernandes-Alnemri T, Zangrilli J, Robertson N, Armstrong R, Wang L, et al (1996): The Ced-3/interleukin 1beta converting enzyme-like homolog Mch6 and the lamin-cleaving enzyme Mch2alpha are substrates for the apoptotic mediator CPP32. *J Biol Chem* 271:27099-27106.
- Stein-Behrens B, Mattson M, Chang I, Yeh M, Sapolsky R (1994): Stress exacerbates neuron loss and cytoskeletal pathology in the hippocampus. *J Neurosci* 14:5373-5380.
- Stein P, RM C, Freedland KE ea (2000): Heart rate variability is related to the severity of depression in patients with coronary heart disease. *J Psychosom Res* 48:493-500.
- Stennicke H, Ryan C, Salvesen G (2002): Reprieval from execution: the molecular basis of caspase inhibition. *Trends Biochem Sci* 27:94-101.
- Strasser A, Whittingham S, Vaux D, Bath M, Adams J, Cory S, et al (1991): Enforced BCL2 expression in B-lymphoid cells prolongs antibody responses and elicits autoimmune disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:8661-8665.
- Stuss D, Benson D (1986): *The Frontal Lobes* Raven, New York.
- Sudhair V, R S, Marchant A ea (1994): Relation between heart rate variability early after acute myocardial infarction and long-term mortality. *Am J Cardiol* 73:653-657.

- Sudweeks S, Yakel J (2000): Functional and molecular characterization of neuronal nicotinic ACh receptors in rat CA1 hippocampal neurons *J Physiol* 527:515-528.
- Sullivan G, Sarembock IJ, Linden J (2000): The role of inflammation in vascular diseases. *J Leukoc Biol* 67:591-602.
- Swanson L, Sawchenko P (1983a): Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annu Rev Neurosci* 6:269-324.
- Swanson L, Sawchenko P (1983b): Hypothalamic Integration: Organization of the Paraventricular and Supraoptic Nuclei
Annual Review of Neuroscience 6 269-324.
- Szymusiak R (1995): Magnocellular nuclei of the basal forebrain: substrates of sleep and arousal regulation. *Sleep* 18:478-500.
- Szymusiak R, Alam N, Steininger T, McGinty D (1998): Sleep-waking discharge patterns of ventrolateral preopticanterior hypothalamic neurons in rats. *Brain Research* 803:178-188.
- Takahashi A, Alnemri E, Lazebnik Y, Fernandes-Alnemri T, Litwack G, Moir R, et al (1996): Cleavage of lamin A by Mch2 alpha but not CPP32: multiple interleukin 1

beta-converting enzyme-related proteases with distinct substrate recognition properties are active in apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:8395-8400.

Takao T, Tracey D, Mitchell W, Souza ED (1990): Interleukin-1 receptors in mouse brain: characterization and neuronal localization. *Endocrinology* 127:3070-3078.

Ter Horst GJ (2000): Emotions and Heart-Activity Control. In: Ter Horst GJ editor. *The nervous system and the heart*. Totowa, NJ: Humana Press, pp 55-115.

Teresa L, Steininger, Gong H, McGinty D, Szymusiak R (2001): Subregional Organization of Preoptic Area/Anterior Hypothalamic Projections to Arousal-Related Monoaminergic Cell Groups. *The journal of comparative neurology* 429:638-653

TerHorst G (1999): General Autonomic Control of the Heart, Angina, and Pathogenic Mechanisms of Post-Myocardial Infarction depression. *European Journal of Morphology* 37:257-266.

TerHorst G, Boer Pd, Luiten P, Willigen Jv (1989): Ascending projections from the solitary tract nucleus to the hypothalamus. A Phaseolus vulgaris lectin tracing study in the rat. *Neuroscience* 31:785-797.

TerHorst G, Brink AVd, Homminga S, Hautwast R, Rakhorst G, Mettenleiter T, et al (1993): Transneuronal viral labelling of rat heart left ventricle controlling pathways. *Neuroreport* 4:1307-13010.

Toschi V, Gallo R, Lettino M, Fallon J, Gertz S, Fernandez-Ortiz A, et al (1997):

Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques

Circulation 95:594 -599.

Tsigos C, Chrousos GP (2002): Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 53:865-871.

Tsujimoto Y (1998): Role of Bcl-2 family proteins in apoptosis: apoptosomes or mitochondria? *Genes Cells* 3:697-707.

Uno H, Tarara R, Else J (1989): Suleman MA, Sapolsky RM: Hippocampal damage associated with prolonged and fatal stress in primates. *J Neurosci* 9:1705-1711.

