

**ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ**  
**CNRS UPR3212 – Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives**

**THÈSE** présentée par :

**Pierre-Alexis DERRIEN**

soutenue le : **13 octobre 2023**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'Université de Strasbourg**

Discipline/ Spécialité : **Neurosciences**

**Altérations de la voie  
dopaminergique mésolimbique  
dans un modèle murin de dépression  
induite par la douleur chronique**

**THÈSE dirigée par :**

**M. BARROT Michel**

Directeur de recherche, INCI CNRS  
Université de Strasbourg, France

**RAPPORTEURS :**

**M. FOSSAT Pascal**

Professeur, IMN CNRS,  
Université de Bordeaux, France

**Mme COIZET Véronique**

Chargée de recherche, INSERM U1216  
Université de Grenoble, France

**AUTRES MEMBRES DU JURY :**

**M. POISBEAU Pierrick**

Professeur, INCI CNRS,  
Université de Strasbourg, France

**INVITÉS :**

**Mme KAUFILING Jennifer**

Chargée de recherche, INCI CNRS  
Université de Strasbourg, France

**Mme BELUJON Pauline**

Maître de conférences, INSERM U-108  
Université de Poitiers, France

## Remerciements

---

### **Aux membres du jury,**

Je remercie le Professeur Pierrick Poisbeau, ainsi que les Dr. Pascal Fossat, Véronique Coizet et Pauline Belujon qui ont accepté de consacrer de leur précieux temps à l'évaluation de ce travail.

### **Au Dr. Jennifer Kaufling,**

J'ai mis du temps à trouver mes mots pour te remercier de tout ce que tu m'as apporté, tant d'un point de vue scientifique que personnel. Sans toi, je ne serais ni le chercheur, ni l'homme que je suis actuellement. Depuis mon arrivée à l'INCI en M1, et malgré mes lacunes et nos caractères parfois conflictuels, tu m'as tout appris de ce domaine dont j'étais étranger. Tu m'as accompagné pendant toute la durée de ce travail, dans les bons moments mais aussi dans les périodes compliquées, me permettant de ne jamais abandonner malgré toutes les difficultés. Je ne peux que te remercier pour ta patience, ta bienveillance à mon égard, ainsi que les nombreux conseils que tu m'as prodigués tout au long de ces six années. J'espère te rendre fière aujourd'hui et que nous continuerons de travailler encore un moment ensemble. Merci pour tout, vraiment. Je ne saurais comment exprimer plus clairement que je suis honoré d'avoir pu être formé par une chercheuse si brillante et une personne si inspirante.

### **Au Dr. Michel Barrot,**

Je tiens à vous remercier particulièrement pour vos enseignements précieux et la rigueur que vous avez réussis à instaurer chez moi. Sans votre connaissance inestimable et votre recul scientifique sur ce projet, nous ne serions sûrement pas arrivés à son terme.

### **A l'équipe Barrot-Yalcin,**

Je tiens à remercier l'ensemble des membres de l'équipe qui ont contribué de près ou de loin à ce projet. Notamment, Benjamin, Robin et Quentin qui ont directement participé aux expériences, au Dr Mélanie Kremer et Ipek Yalcin pour leur aide indispensable sur la mise en place et l'évaluation des modèles de comportements, au Dr Victor Mathis pour m'avoir formé aux techniques de photométrie de fibre ouvrant de nouvelles possibilités à ce projet. Mais aussi, à l'ensemble des membres de mon bureau : Alba, Marilou, Camille, Susana.

Merci aussi au Chronobiotron, notamment Dominique Ciocca, Sophie Reibel et Stéphane Doridot pour votre travail sur l'hébergement et la gestion des animaux, ainsi qu'à Yannick Goumon et Virginie Andry de la plateforme de Spectrométrie de Masse de l'INCI.

## **A mes amis et ma famille,**

Enfin ,je remercie chaleureusement ma famille qui m'a permis de vivre cette belle aventure et m'a soutenu tout au long de mes projets, et en particulier Thomas, qui est venu sauver les analyses de ce projet. Ce fut deux mois de cohabitation rude et je sais que je n'étais pas le plus simple à vivre durant cette période, mais sache que je suis fier de tout le travail que tu as réalisé en si peu de temps,merci encore pour tout.

Je remercie aussi tous mes amis et membres d'Abject Act. Vous êtes devenus au fil des années une vraie seconde famille. Qui aurait cru qu'on en arriverait là quand on a démarré ce projet au début de ce doctorat. Vous m'avez permis de souffler et de garder la tête sur les épaules tout au long de ces quatre longues années : Notamment David, Arnaud, Louis, Thomas et Lucie, merci pour votre soutien et votre confiance inébranlable en moi. Maintenant que cette aventure scientifique est terminée, il nous reste de grands et nouveaux projets à accomplir. A Berry, Justine, Julie, Mag et Semih, mes confidents et amis ,toujours présents et à mon écoute.

## **INTRODUCTION** **1**

---

<b>1. LA DOULEUR</b>	<b>1</b>
1.1. Définition de la douleur	1
1.2. Voies ascendantes de la douleur (structures principales)	2
1.3. La douleur chronique	4
1.4. La douleur neuropathique	6
1.5. Etudier la douleur	9
1.5.1. Comment évaluer la douleur chez les rongeurs ?	9
1.5.2. Les modèles de douleurs	12
1.5.2.1. Les modèles de douleurs aiguës	12
1.5.2.2. Les modèles de douleurs chroniques	13
1.5.2.2.1. Modèles de douleurs inflammatoires	13
1.5.2.2.2. Modèles de douleurs neuropathiques	14
<b>2. LA DEPRESSION</b>	<b>17</b>
2.1. Définition de la dépression	17
2.2. Étiologies de la dépression	18
2.2.1. Hypothèse monoaminergique de la dépression	19
2.2.2. Implication de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) dans la dépression	19
2.2.3. Hypothèse neuro-inflammatoire de la dépression	20
2.2.4. Altérations morphologiques dans la dépression	23
2.2.5. Cas de la comorbidité douleur-dépression	24
2.3. Evaluer la dépression chez les animaux	25
2.3.1. Tests d'évaluation de l'anxiété chez les rongeurs	27
2.3.2. Tests d'évaluation des altérations des fonctions cognitives associées à un phénotype anxiodépressif chez le rongeur	28
2.3.3. Considérations sur les tests	28
2.4. Les modèles de dépression chez le rongeur	29
2.4.1. Modèles de stress environnemental	29
2.4.2. Modèles de stress social	33
2.4.3. Modèles de comorbidité douleur-dépression	35
<b>3. POURQUOI ETUDIER LE SYSTEME DOPAMINERGIQUE DANS LA COMORBIDITE DOULEUR-DEPRESSION ?</b>	<b>38</b>
<b>4. LE SYSTEME DOPAMINERGIQUE MESOLIMBIQUE</b>	<b>40</b>
4.1. La dopamine	40
4.2. Les aires dopaminergiques du cerveau	40
4.3. L'aire tegmentale ventrale (VTA)	42
4.3.1. Découverte et fonction	42

4.3.2.	Divisions anatomiques de la VTA	42
4.3.3.	Division fonctionnelle de la VTA	44
4.3.4.	Hétérogénéité cellulaire de la VTA	44
4.3.4.1.	Les neurones dopaminergiques de la VTA	45
4.3.4.1.1.	Caractéristiques électrophysiologiques	47
4.3.4.1.2.	Régulation de l'activité des neurones DA de la VTA	48
4.3.4.2.	Les neurones GABAergiques de la VTA	50
4.3.4.3.	Les neurones glutamatergiques de la VTA	51
4.3.4.4.	Les neurones mixtes de la VTA	52
4.3.5.	Connectivité de la VTA	52
4.3.5.1.	Efférences de la VTA	52
4.3.5.2.	Afférences de la VTA	53
4.3.6.	VTA et douleur aiguë	55
4.3.7.	VTA et douleur neuropathique	56
4.3.8.	VTA et dépression	59
4.3.9.	VTA et comorbidité douleur-dépression	62
4.4.	Le Noyau Accumbens (NAc)	63
4.4.1.	Neuroanatomie et Fonction	63
4.4.2.	Altérations du NAc lors de douleurs	64
4.4.3.	Altérations du NAc lors de la dépression	66
<b>5.</b>	<b>OBJECTIFS DE THESE</b>	<b>69</b>
<b>MATERIEL ET METHODES</b>		<b>70</b>
<b>1.</b>	<b>METHODES RELATIVES A L'ENSEMBLES DES PROCEDURES</b>	<b>72</b>
1.1.	Animaux	72
1.2.	Chirurgie du cuff	72
1.3.	Injection virale intra-cérébrale	75
1.4.	Evaluation comportementale	76
1.4.1.	Test de von Frey	76
1.4.2.	Test de pulvérisation d'eau sucrée (Test du Splash)	77
1.4.3.	Test de nage forcée (FST)	77
<b>2.</b>	<b>METHODES RELATIVES A L'EXPERIENCE 1 :</b>	<b>78</b>
	<b>ENREGISTREMENT DE L'ACTIVITE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DES NEURONES DA DE LA VTA</b>	
2.1.	Electrophysiologie in vivo	78
2.1.1.	Chirurgie	78
2.1.2.	Enregistrement in vivo des neurones dopaminergiques de la VTA	80
2.1.3.	Localisation anatomique des enregistrements	82

2.2.	Méthodes d'analyses	83
2.2.1.	Détection des potentiels d'action	83
2.2.2.	Analyse de l'activité tonique et phasique des neurones DA de la VTA	84
2.2.3.	Mise en évidence de sous-populations de neurones DA de la VTA	89
2.2.3.1.	Sous-populations en fonction de la présence d'une activité phasique	90
2.2.3.2.	Sous-populations en fonction de la localisation anatomique	91
2.2.3.3.	Sous-populations en fonction des paramètres électrophysiologiques : analyse en composante principale	91
2.2.3.4.	Sous-populations en fonction des paramètres électrophysiologiques : analyse par régression non linéaire	92
<b>3.</b>	<b>METHODES RELATIVES A L'EXPERIENCE 2 :</b>	
	<b>EVALUATION DES CONCENTRATIONS DE DOPAMINE DANS LA VTA ET LE NAC.</b>	<b>97</b>
3.1.	Préparation et extraction des échantillons	97
3.2.	Dosage des protéines par la méthode de Bradford	97
3.3.	Dérivation par la méthode de Dansylation	99
3.4.	Dérivation par la méthode ACCq-Tag	99
3.5.	Analyse des échantillons par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide haute pression(HPLC)	99
<b>4.</b>	<b>METHODES RELATIVES A L'EXPERIENCE 3 :</b>	<b>102</b>
	<b>EVALUATION DE LA DYNAMIQUE DE DOPAMINE DANS LE NAC EN REPONSE A DES STIMULATIONS DE LA VTA.</b>	
4.1.	Enregistrement par photométrie de fibre de la dynamique de libération de DA dans le NAc chez l'animal éveillé	102
4.2.	Méthodes d'analyses	104
<b>5.</b>	<b>STATISTIQUES</b>	<b>109</b>
<b>RESULTATS</b>		<b>110</b>
<hr/>		
<b>1.</b>	<b>EXPERIENCE 1 :</b>	<b>110</b>
	<b>IDENTIFICATION DES ALTERATIONS DE L'ACTIVITE ELECTROPHYSIOLOGIQUE DES NEURONES DA DE LA VTA LORS DE L'EXPRESSION DE LA COMORBIDITE DOULEUR-DEPRESSION.</b>	
1.1.	Évaluation comportementale de la comorbidité douleur-dépression	110
1.1.1.	Évaluation de l'évolution du seuil de sensibilité mécanique	110
1.1.2.	Évaluation des comportements de types dépressifs	110
1.2.	Évaluation de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA	112
1.2.1.	Activité totale et tonique réelle	112
1.2.2.	Activité phasique	115
1.2.3.	Activité des neurones DA de la VTA en fonction de leur localisation anatomique dans la VTA	118
1.2.3.1.	Activité totale et tonique réelle des neurones antérieurs et postérieurs de la VTA	118

1.2.3.2. Activité phasique des neurones antérieurs et postérieurs de la VTA	121
1.2.4. Clustérisations des neurones DA de la VTA en fonction de leurs paramètres électrophysiologiques (Analyse en composante principale 1 PCA1)	123
1.3. Identification de sous-populations de neurones DA de la VTA en fonction de leurs paramètres électrophysiologiques (Modèle de régression)	126
1.3.1. Clustérisation des sous-populations des neurones DA de la VTA en fonction des modèles de régression (Analyse en composante principale 2 PCA2)	131
1.3.2. Activité totale et tonique réelle des sous-populations des neurones DA de la VTA en fonction des clusters de la PCA2	134
1.3.3. Activité phasique des sous-populations des neurones DA de la VTA en fonction des clusters de la PCA2	134
<b>2. EXPERIENCE 2 :</b>	<b>138</b>
<b>EVALUATION DES CONCENTRATIONS DE DOPAMINE DANS LA VTA ET LE NAC.</b>	
2.1.1. Évaluation comportementale de la comorbidité douleur-dépression	138
2.1.1.1. Évaluation de l'évolution du seuil de sensibilité mécanique	138
2.1.1.2. Évaluation des comportements de types dépressifs	138
2.1.2. Mesure de la concentration de dopamine et de ses métabolites	138
2.1.2.1. Concentrations dans la VTA	138
2.1.2.2. Concentrations dans le NAc	140
<b>3. EXPERIENCE 3 :</b>	<b>142</b>
<b>EVALUATION DE LA DYNAMIQUE DE DOPAMINE DANS LE NAC EN REPONSE A DES     STIMULATIONS DE LA VTA.</b>	
3.1.1. Évaluation comportementale de la comorbidité douleur-dépression	142
3.1.1.1. Évaluation de l'évolution du seuil de sensibilité mécanique	142
3.1.1.2. Évaluation des comportements de types dépressifs	142
3.2. Analyse de la dynamique de libération de dopamine dans le NAc en réponse aux stimulations optogénétiques de la VTA	144
3.2.1. Effet des différentes fréquences de stimulation de la VTA sur la dynamique de libération de DA dans le NAc après la chirurgie du Cuff	144
3.2.2. Effet du développement temporel de la comorbidité douleur-dépression sur la dynamique de libération de DA dans le NAc en réponse à la stimulation de la VTA à 40 Hz	147
<b>DISCUSSION</b>	<b>150</b>
<b>1. RESUME DES RESULTATS</b>	<b>150</b>
<b>2. CONSIDERATIONS METHODOLOGIQUES</b>	<b>152</b>
2.1. Considérations relatives aux animaux	152
2.2. Considérations relatives à l'évaluation comportementales des animaux	153

2.3.	Considérations relatives aux enregistrements électrophysiologiques <i>in vivo</i>	154
2.3.1.	Acquisitions des données	154
2.3.2.	Méthodes de détections de l'activité phasique	155
2.3.3.	Apports des méthodes d'analyses multidimensionnelles	156
<b>3.</b>	<b>CONSIDERATIONS SCIENTIFIQUES</b>	<b>157</b>
3.1.	Evaluation de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA	157
3.2.	Evaluation de la concentration de la dopamine et de ces métabolites dans la VTA et le NAc	161
3.3.	Evaluation de la libération de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations optogénétique de la VTA	162
3.4.	Perspectives de recherches	164
3.5.	Implication de la voie habénulo-tegmentale	165
<b>CONCLUSION</b>		<b>170</b>
<b>REFERENCES</b>		<b>171</b>
<b>ANNEXES</b>		<b>207</b>

## Liste des abréviations

<b>3-MT</b>	3-méthoxytyramine	<b>FScV</b>	voltamétrie cyclique à balayage rapide
<b>5-HT</b>	sérotonine	<b>FST</b>	de nage forcée
<b>AP</b>	antéro - postérieur	<b>GAD</b>	glutamate décarboxylase
<b>AUC</b>	l'aire sous la courbe	<b>GFP</b>	green-fluorescent-protein
<b>AVC</b>	accident vasculaire cérébrale	<b>Gs</b>	protéines G stimulatrices
<b>aVTA</b>	VTA antérieure	<b>GS</b>	sérum de chèvre
<b>BDNF</b>	facteur neurotrophique issu du cerveau	<b>HPA</b>	axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien
<b>BNST</b>	noyau du lit de la strie terminale	<b>HPLC</b>	chromatographie liquide haute pression
<b>CCI</b>	modèle de constriction chronique du nerf sciatique	<b>HVA</b>	acide homovanillique
<b>CeA</b>	l'amygdale centrale	<b>IDO</b>	indoléamine-2,3-dioxygénase
<b>CFA</b>	L'adjuvant complet de Freund	<b>IF</b>	noyau interfasciculaire
<b>CGRP</b>	peptides associés au gène de la calcitonine	<b>IL</b>	interleukine
<b>CLi</b>	noyau linéaire caudal	<b>IMAO</b>	inhibiteurs des monoamine oxydases
<b>CMS</b>	modèle du stress chronique léger	<b>IP</b>	noyau interpedonculaire
<b>COMT</b>	catéchol-O-méthyltransférase	<b>IPSC</b>	courants post synaptique inhibiteur
<b>CRH</b>	corticolibérine	<b>ISI</b>	inter-spike interval
<b>CSF</b>	liquide cérobrospinal	<b>KYN</b>	kynurénine
<b>DA</b>	dopaminergiques	<b>LC</b>	locus cœruleus
<b>DAT</b>	transporteur de la dopamine	<b>LD</b>	test du clair-obscur
<b>DBS</b>	stimulation intracérébrale profonde	<b>LH</b>	hypothalamus latéral
<b>DDC</b>	DOPA décarboxylase	<b>LH</b>	modèle désespoir acquis
<b>DOPAC</b>	-acide 3,4-dihydroxyphénylacétique	<b>LHb</b>	habénula latérale
<b>DR</b>	raphé dorsal	<b>LPB</b>	noyau parabrachial latéral
<b>DS</b>	striatum dorsal	<b>LPS</b>	lipopolysaccharides
<b>DV</b>	dorso-ventral	<b>LTP</b>	potentialisation synaptique à long terme
<b>EDC</b>	épisode dépressif caractérisé	<b>MAO</b>	monoamine oxydases
<b>EEG</b>	électroencéphalographique	<b>ML</b>	médio-latéral
<b>EPM</b>	test du labyrinthe en croix surélevé	<b>mPFC</b>	cortex pré frontal médian
<b>EZM</b>	elevated zero-maze	<b>MSN</b>	neurones épineux moyens

<b>MVPO</b>	noyau préoptique magnocellulaire	<b>Sc</b>	sous-cutané
<b>NAc</b>	noyau accumbens	<b>SCI</b>	modèle de lésion de la moelle épinière
<b>NAD+</b>	nicotinamide adénine dinucléotide	<b>SNc</b>	substance noire compacte
<b>NGF</b>	facteur de croissance nerveuse	<b>SNI</b>	modèle de lésion nerveuse épargnée
<b>NLRP3</b>	domaine de pyrine 3	<b>SNL</b>	modèle de ligature de nerf spinal
<b>NS</b>	neurones spécifiques à la nociception	<b>STN</b>	noyau sous-thalamique
<b>NSF</b>	test d'hyponéopragie	<b>TDO</b>	tryptophane-2,3-dioxygénase
<b>OF</b>	champ ouvert	<b>TH</b>	tyrosine hydroxylase
<b>P2Y</b>	purinorécepteur 2	<b>TLR</b>	récepteur de la voie toll
<b>PA</b>	potentiels d'action	<b>TST</b>	Tail Suspension Test
<b>PAG</b>	substance grise périaqueducale	<b>tVTA</b>	queue de l'aire tegmentale ventral
<b>PBP</b>	noyau <i>parabrachial pigmentosus</i>	<b>VAS</b>	échelle analogique visuelle
<b>PBS</b>	tampon phosphate salin	<b>VGAT</b>	transporteur vésiculaire du GABA
<b>PBS-T</b>	tampon phosphate salin- triton	<b>vIPAG</b>	PAG ventrolatérale
<b>PCA</b>	analyse en composante principale	<b>VP</b>	pallidum ventral
<b>PFC</b>	cortex pré frontal	<b>VSG</b>	échelle d'évaluation graphique
<b>piONT</b>	modèle de de transection partielle du nerf infraorbital	<b>VTA</b>	l'aire tegmentale ventrale
<b>PN</b>	noyau paranigral	<b>WDR</b>	neurones à large bande dynamique
<b>PNI</b>	modèle de lésion nerveuse partielle		
<b>PPN</b>	noyau pédonculopontin		
<b>PSNL</b>	modèle de ligature partielle du nerf sciatique		
<b>pVTA</b>	VTA postérieure		
<b>QUIN</b>	l'acide quinoléique		
<b>rAMPA</b>	récepteurs à l'acide $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique		
<b>RcpG</b>	récepteurs couplés aux protéines G		
<b>RLi</b>	noyau linéaire rostral		
<b>RMTg</b>	rostromedial tegmental nucleus		
<b>RPE</b>	erreur de prédiction de récompense		
<b>rTMS</b>	magnétique transcrâniale répétitive		
<b>RVM</b>	complexe bulbaire ventrolatéral rostral		

# Introduction

## 1. La Douleur

### 1.1. Définition de la douleur

La douleur est une sensation et une émotion connue par tous. Elle est définie comme une « expérience sensorielle et émotionnelle désagréable, associée à une lésion tissulaire réelle ou potentielle, ou décrite en des termes évoquant une telle lésion » (International Association for the Study of Pain, IASP) et possède plusieurs composantes. La douleur est toujours une expérience personnelle, influencée à des degrés divers par des facteurs biologiques, psychologiques et sociaux. De plus, le concept de douleur est appris par les individus au cours de leurs expériences de vie, et l'expression d'une expérience douloureuse par un individu doit toujours être respectée. Il est important de ne pas confondre la douleur et la nociception, le processus neuronal d'encodage d'un stimulus nociceptif. En effet, la douleur ne peut être réduite à la seule activité des neurones sensoriels. La description verbale n'est qu'un des nombreux comportements permettant d'exprimer la douleur et l'incapacité à communiquer n'exclut pas la possibilité qu'un être humain ou qu'un animal éprouve de la douleur. Elle possède un rôle d'adaptation crucial pour les individus et son absence totale augmente le risque de blessure grave et le taux de mortalité (Inani & Mernissi, 2014). Néanmoins, des effets néfastes sur le bien-être psychologique et social peuvent apparaître lorsque la fonction adaptative de la douleur est altérée.