Valentine AD, Meyers CA, Kling MA, Richelson, E, Hauser P (1998): Mood and cognitive side-effects of interferon-a therapy. *Sem Oncol* 25:S39-S47.

VanderKooy D, Koda L, McGinty J, Genfer C, Bloom F (1984): The organization of projections from the cortex, amygdala and hypothalamus to the nucleus of the solitary tract in rat *J Comp Neurol* 224 1-24.

Vanhaesebroeck B, Alessi R (2000): The PI3K-PDK1 connection : more than just a road to PKB. *Biochem J* 346:561±576.

Vanni-Mercier M, Sakai K, Jouvet M (1984): Neurones spécifiques de l'éveil dans l'hypothalamus postérieur du chat, C. R. *Acad Sci Paris* 298:195-200.

Vaugeois J-M, Yacoubi ME, Costentin J (2004): À propos d'un modèle animal de la dépression. *Ann Pharm Fr* 62:332-342.

Viola A (2004): La Variabilité Cardiaque au Cours des Cycles de Sommeilchez l'Homme: un Test d'Evaluation de l'Activité du Système Nerveux Autonome

Wang X (2001): The expanding role of mitochondria in apoptosis *Genes Dev* 15:2922–2933.

Wann B, Bah T, Boucher M, Sevan K, Lemarec N, Rousseau G, et al (2006a): Vulnerability for apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: a possible model for human post-infarct major depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*.

Wann B, Bah T, Boucher M, Sevan K, Lemarec N, Rousseau G, et al (2007): Vulnerability for apoptosis in the limbic system following myocardial infarction: a possible model for human post-infarct major depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*.

Wann B, Béland S, Rousseau G, Godbout R (2004): Permeability in the limbic system following myocardial infarction in the rat. *Society for Neuroscience Abstracts* Program No. 568.4.

- Wann B, Boucher M, Kaloustian S, Nim S, Godbout R, Rousseau G (2006b): Apoptosis Detected in the Amygdala Following Myocardial Infarction in the Rat. *Biological Psychiatry* 59:430-433.
- Weiss J, Kilts C (1998): *Animal models of depression and schizophrenia*. In: Nemeroff C, Schatzberg A, editors. *Textbook of psychopharmacology*. New York, NY: American Psychiatric Association Press.
- Weisse CS (1992): Depression and immunocompetence, a review of the literature. *Psych Bull* 111:475-489.
- West A (1990): Neurobehavioral studies of forced swimming: the role of learning and memory in the forced swim test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 14:863-877.
- Whalen P, Rauch S, Etcoff N, McInerney S, Lee M, Jenike M (1998): Masked presentations of emotional facial expressions modulate amygdala activity without explicit knowledge. *J Neurosci* 18:411-418.
- Wichers M, Maes M (2004): The role of indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) in the pathophysiology of interferon-alpha-induced depression. *J Psychiatry Neurosci* 29:11-17.

- Willner P (1984): The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology* 83:1-16.
- Willner P (1997): Validity, reliability, and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation *Psychopharmacology* 134:319-329.
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R (1987): Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant *Psychopharmacology* 93 358- 364.
- Wilson F, Scaldie S, Goldman-Rakic P (1993): Dissociation of object and spatial processing domains in primate prefrontal cortex. *Science* 25:1955-1958.
- Winer BJ (1971): *Statistical principles in experimental design*, 2nd edition ed. New-York: McGraw-Hill.
- Xiao C, Hara A, Yuhki K, Fujino T, Ma H, Okada Y, et al (2001): Roles of prostaglandin I(2) and thromboxane A(2) in cardiac ischemia- reperfusion injury: a study using mice lacking their respective receptors. . *Circulation* 104:2210- 2215.
- Yasui Y, Breder C, Saper C, Cechetto D (1991a): Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *J Comp Neurol* 303 355-374.

- Yasui Y, Breder C, Saper C, Cechetto D (1991b): Autonomic responses and efferent pathways from the insular cortex in the rat. *J Comp Neurol* 303:355- 374.
- Yeragani V, Pohl R, Balon CR, Ramesh, Glitz D, Weinberg P, et al (1992): Effect of imipramine treatment on heart rate variability measures. *Neuropsychobiology* 26:27-32.
- Yi-Wen R, Bende Z, Yuan F, Yan L, Nan L, Yuchun Z, et al (2006): Morphological heterogeneity of CA1 pyramidal neurons in response to ischemia. *J Neurosci Res*.
- Yu B, Shinnick-Gallagher P (1994): Interleukin-1 beta inhibits synaptic transmission and induces membrane hyperpolarization in amygdale neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 271:590-600.
- Zola-Morgan S, Squire L, Amaral D (1986): Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus. *J Neurosci* 6:2950-2967.