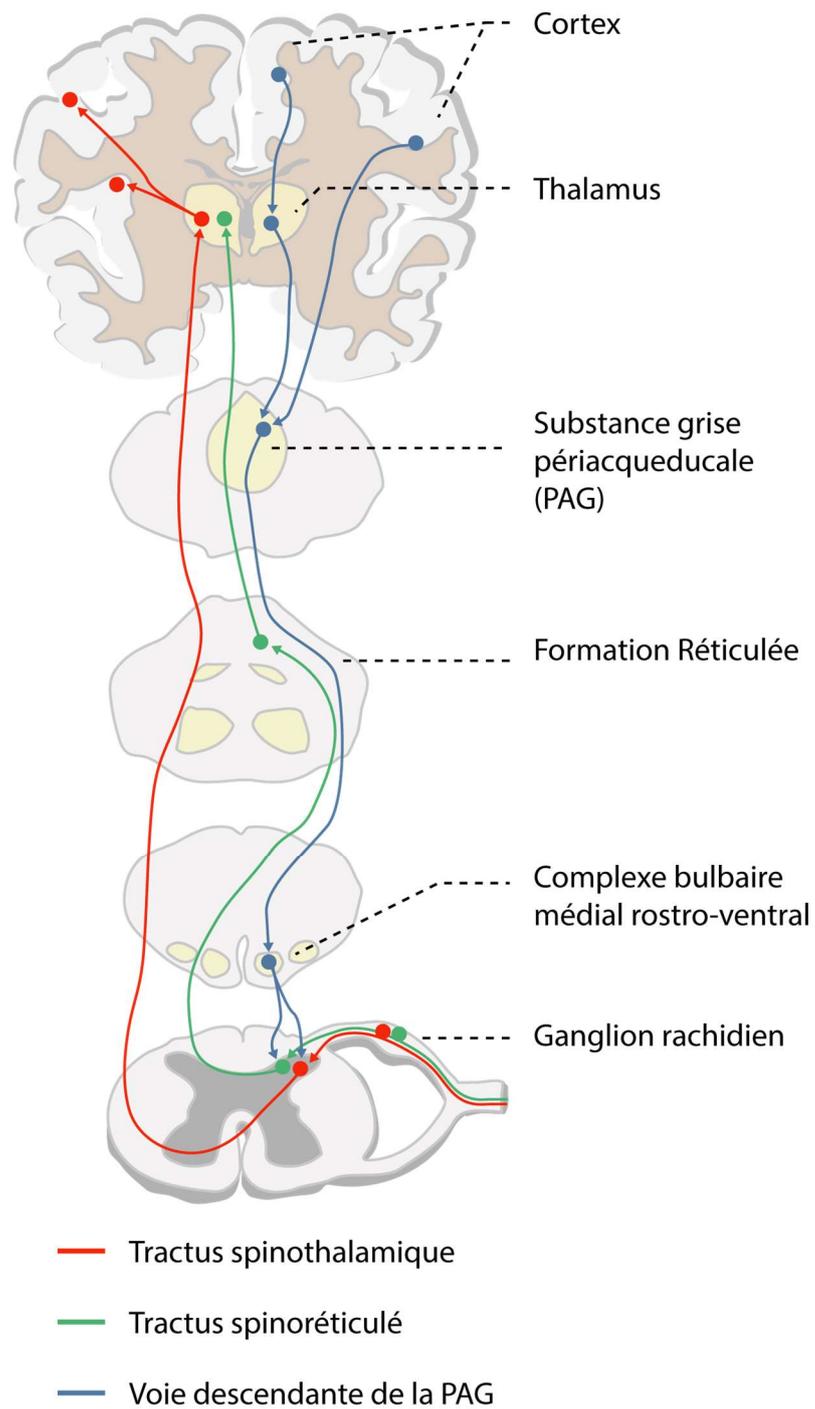
La douleur aiguë survient soudainement, commence par être vive ou intense et sert de signe d'alerte d'une maladie ou d'une menace pour l'organisme. Elle est causée par une blessure, une maladie, un traumatisme, une intervention chirurgicale ou des procédures médicales douloureuses et dure généralement de la seconde à quelques mois. La douleur aiguë disparaît généralement lorsque la cause sous-jacente est traitée ou guérie (IASP). C'est ainsi que la douleur aiguë est un signal physiologique d'alarme permettant de détecter et de minimiser les contacts avec des stimulus nuisibles ou dangereux. C'est par exemple la douleur ressentie après avoir touché quelque chose de trop chaud, froid ou pointu. Cette douleur dite « nociceptive » est provoquée uniquement par des stimulus de forte intensité activant les nocicepteurs. La lésion d'un tissu ou la présence d'une infection va entraîner un état inflammatoire qui peut aussi être à l'origine d'une douleur aiguë. Cet état va décourager les mouvements et contacts avec la zone douloureuse permettant à la région de guérir plus efficacement en la laissant au repos (Woolf, 2010).

## 1.2. Voies ascendantes de la douleur (structures principales)

Afin de détecter les stimulus potentiellement dommageables, l'organisme dispose de neurones spécialisés dans leur identification : les nocicepteurs. Ces neurones dont le corps cellulaire est localisé dans les ganglions rachidiens sont séparés en deux grandes sous-catégories : les mécanorécepteurs à seuil élevé et les nocicepteurs polymodaux. Les mécanorécepteurs vont répondre uniquement aux déformations mécaniques des tissus. Les nocicepteurs polymodaux vont répondre à une grande variété de stimulus grâce à deux mécanismes d'activation. Le premier consiste en l'activation de récepteurs couplés à des protéines G par une variété de composés tels que les cytokines, la bradykinine, les prostaglandines, les leucotriènes ou la sérotonine (Steeds, 2016). Le second mécanisme d'activation va permettre à des stimulus, tels que la chaleur, le froid, les protons ou l'histamine, d'agir directement sur des récepteurs canaux exprimés par ces neurones (Mobarakeh et al., 2000 ; Tominaga & Tominaga, 2005). Il existe un troisième type de nocicepteurs, localisés spécifiquement au niveau des viscères, les nocicepteurs silencieux. Ces derniers ne vont pas répondre aux stimulus nociceptifs et ne sont activés que par des médiateurs chimiques de la réaction inflammatoire (Nees et al., 2022 ; Schmidt, 2007). Cet ensemble de neurones sensoriels vont alors permettre au corps de capter de manière multimodale l'information nociceptive qu'il va ensuite falloir transmettre de la périphérie jusqu'au système nerveux central.

Pour cela, les fibres A $\delta$  et C vont conduire l'information jusqu'aux neurones de premier ordre dans la moelle épinière. Ces types de fibres ne transmettent pas que des informations nociceptives, certaines peuvent aussi transmettre des informations sensorielles liées au toucher et à la chaleur non nociceptive. Les fibres A $\delta$  sont des fibres myélinisées transmettant les informations mécano-thermiques rapidement en comparaison des fibres C, non myélinisées, qui transmettent plus lentement les informations mécaniques, thermiques et chimiques (A $\delta$  : 2 à 20 m/s ; C : < 2 m/s). Les fibres C ont un plus petit diamètre que les fibres A $\delta$  (A $\delta$  : 1 à 5  $\mu$ m contre C : 0,2  $\mu$ m à 1,5  $\mu$ m) (Yam et al., 2018). Une fois arrivées dans la moelle épinière, les informations sont transmises à différents types de neurones de premier ordre : les neurones spécifiques à la nociception (NS), activés uniquement par un stimulus nociceptif de haute intensité, les neurones à large bande dynamique (WDR), activés par une variété de stimulus sensoriels, et les neurones à bas seuil, qui ne sont activés que par des stimulus non nociceptifs. Les corps cellulaires de ces neurones sont localisés dans différentes couches de la corne dorsale de la moelle épinière. Ceux des neurones NS sont situés dans les lamina, I, II et III, et ceux des neurones WDR, plus profondément au niveau des lamina V et VI (Yam et al., 2018).

L'information est ensuite acheminée par deux voies principales jusqu'au thalamus, un groupe de noyaux glutamatergiques situé dans le diencephale (Yen et al., 1985). La première voie, le tract spinothalamique, transmet les informations relatives à l'intensité, la durée et la localisation du stimulus au noyau ventropostérolatéral du thalamus. Les informations associées aux émotions



**Figure 1. Illustration des voies ascendantes et descendantes de la douleur.**  
*D'après : Cioffi, 2017*

désagréables sont transmises par le tractus spino-réticulé vers la partie médiale du thalamus (Al-Khater & Todd, 2009 ; Todd, 2010).

Le thalamus agit alors comme un « hub », redistribuant l'information aux différentes aires corticales par le biais des projections de neurones dits de second ordre. Le cortex sensoriel primaire et secondaire, le cortex cingulaire antérieur, le cortex insulaire et le cortex préfrontal intègrent ensuite les signaux nociceptifs aux informations contextuelles et émotionnelles pour créer la douleur perçue par l'individu (Groenewegen, 1988 ; Ray & Price, 1993 ; Chang & Shyu, 2001 ; Gauriau & Bernard, 2004 ; Jasmin et al., 2004 ; Wang & Shyu, 2004). Une version simplifiée de ces voies est illustrée **Figure.1**.

De nombreux mécanismes biologiques permettent de moduler ou modifier la perception de la douleur. Par exemple, Melzack et Wall ont décrit en 1965 le mécanisme de « gate control » dans la corne dorsale de la moelle épinière, qui permet d'inhiber la transmission de l'information nociceptive au niveau de la lamina II par l'intermédiaire d'interneurones inhibiteurs (Melzack & Wall, 1965). Ces interneurones sont activés par les fibres A $\beta$ , fibres myélinisées de gros diamètre transmettant l'information liée au toucher, et ce mécanisme pourrait être à l'origine du réflexe naturel des individus de toucher et frotter une zone après une stimulation nociceptive (Sharpey-Schäfer, 1900). Des projections sérotonergiques et noradrénergiques provenant respectivement des noyaux du raphé et du locus cœruleus (LC), et sous le contrôle de la substance grise périaqueducule (PAG), peuvent également activer ces interneurones de la lamina II permettant une modulation par les centres supraspinaux (Bannister & Dickenson, 2020). Pour terminer sur les mécanismes de modulation de la douleur, le système opioïde en est aussi un acteur important. Ce système possède à la fois une action locale, en inhibant directement la transmission nerveuse dans la moelle épinière, mais aussi une action supraspinale en modulant l'activité de différentes aires cérébrales dont notamment celles impliquées dans l'intégration de l'information douloureuse (Bannister & Dickenson, 2020).

### 1.3. La douleur chronique

Quand la douleur persiste ou se répète pendant plus de 3 mois, celle-ci est qualifiée de chronique (Treede et al., 2015). Cette forme de douleur est pathologique, touche près de 20% de la population générale (Gureje et al., 1998 ; Goldberg & McGee, 2011) et concerne autant les femmes que les hommes. Elle dure au moins 2 ans pour plus de la moitié des patients et affecte en majorité les personnes de plus de 40 ans (Breivik et al., 2006). Les causes de ces douleurs sont multiples et se subdivisent en plusieurs sous-types (Treede et al., 2015) et les différentes prévalences sont illustrées **Figure.2** :

- La douleur chronique primaire : c'est une douleur chronique qui concerne une ou plusieurs régions anatomiques et se caractérise par une détresse émotionnelle significative (anxiété,

colère/frustration ou humeur dépressive) ou une incapacité fonctionnelle (interférence avec les activités de la vie quotidienne et participation réduite aux activités sociales) (IASP).

- La douleur post-traumatique ou postopératoire : c'est une douleur qui apparaît ou augmente en intensité après une intervention chirurgicale ou une lésion tissulaire (impliquant tout traumatisme, y compris les brûlures) et qui persiste au-delà du processus de guérison, c'est-à-dire au moins 3 mois après l'intervention chirurgicale ou la lésion tissulaire. La douleur est soit localisée au champ opératoire ou à la zone de la lésion, soit projetée sur le nerf situé dans cette zone, soit référée à un dermatome (après une intervention chirurgicale ou une lésion des tissus somatiques ou viscéraux profonds). Il convient d'exclure d'autres causes de douleur, telles que l'infection, la tumeur maligne, etc., ainsi que la douleur résultant d'un problème douloureux préexistant (IASP).

- La douleur chronique liée aux cancers : c'est une douleur chronique causée par le cancer primaire lui-même, par ses métastases ou par son traitement (chimiothérapie, radiothérapie, chirurgie...) (IASP).

- Les céphalées secondaires chroniques et les douleurs oro-faciales : ce sont tous les troubles liés aux céphalées et aux douleurs oro-faciales qui ont des causes sous-jacentes, qui surviennent sur au moins un jour sur deux pendant au moins trois mois et dont la durée de douleur par jour est d'au moins 2 heures (IASP).

- La douleur musculo-squelettique secondaire : Il s'agit d'un groupe hétérogène d'affections douloureuses chroniques ayant pour origine une nociception persistante dans les articulations, les os, les muscles, la colonne vertébrale, les tendons et les tissus mous apparentés, avec des étiologies locales et systémiques, mais également liées à des lésions somatiques profondes (exemple : l'arthrite rhumatoïde) (IASP).

- La douleur neuropathique : C'est une douleur spontanée ou évoquée liée à une lésion ou maladie du système somatosensoriel. Le système nerveux somatosensoriel fournit des informations sur le corps, notamment sur la peau, les organes musculo-squelettiques et viscéraux. Une lésion ou une maladie provoquant une douleur neuropathique peut impliquer des structures périphériques ou centrales du système nerveux somatosensoriel. La douleur peut être spontanée (continue ou épisodique) ou évoquée, sous la forme d'une réponse accrue à un stimulus douloureux (hyperalgésie) ou d'une réponse douloureuse à un stimulus normalement non douloureux (allodynie). Le diagnostic de douleur neuropathique nécessite des antécédents de lésion du système nerveux, par exemple un accident vasculaire cérébral ou un traumatisme nerveux, ou de maladie, par exemple une polyneuropathie diabétique, ainsi qu'une distribution neuroanatomique plausible de la douleur (IASP).

## Douleur Chronique

20% de la population

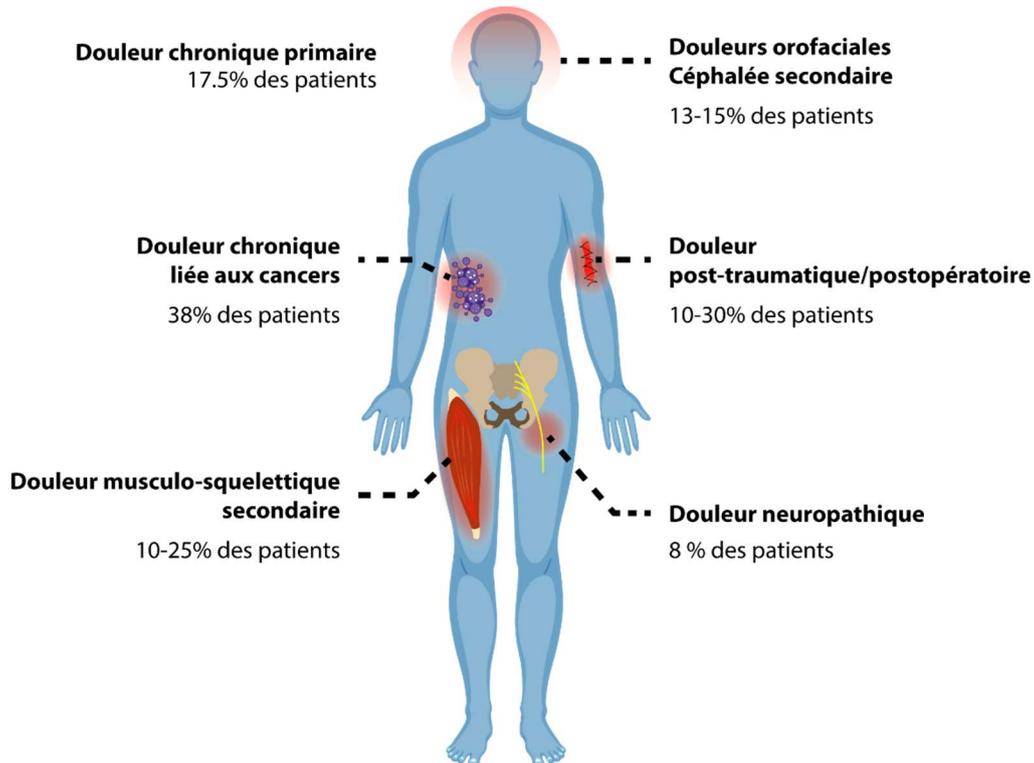


Figure 2. Illustration de la prévalence des douleurs chroniques.

### 1.4. La douleur neuropathique

Pour cette thèse, nous nous sommes particulièrement intéressés à la douleur neuropathique. Cette forme de douleur chronique touche entre 6 et 10% de la population générale et est plus fréquente chez les femmes (Bouhassira et al., 2008 ; Fayaz et al., 2016). Elle représente 1/5<sup>ème</sup> à 1/3 des patients souffrant de douleur chronique. Les symptômes de la douleur sont moins intenses, avec 5,1% des patients exprimant une gravité modérée à sévère, par rapport à la douleur chronique en général (19,9%). (Bouhassira et al., 2008). Cette forme de douleur présente un profil sociodémographique spécifique, avec un pic de patients entre 50 à 64 ans et une prévalence doublée chez les travailleurs manuels (Bouhassira et al., 2008). Ces douleurs, qu'elles soient continues ou intermittentes, sont dues à des changements structurels et/ou fonctionnels du système nerveux (Vranken, 2009) et leur durée est en général plus longue que pour d'autres formes de douleur chronique (Bouhassira et al., 2008). Les symptômes les plus courants (McCarberg et al., 2017) sont :

- L'hyperalgésie, qui est une exacerbation de la douleur en réponse à un stimulus provoquant une douleur dans des conditions normales.

- L'allodynie, qui est une réponse douloureuse à un stimulus n'entraînant pas de douleur dans des conditions normales.
- L'hypoalgésie, décrite comme une diminution de la réponse douloureuse à un stimulus normalement douloureux.
- La paresthésie, définie comme une sensation anormale, qu'elle soit évoquée ou spontanée.
- La dysesthésie, qui est une sensation anormale déplaisante, spontanée ou évoquée.
- L'hypoesthésie, décrite comme une diminution de la sensibilité aux stimulations.

La douleur neuropathique a des étiologies diverses, en fonction du site de la lésion nerveuse, et peut être caractérisée comme centrale ou périphérique.

L'une des étiologies les plus courantes est un traumatisme entraînant une compression, une lacération ou une ischémie d'un nerf, comme après une chute ou une intervention chirurgicale. En particulier, entre 20 et 50% des patients développent des symptômes neuropathiques après une intervention chirurgicale (Kehlet et al., 2006). Plus fréquemment, environ 40% des patients souffrant d'une lésion de la moelle épinière développent une allodynie et/ou une hyperalgésie chronique (P. J. Siddall et al., 2003). De plus, 53 à 85% des patients amputés présentent des cas d'altération des sensations ou des douleurs dans la région amputée ou dans des zones avoisinantes (Sadosky et al., 2008 ; Subedi & Grossberg, 2011).

Les radiculopathies constituent un vaste groupe de douleurs dues à des dommages nerveux au niveau spinal. Il s'agit des douleurs causées par une hernie discale, une sténose cervicale ou une dégénérescence des disques vertébraux. Les symptômes associés comprennent des douleurs, une faiblesse ainsi qu'un engourdissement des régions desservies par le nerf touché (Sadosky et al., 2008 ; Caridi et al., 2011). Le mal de dos chronique est une forme de radiculopathie lombaire défini comme une condition douloureuse mixte d'origine principalement neuropathique chez 37% des patients (Sadosky et al., 2008 ; Fishbain et al., 2014).

Les névralgies trigéminales sont des douleurs neuropathiques causées par une lésion ou une compression du nerf trijumeau par une veine, une artère ou une tumeur (Sadosky et al., 2008 ; Montano et al., 2015) ou dues aux conséquences d'une sclérose en plaques ou d'un accident vasculaire cérébral (AVC) (Sadosky et al., 2008). Les douleurs perçues sont soudaines, brèves, récurrentes et décrites comme des coups de poignard du côté du nerf lésé. Elles touchent environ 0,015% de la population générale et plus souvent des patients âgés (60-70 ans) (Bangash, 2011 ; Montano et al., 2015).

Le syndrome du canal carpien affecte près de 3% de la population générale (Sadosky et al., 2008) et provoque des symptômes neuropathiques tels qu'un engourdissement, une faiblesse, des picotements et des douleurs dans la main ou le coude, en raison de la compression du nerf médian

au niveau du poignet. L'origine de cette pathologie est multiple, mais est souvent due à une surutilisation de la main, une conséquence du diabète ou un trouble de la thyroïde (Mistry et al., 2009 ; Al-Homood, 2013 ; Franklin & Friedman, 2015). Les traitements mécaniques et chirurgicaux sont souvent suffisants pour soulager les symptômes douloureux.

En plus de ces étiologies touchant directement les nerfs, les douleurs neuropathiques peuvent apparaître comme une conséquence de diverses pathologies. Ainsi, le diabète provoque une polyneuropathie sensorimotrice symétrique chez près de 15% des diabétiques. (Boulton et al., 2005 ; Sadosky et al., 2008 ; Tesfaye et al., 2011). Les symptômes sont dus à une réduction du flux sanguin et à des niveaux élevés de glucose circulant, qui endommagent les tissus nerveux (Teskaye et al., 2011). Il s'ensuit une douleur « brûlante » dans les jambes et les pieds (Boulton et al., 2005 ; Tesfaye et al., 2011). Les dommages axonaux combinés à la neuro-inflammation et à la démyélinisation provoquées par la sclérose en plaques peuvent aussi conduire à une douleur neuropathique (Svendsen et al., 2003 ; Österberg et al., 2005). Près de 30% des patients vont ressentir des picotements, des sensations de piqûres et de brûlures douloureuses (Svendsen et al., 2003 ; Österberg et al., 2005). A la suite d'un AVC, le système nerveux central est endommagé par l'ischémie des tissus et jusqu'à 14% des patients vont développer des sensations de douleurs brûlantes, de froid glacial ou de coups de poignard (Siddall et al., 2003 ; Kumar et al., 2009). Cette réponse anormale aux sensations thermiques peut être localisée ou étendue à l'ensemble du corps, de manière intermittente ou continue (Kumar et al., 2009). Dans 39% des cas, les patients atteints de cancer développent également des douleurs neuropathiques dues à la compression et/ou l'infiltration d'un nerf par la tumeur ainsi qu'aux effets indésirables des traitements (radiation, chimiothérapie ou chirurgie) (Bennett et al., 2012). Pour terminer sur les origines des douleurs neuropathiques, les infections virales sont aussi impliquées. Notamment, les virus de l'herpès-zona et de l'immunodéficience humaine (HIV) qui entraînent des neuropathies douloureuses chez respectivement 7 à 27% (Sadosky et al., 2008 ; Massengill & Kittredge, 2014) et 30 à 38% (Verma et al., 2005 ; Sadosky et al., 2008) des patients.

Dans l'ensemble, cette variété d'étiologies montre clairement que de nombreux patients voient leur qualité de vie affectée par ces douleurs persistantes. L'étude des causes et conséquences de ces différentes étiologies est un enjeu de santé majeur de notre société, compte tenu de la faible efficacité des traitements de première intention et des risques associés aux traitements de deuxième ligne comme les opioïdes (Dale & Stacey, 2016 ; Cavalli et al., 2019).

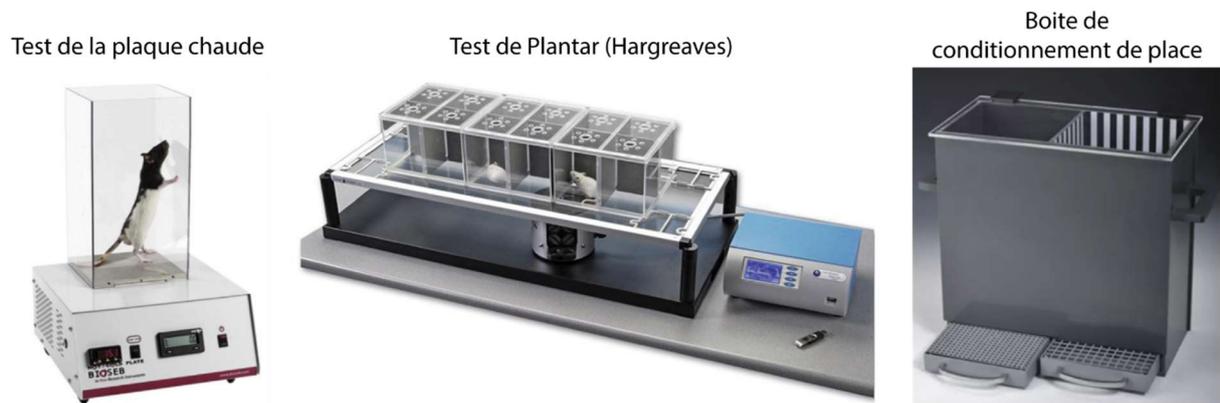
## 1.5. Etudier la douleur

### 1.5.1. Comment évaluer la douleur chez les rongeurs ?

Les méthodes d'évaluation reposant sur l'expression de la douleur par le patient ne sont malheureusement pas directement transposables pour évaluer celle-ci chez l'animal. L'absence de capacité de communication directe entre nos espèces nécessite alors d'intégrer les spécificités comportementales de l'espèce étudiée et de réaliser des mesures indirectes des composantes de la douleur, grâce à des tests comportementaux. Ces tests, dits algésiométriques, constituent un moyen standardisé de mesurer une réponse réflexe évoquée par un stimulus. Dans le cas des réflexes nociceptifs chez les rongeurs, rats et souris, divers tests permettent d'évaluer les seuils de sensibilité nociceptive de différentes modalités.

Les réponses nociceptives au chaud peuvent être notamment évaluées par le test de la plaque chaude (Woolfe & MacDonald, 1944 ; O'Callaghan & Holtzman, 1975) et celui de retrait de la queue (D'amour & Smith, 1941). Le test de la plaque chaude (illustré **Figure.3**) consiste à placer l'animal sur une plaque à une température fixe, en général comprise entre 52 et 55°C soit 10 à 15°C au-dessus du seuil d'activation des nocicepteurs thermiques, et à mesurer la latence de retrait ou de léchage de la patte ou la latence de saut dans le cas des souris (Deuis et al., 2017). Cette version du test utilise une température fixe, mais une version incrémentée existe également. Le test de retrait de la queue utilise un faisceau chauffant ciblant l'extrémité de la queue ou l'immersion de la queue dans un bain d'eau à température fixe. Dans ce cas, le mouvement de retrait implique des réflexes spinaux, sous contrôle supra-spinal (Barrot, 2012). Le test de Hargreaves (illustré **Figure.3**), aussi appelé test Plantar®, est un autre moyen d'évaluer la sensibilité au chaud et de mesurer le seuil nociceptif d'un rongeur dont la voûte plantaire est soumise à un stimulus thermique infrarouge d'intensité réglable (Hargreaves et al., 1988 ; Muley et al., 2016). Pour mesurer la réponse nociceptive au froid, une variante du test de la plaque chaude existe (Bennett & Xie, 1988 ; Yoon et al., 1994), cependant ce test de la plaque froide est moins précis et moins fiable (Deuis et al., 2017). Le test de la goutte d'acétone permet également de mesurer la sensibilité au froid et de révéler une allodynie au froid. Une goutte d'acétone placée sur dos de la patte arrière de l'animal provoque une sensation de froid nociceptif en s'évaporant et on mesure la durée ou le nombre des léchages de la patte (Yoon et al., 1994 ; Barrot, 2012 ; Deuis et al., 2017).

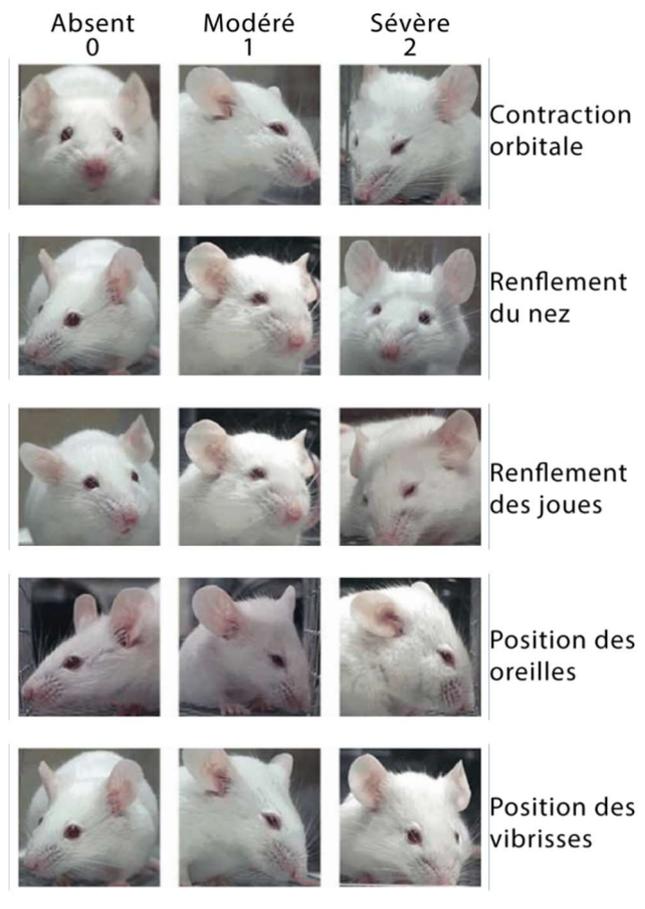
Le test des filaments de von Frey (Barrot, 2012 ; Muley et al., 2016 ; Deuis et al., 2017) permet d'évaluer la modalité mécanique de la douleur. L'application de filaments de duretés (en gramme) croissantes sur la voûte plantaire des pattes arrière des animaux permet de déterminer le seuil de sensibilité nociceptive mécanique en constatant le retrait de la patte.



**Figure 3. Exemples d'appareils utilisés pour évaluer la réponse nociceptive ou le fond douloureux chez le rongeur.**

Malgré la simplicité et la reproductibilité de ces tests, il est important de noter qu'ils correspondent à des mesures de réflexes nociceptifs, qui ne reflètent pas forcément la présence d'une douleur. Ils ont aussi l'inconvénient d'extraire l'animal de son environnement habituel et dans certains cas de nécessiter une contention. Ces facteurs stressants peuvent entraîner une analgésie par le stress, les rongeurs supprimant naturellement leurs comportements douloureux en présence de danger (Butler & Finn, 2009). Des séances d'habituation à l'expérimentateur et aux dispositifs de test sont donc indispensables.

Dans certaines pathologies, la présence d'une douleur spontanée nécessite l'utilisation de tests complémentaires. Une des méthodes utilisables chez le rat et la souris est l'échelle de grimace (Sotocinal et al., 2011 ; Miller & Leach, 2015). L'observation visuelle de plusieurs caractéristiques faciales telles que les contractions orbitaires, le gonflement du nez et des joues, la position des oreilles et des moustaches permettent cette évaluation. Chaque paramètre, illustrés **Figure.4**, est coté avec des valeurs allant de 0 à 2, et l'intensité de la douleur correspond à la somme des valeurs des différents paramètres. Si cette méthode est efficace, par exemple pour des suivis post-chirurgicaux, cette grimace de la douleur ne reste toutefois pas forcément présente en modèles de douleur chronique.



**Figure 4. Echelle de grimace chez la souris.**  
D'après : Goldberg, 2017

Les éthogrammes sont d'autres outils particulièrement instructifs, notamment parce qu'ils évitent le stress provoqué par la présence humaine grâce à des méthodes d'analyse automatique de vidéos (Wright-Williams et al., 2013). On y évalue les changements de comportements spontanés, qu'ils soient normaux, tels que les redressements ou la déambulation, ou spécifiques à la douleur, comme la cambrure du dos, ou les torsions du corps. D'autres comportements naturels peuvent être utilisés pour évaluer de manière indirecte la présence de douleur chez les rongeurs.

Le paradigme de préférence de place conditionnée (appareil illustré **Figure.3**) peut permettre de mettre en évidence les aspects récompensants du soulagement d'une douleur par des analgésiques (Sufka, 1994). Ainsi, en utilisant des analgésiques normalement non récompensants, comme des agonistes des récepteurs  $\alpha_2$ -adrénergiques, on peut indirectement révéler la présence d'un fond douloureux. En effet, les animaux soulagés d'une douleur vont présenter une préférence pour le compartiment associé à l'agoniste (Sufka, 1994 ; He et al., 2012). Une variation de ce test, l'aversion de place conditionnée peut également être utilisée (Boyce-Rustay et al., 2010 ; Zhang et al., 2011). Dans ce cas, il s'agit de stimulations non nociceptives pour des animaux naïfs, appliquées par exemple de manière répétée par les filaments de von Frey dans l'un des compartiments. Si l'animal

présente une hypersensibilité, ces stimulus vont lors du rappel provoquer un évitement du compartiment associé aux stimulations (Boyce-Rustay et al., 2010). L'observation de divers paramètres physiologiques peut également renseigner de manière indirecte sur la présence de douleur. On peut ainsi suivre, notamment par télémétrie, le poids, le rythme cardiaque, la fréquence respiratoire, la température corporelle, ainsi que la pression sanguine (Arras et al., 2007). Une dernière méthode, bien que complexe, est l'évaluation de la douleur par l'étude des vocalisations ultrasoniques, notamment les vocalisations autour de 22 kHz qui chez le rongeur vont plutôt être associées à des situations négatives, l'émission de vocalisations à 50 kHz étant quant à elle plus associée à une situation positive. Bien qu'en théorie simple à étudier, ce paramètre présente un intérêt restreint en situation de douleur chronique, les vocalisations n'étant souvent détectées que lors de stimulus douloureux aigus (Calvino et al., 1996 ; Wallace et al., 2005 ; Williams et al., 2008).

### 1.5.2. Les modèles de douleurs

L'étude de la douleur chez l'animal nécessite de modéliser ses différents aspects, depuis son étiologie, ses mécanismes et les différents symptômes évoqués, jusqu'aux différences temporelles entre les douleurs aiguës et chroniques.

#### 1.5.2.1. Les modèles de douleurs aiguës

Les modèles aigus se focalisent le plus souvent sur les aspects nociceptifs et inflammatoires de la douleur, qui apparaissent immédiatement ou dans les minutes qui suivent l'induction de la douleur et ne persistent pas plus de quelques jours.

Pour étudier les douleurs liées aux processus inflammatoires, des modèles reposant sur l'injection intraplantaire ou sous-cutanée de composés entraînant une réaction inflammatoire ont été développés. La capsaïcine, par exemple, produit une inflammation neurogène en activant les récepteurs TRPV1 (Ilie et al., 2019). Ces récepteurs libèrent ensuite divers médiateurs pro-inflammatoires, ce qui provoque une hyperalgésie thermique et mécanique primaire due à la sensibilisation périphérique, suivie d'une hyperalgésie mécanique secondaire due aux conséquences de la sensibilisation centrale (Frias & Merighi, 2016 ; Muley et al., 2016 ; Ilie et al., 2019). Un autre composé utilisé est la formaline. Ce formaldéhyde produit une réponse biphasique, d'abord par une activation directe des neurones sensoriels primaires qui dure moins de 5 minutes, puis s'en suit une réponse prolongée pendant 10 à 40 minutes due à l'inflammation et à une sensibilisation centrale (Dubuisson & Dennis, 1977). Cette seconde phase implique l'activation des récepteurs TRPA ainsi que la voie MAP kinase par l'intermédiaire d'interleukines (Dubuisson & Dennis, 1977 ; Hunskar & Hole, 1987 ; Raboisson & Dallel, 2004). Pour obtenir une inflammation aiguë, le zymosan est un autre composé fréquemment utilisé. Ce composant des membranes de *Saccharomyces cerevisiae* entraîne une hyperalgésie mécanique et thermique en moins de 30 minutes (Doherty et al., 1985 ; Cash et al., 2009). Un effet hyperalgésique et allodymique similaire

peut être obtenu en utilisant de la carraghénine, un polysaccharide issu des algues rouges (Winter et al., 1962; Fehrenbacher et al., 2012 ; Mert et al., 2018).

### 1.5.2.2. Les modèles de douleurs chroniques

#### 1.5.2.2.1. Modèles de douleurs inflammatoires

Lorsque les modèles inflammatoires aigus sont utilisés de manière répétée, créant une inflammation persistante dans le temps, ils peuvent être utilisés comme modèles de douleur chronique, mais des modèles plus spécifiques existent. L'adjuvant complet de Freund (CFA) est classiquement utilisé comme modèle de douleur inflammatoire chronique. Cette suspension huileuse de bactéries *Mycobacterium tuberculosis* mortes fait effet en 24 h et maintient une inflammation pendant près de deux semaines, conduisant à la libération de médiateurs pro-inflammatoires (Ren & Dubner, 1999 ; Bas et al., 2016 ; Muley et al., 2016).

D'autres modèles, plus persistants, miment plus spécifiquement certaines pathologies chroniques humaines. Divers composés chimiques, dont le plus commun est le mono-iodacétate, sont utilisés pour étudier l'ostéo-arthrite, une forme de douleur chronique inflammatoire affectant principalement les articulations (D'Souza et al., 2011 ; Bas et al., 2016). Cette molécule inhibe une enzyme chondrocytaire, entraînant l'apoptose des chondrocytes, suivie d'une nécrose osseuse et d'une dégénérescence du cartilage. Dans les premiers stades du modèle, les anti-inflammatoires soulagent la douleur, mais ils deviennent inefficaces dans la seconde phase, lorsque l'articulation est déstructurée et que le tissu nerveux présente des signes de détérioration (D'Souza et al., 2011 ; Bas et al., 2016). L'ostéo-arthrite peut également être provoquée par chirurgie et plusieurs types de procédures sont possibles, entraînant des lésions du tissu cartilagineux suivies plus tard de lésions articulaires profondes (D'Souza et al., 2011 ; Malfait & Schnitzer, 2013 ; Fang & Beier, 2014). La technique la plus utilisée consiste à déstabiliser le ménisque médian, en réalisant une transection du ligament ménisco-tibial (Glasson et al., 2007). Ce modèle reproduit bien l'étiologie humaine et est facilement reproductible d'un animal à l'autre. Il s'aggrave pendant 16 semaines, conformément aux définitions classiques des douleurs chroniques associées à cette pathologie (Bendele, 1987 ; Bove et al., 2006 ; Glasson et al., 2007 ; Knights et al., 2012).

Une autre pathologie chronique modélisable chez les rongeurs est la polyarthrite rhumatoïde. Cette maladie auto-immune se caractérise par une inflammation de la membrane synoviale et une érosion du cartilage et des os dues à l'activation chronique des lymphocytes T par les macrophages (Bas et al., 2016 ; Caplazi et al., 2015). Une injection intradermale de CFA et de collagène II provoque le développement d'une polyarthrite (Bas et al., 2016 ; Caplazi et al., 2015 ; Courtenay et al., 1980 ; Fischer et al., 2017). Une autre méthode est l'injection, intraveineuse ou intrapéritonéale, d'un mélange d'anticorps anti-collagène suivie d'une injection de lipopolysaccharides 3 jours plus

tard, produisant une hypersensibilité mécanique et thermique pendant 1 mois (Bas et al., 2016 ; Caplazi et al., 2015 ; Nandakumar et al., 2003).

Les migraines et les douleurs chronique qui y sont associées impliquent à la fois des mécanismes inflammatoires et vasculaires. Pour reproduire les symptômes de cette pathologie, plusieurs modèles existent. Un premier consiste à utiliser des électrodes bipolaires pour stimuler électriquement les ganglions trigéminaux, ce qui libère des peptides associés au gène de la calcitonine (CGRP) par les méninges (Knyihár-Csillik et al., 1997 ; Limmroth et al., 2001). Une autre méthode consiste à stimuler chimiquement la dure-mère avec une soupe inflammatoire, ce qui va activer le système vasculaire trigéminal, entraînant l'apparition de symptômes douloureux (Melo-Carrillo & Lopez-Avila, 2013). Un dernier modèle est l'injection de chlorure de potassium dans le cortex visuel, qui provoque des vagues lentes de dépolarisation stimulant les neurones du ganglion trigéminal ainsi que d'autres régions cérébrales. Ce modèle est induit par une dépolarisation corticale propagée et conduit à l'activation de la microglie ainsi qu'à des mécanismes de sensibilisation centrale (Cui et al., 2015 ; Munro et al., 2017).

#### 1.5.2.2.2. Modèles de douleurs neuropathiques

Les modèles de douleur neuropathiques les plus utilisés sont basés sur des lésions du système nerveux sensoriel.

Au niveau central, une lésion électrolytique du tractus spinothalamique produit à la fois une douleur spontanée et une douleur évoquée se traduisant par une hyperalgésie mécanique et thermique et une allodynie mécanique (Masri et al., 2009 ; Wang & Thompson, 2008). Afin de limiter la paralysie provoquée par ce premier modèle, une lésion de la moelle épinière par contusion peut aussi être utilisée (Siddall et al., 1995). Celle-ci conduit à des symptômes douloureux en quelques jours et qui persistent environ un mois après la récupération des fonctions motrices (Siddall et al., 1995). Si l'objectif est de produire une neuropathie centrale durant plus de 5 à 6 mois, une hémilésion de la moelle épinière au niveau de la vertèbre L1 est utilisée (Koehler & Endtz, 1986). Un modèle plus ancien permet aussi de léser la moelle épinière sans intervention chirurgicale, en utilisant un colorant photosensible, le rose bengale ou l'érythrosine B, injecté par voie intraveineuse puis en irradiant la zone ciblée, ce qui provoque une ischémie puis une nécrose de la moelle épinière, conduisant à une allodynie et à une hypersensibilité au froid, mais pas au chaud (Watson et al., 1985).

Les lésions de la moelle épinière étant rares chez les patients, plusieurs modèles de neuropathie périphérique ont été développés pour se rapprocher de la réalité clinique. Ces modèles entraînent des adaptations centrales, mais aussi périphériques. Le modèle le plus sévère implique une transection totale du nerf sciatique (sur environ 5 mm) (Wall et al., 1979). Cette procédure provoque des douleurs fantômes, des altérations motrices, de fréquentes autotomies et une altération des

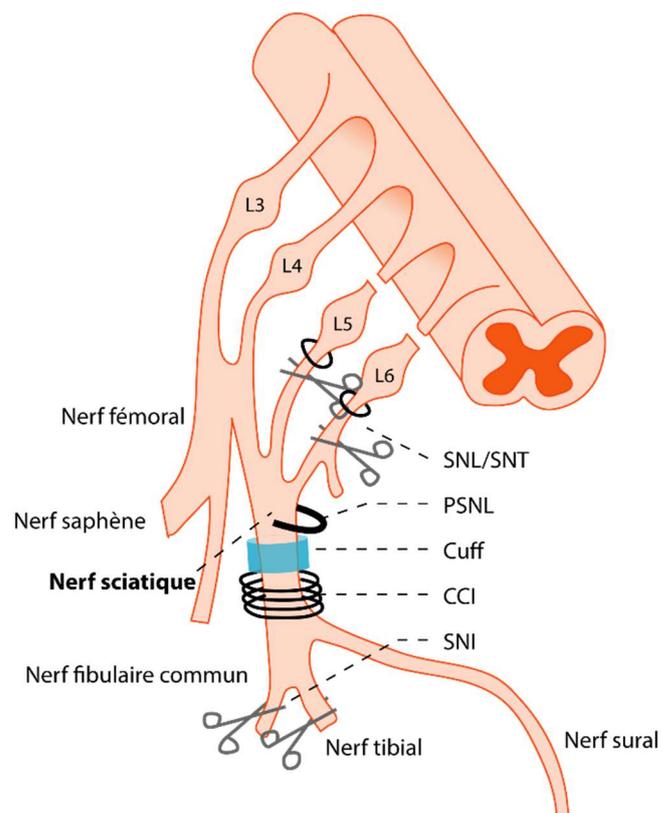
réflexes, pouvant alors fausser les tests comportementaux. Afin de limiter les conséquences sévères de ce modèle, des modèles de lésion partielle du nerf sciatique ont été développés.

Le modèle de constriction chronique du nerf sciatique (« chronic constriction injury », CCI) consiste en la réalisation de 4 nœuds lâches autour de la branche principale du nerf sciatique (Bennett & Xie, 1988b). Il entraîne une inflammation locale et, dès 24 heures après, l'apparition d'un fond douloureux ainsi que d'une hypersensibilité mécanique pendant 7 semaines. Le modèle de lésion partielle (« partial sciatic nerve injury », PNI) est une alternative dans laquelle la ligature de la moitié ou du tiers dorsal du nerf sciatique, du nerf périnéal, du nerf tibial ou des trois ensembles provoque l'apparition de symptômes douloureux une semaine après la chirurgie et qui se maintiennent pendant environ 6 semaines (Seltzer et al., 1990). Le modèle du « spared nerve injury » (SNI) consiste à sectionner deux des trois branches terminales du nerf sciatique, laissant la branche surale intacte (Bourquin et al., 2006 ; Decosterd & Woolf, 2000). Ce modèle est intéressant car il conduit à des symptômes douloureux stables pendant plus de 6 mois (Decosterd & Woolf, 2000). Le modèle de ligature de nerf spinal (« spinal nerve ligation », SNL) provoque une allodynie mécanique dès 24 h à 48 h après l'intervention et une hyperalgésie thermique ainsi qu'une douleur spontanée pendant 4 mois chez le rat et 2 mois chez la souris (Dobremez et al., 2005 ; Fossat et al., 2010 ; Ho Kim & Mo Chung, 1992 ; LaBuda & Little, 2005 ; Laffray et al., 2012).

Pour conclure sur ces modèles de neuropathie périphérique, le modèle du Cuff est un modèle obtenu par compression de la branche principale du nerf sciatique à l'aide d'un manchon en polyéthylène appelé « cuff » (Benbouzid et al., 2008 ; Pitcher et al., 1999a ; Yalcin et al., 2014). Ce modèle a d'abord été développé chez le rat, puis adapté à la souris (Benbouzid et al., 2008 ; Pitcher et al., 1999a). En plus d'une bonne reproductibilité due à la standardisation de la procédure, les animaux développent une hypersensibilité mécanique immédiatement après la chirurgie qui va perdurer 2 mois après, une hyperalgésie thermique pendant 3 semaines ainsi que des douleurs spontanées (Benbouzid et al., 2008 ; Yalcin et al., 2014). En plus des symptômes douloureux, ce modèle conduit à l'apparition de comorbidités telles que l'anxiété et la dépression (Yalcin et al., 2011, 2014). Ce modèle a aussi l'intérêt de présenter une récupération spontanée de l'hypersensibilité mécanique après environ 10 à 12 semaines post-opératoire (Yalcin et al., 2011). C'est le modèle que nous avons choisi pour cette thèse. Un schéma des principaux modèles ciblant le nerf sciatique est présenté **Figure.5**.

Certaines douleurs neuropathiques complexes impliquant plusieurs types de fibres nerveuses sont appelées polyneuropathies. C'est notamment le cas des douleurs chroniques associés au diabète. L'injection d'une ou plusieurs doses de streptozotocine, une molécule particulièrement toxique pour les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans chez les mammifères, est ainsi utilisée comme modèle de diabète et entraîne une perte des fibres des axones distaux, responsable des douleurs neuropathiques associées à cette pathologie (Biessels et al., 2014 ; Davidson et al., 2009). Des

modèles génétiques de diabète de type I et II, comme les modèles BB/Wor et BBZDR/Wor, permettent également l'étude des polyneuropathies liées au diabète (Biessels et al., 2014 ; Tirabassi et al., 2004). Des modèles génétiques de maladies auto-immunes telles que la déplétion de B7-2 (Salomon et al., 2001) ou CD4 (Yang et al., 2014) peuvent aussi servir à modéliser des polyneuropathies. Enfin, les conséquences de la lèpre ou du HIV conduisent aussi à des polyneuropathies et il est possible de reproduire expérimentalement ces neuropathies d'origine infectieuse (Herzberg & Sagen, 2001 ; Huang et al., 2017). Finalement, des polyneuropathies sont également observées suite à des chimiothérapies anti-cancer. Un modèle de traitement à l'oxaliplatine pendant 2 semaines entraîne par exemple une axonopathie des fibres myélinisées due à la neurotoxicité du produit (Authier et al., 2003 ; Ibrahim et al., 2004).



**Figure 5. Schéma des modèles de douleurs neuropathiques.**  
*D'après : Kremer et al., 2021b*

## 2. La Dépression

### 2.1. Définition de la dépression

L'épisode dépressif caractérisé (EDC, anciennement trouble dépressif majeur), communément appelé dépression, est un trouble de l'humeur touchant près de 7% de la population générale (Bromet et al., 2011 ; Ferrari et al., 2013 ; Proudman et al., 2021 ; Seedat et al., 2009). Il concerne presque deux fois plus de femmes que d'hommes (Seedat et al., 2009) et sa prévalence est en constante augmentation depuis plus de 10 ans (Bromet et al., 2011 ; Proudman et al., 2021), avec près d'un adulte sur six faisant l'expérience d'un EDC au cours de sa vie. Des taux importants ont été atteints lors de la pandémie de COVID-19 aux États-Unis, avec plus de 30% de la population présentant des symptômes dépressifs (Proudman et al., 2021). Les conséquences de cette pathologie peuvent être fatales, les patients EDC présentant un risque de tentative de suicide 2 à 5 fois plus élevé que les personnes sans EDC (Cai et al., 2021). Le diagnostic, la compréhension et le traitement de ce trouble mental constituent donc un enjeu de santé publique majeur.

Cette psychopathologie se caractérise par la présence d'au moins 5 symptômes, dont obligatoirement la présence d'une humeur dépressive ou d'une anhédonie, c'est-à-dire la perte de la capacité d'un sujet à ressentir des émotions positives lors de situations de vie pourtant considérées antérieurement comme plaisantes. En plus de ces caractéristiques nécessaires, le patient peut exprimer des symptômes tels que des variations de poids ( $\pm 5\%$  sur un mois) et quasiment tous les jours : des altérations du sommeil, une fatigue ou une perte d'énergie, une agitation ou un ralentissement psychomoteur, un sentiment de dévalorisation ou de culpabilité excessive ou inappropriée, une diminution de l'aptitude à penser ou à se concentrer ou des indécisions, des pensées de mort ou suicidaires récurrentes (avec ou sans plan de passage à l'acte). Ces changements significatifs doivent être présents pendant une période d'au moins 2 semaines et présenter un changement par rapport au fonctionnement antérieur ("Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5 (5th Edition)," 2014). Dans 70 à 80% des cas, les patients vont présenter une durée de l'épisode dépressif inférieure à 2 ans, qu'il soit traité ou non (Spijker et al., 2002). Il est important d'établir un diagnostic différentiel lors d'une suspicion d'EDC afin de s'assurer que les symptômes ne sont pas issus d'un autre trouble de l'humeur tel qu'un trouble bipolaire, auquel cas le patient présente également des phases maniaques (égo surdimensionné, humeur élevée, fuites d'idées...), ou une dysthymie, une forme chronique ( $> 2$  ans) de symptômes dépressifs souvent moins sévères ou moins nombreux que dans l'EDC (Kalia, 2005). L'EDC peut prendre différentes formes cliniques selon ses caractéristiques : mélancolique, psychotique, mixte, atypique, catatonique, avec détresse anxieuse, péri-partum ou saisonnière ; et selon ses aspects évolutifs : isolée, récurrente, persistante ou pré-menstruelle (DSM-5). Ces formes sont définies par des sous-ensembles de symptômes spécifiques. La détresse anxieuse est par exemple caractérisée par une tension constante ou la peur que des événements horribles surviennent. Cette dernière

composante est particulièrement importante à définir, car elle augmente le risque de pensées suicidaires et diminue la réponse aux traitements de façon significative (Kalia, 2005).

## 2.2. Étiologies de la dépression

L'étiologie exacte de l'EDC reste encore mal définie, mais une combinaison de facteurs biologiques, psychologiques et sociologiques sont identifiés. L'exposition à des événements traumatiques, que ce soit dans l'enfance (abus physiques ou sexuels, exposition à des violences, négligence parentale...) ou à l'âge adulte (deuil, problèmes de santé, perte d'emploi...) augmente le risque de développer un EDC de façon « dose/réponse », c'est-à-dire que plus les traumatismes sont nombreux et/ou importants, plus les risques sont élevés (Heim & Binder, 2012). De tels stress psychologiques ont des conséquences biologiques, telles qu'une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien (HPA). En particulier, des stress précoces peuvent augmenter l'activité des neurones à corticolibérine (CRH), diminuer la fonction des récepteurs aux glucocorticoïdes et, indirectement, augmenter l'activité du système inflammatoire (Meaney, 2001).

Des antécédents familiaux au premier degré d'EDC augmentent également le risque de développer la pathologie, ce qui suggère la présence de facteurs génétiques. L'héritabilité de l'EDC est d'environ 35%, mais sans gène présentant un effet majeur contrairement à d'autres troubles tels que la schizophrénie (Geschwind & Flint, 2015 ; Lee et al., 2013). En effet, les facteurs génétiques contribuant à l'EDC sont polygéniques et l'analyse génétique de patients présentant des phénotypes similaires a montré l'implication de plusieurs locus différents (Cai et al., 2015 ; Hyde et al., 2016 ; Hyman, 2014 ; Lee et al., 2013 ; Okbay et al., 2016 ; Smith et al., 2016). Des changements dans la méthylation de FKBP5, une protéine chaperonne inhibant la sensibilité des récepteurs aux glucocorticoïdes, peut aussi contribuer à une augmentation des niveaux de cortisol en réponse au stress aigu (Klengel et al., 2013). Si cet impact est réel, la magnitude des changements de niveau de méthylation qui la sous-tend est toutefois d'environ 10%, soit une valeur proche des limites de détection et relativement faible lorsqu'on la compare à la magnitude de changements épigénétiques observés dans d'autres pathologies comme les cancers (Klengel & Binder, 2015).

Les bases biologiques de l'EDC sont toujours débattues, mais plusieurs systèmes semblent jouer un rôle important dans le développement de cette psychopathologie. Les trois principaux suspects sont : les systèmes monoaminergiques, l'axe HPA et les mécanismes de neuro-inflammation (Kalia, 2005 ; Otte et al., 2016).

### 2.2.1. Hypothèse monoaminergique de la dépression

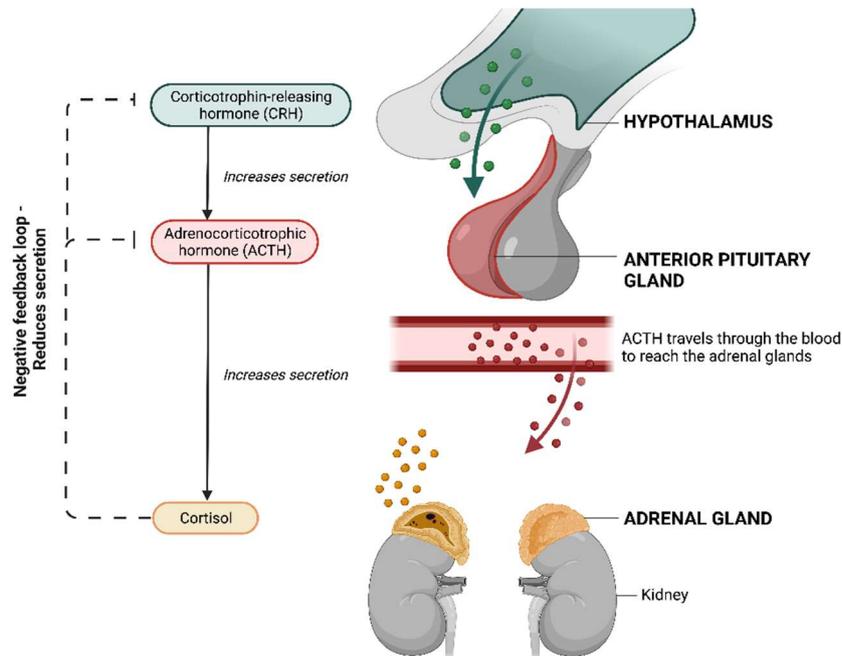
Les systèmes monoaminergiques étant modulateurs de nombreuses régions cérébrales, leur implication dans l'EDC a rapidement été envisagée. La première démonstration a été apportée par le Dr Edward Freis qui observa, en 1954, l'apparition de comportements dépressifs chez 5 patients traités à la réserpine (Freis, 1954), un antihypertenseur provoquant une déplétion des stocks de catécholamines et de sérotonine (5-HT). Cette hypothèse a ensuite été confirmée par le mode d'action des antidépresseurs tricycliques et des inhibiteurs des monoamine oxydases (IMAO), qui augmentent la biodisponibilité des monoamines au niveau synaptique en inhibant respectivement leur recapture ou leur catabolisme (Hirschfeld, 2000). Néanmoins, l'hypothèse selon laquelle les monoamines seraient les seules impliquées dans l'EDC est simpliste, comme on peut déjà le constater grâce à la réalité clinique. En effet, l'efficacité des traitements par les tricycliques et les IMAO reste faible, avec près de 60% des patients ne présentant pas d'amélioration de leurs symptômes après plusieurs semaines de traitements (Fava & Davidson, 1996 ; Rush et al., 2006 ; Thase et al., 2007). De plus, bien que l'action pharmacologique des antidépresseurs soit rapide, l'amélioration des symptômes n'apparaît qu'après plusieurs semaines de traitement, suggérant des mécanismes d'action post-synaptiques (Belmaker, 2004). De même, bien que plusieurs études rapportent des altérations de la concentration et du métabolisme de la 5-HT chez les patients dépressifs (Wong & Licinio, 2001), il n'y a pas de corrélation entre les niveaux de 5-HT ou d'autres monoamines et la présence des symptômes dépressifs (Wong & Licinio, 2001). D'autres processus biologiques sont donc impliqués dans la physiopathologie de l'EDC.

### 2.2.2. Implication de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) dans la dépression

En réponse au stress, environnemental ou endogène, les glandes surrénales produisent et libèrent des glucocorticoïdes, des hormones stéroïdiennes qui modulent de nombreux processus physiologiques (McEwen, 2005). Les glucocorticoïdes vont par exemple modifier la sensibilité des récepteurs noradrénergiques, et en particulier celle des récepteurs bêta couplés à l'adénylate cyclase (McEwen, 2005). Chez une partie des patients atteints d'un EDC, on observe des taux de cortisol anormalement élevés dans le plasma, le liquide cébrospinal (CSF), la salive et les urines (Belvederi Murri et al., 2014 ; Harris et al., 2000 ; Holsboer, 2000 ; Knorr et al., 2010 ; McEwen, 2005 ; Pariante, 2003, 2017). Ce niveau élevé de cortisol augmente le risque d'EDC et de suicide (Fardet et al., 2012 ; Schricker et al., 2023), et après un traitement antidépresseur près de 50% des patients vont présenter une baisse de leur taux de cortisol (Nemeroff et al., 1984). En outre, des agonistes des récepteurs aux minéralocorticoïdes réduisent le délai d'action des antidépresseurs (Otte et al., 2010, 2015), alors que des antagonistes des récepteurs aux glucocorticoïdes améliorent les symptômes psychotiques (Schatzberg, 2015). Les antagonistes des récepteurs de la corticolibérine (CRH) inhibent la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse et vont donc indirectement diminuer la concentration de glucocorticoïdes. Ces antagonistes peuvent aussi diminuer les

symptômes dépressifs, mais uniquement chez les patients présentant un taux élevé de CRH (Aubry, 2013).

Par un mécanisme de rétrocontrôle, la stimulation des récepteurs aux glucocorticoïdes va inhiber la sécrétion de cortisol par une inhibition de la libération de l'ACTH et du CRH. Des changements dans l'expression ou la fonction de ces récepteurs aux glucocorticoïdes peut donc impacter cette boucle de rétrocontrôle négative et ainsi affecter les taux de cortisol circulant (Ising et al., 2007). Ce mécanisme est illustré **Figure 6**.



**Figure 6. Illustration de la boucle de rétrocontrôle négative de l'axe HPA.**  
D'après : *Cortisol | You and Your Hormones from the Society for Endocrinology*

### 2.2.3. Hypothèse neuro-inflammatoire de la dépression

L'implication de mécanismes neuro-inflammatoires dans l'EDC est sous-tendue par plusieurs évidences cliniques. En effet, le risque de développer un EDC augmente chez les patients atteints de maladies auto-immunes, d'infections ou de traitements par des cytokines comme l'interféron (Benros et al., 2013). Des études post-mortem et par tomographie par émission de positons (PET-Scan) ont également montré que les patients atteints d'EDC présentent des marqueurs de neuro-inflammation et une activation de la microglie (Setiawan et al., 2015 ; Steiner et al., 2008). Des études montrent aussi qu'une augmentation des taux de cytokines, telles que l'IFN-B (interféron), dans le sérum est un facteur de risque de l'EDC (Capuron et al., 2002 ; Miyaoka et al., 1999), et que l'augmentation des taux d'interleukine-6 (IL-6) dans le liquide céphalorachidien est corrélée à une anhédonie (Haapakoski et al., 2015).

Les inflammasomes sont des complexes multiprotéiques intracellulaires impliqués dans la réponse immunitaire innée (Jamilloux & Henry, 2013), et l'activation de l'inflammasome P2X7-NLRP3 semble contribuer aux mécanismes neuro-inflammatoires liés à la dépression (Cao et al., 2023 ; Chen et al., 2023 ; Roy et al., 2023). En effet l'activation de cet inflammasome peut promouvoir les phénomènes de potentialisation synaptique à long terme (LTP) via un clivage d'interleukines et cytokines spécifiques (Tang et al., 2012). Le clivage de ces molécules est dû à l'activation de la procaspase-1 (Place & Kanneganti, 2018). Cependant, lorsque les niveaux de ces molécules sont trop élevés, elles deviennent excitotoxiques et altèrent l'activité synaptique, notamment les transmissions glutamatergiques et monoaminergiques (Goshen et al., 2008 ; Huang et al., 2011).

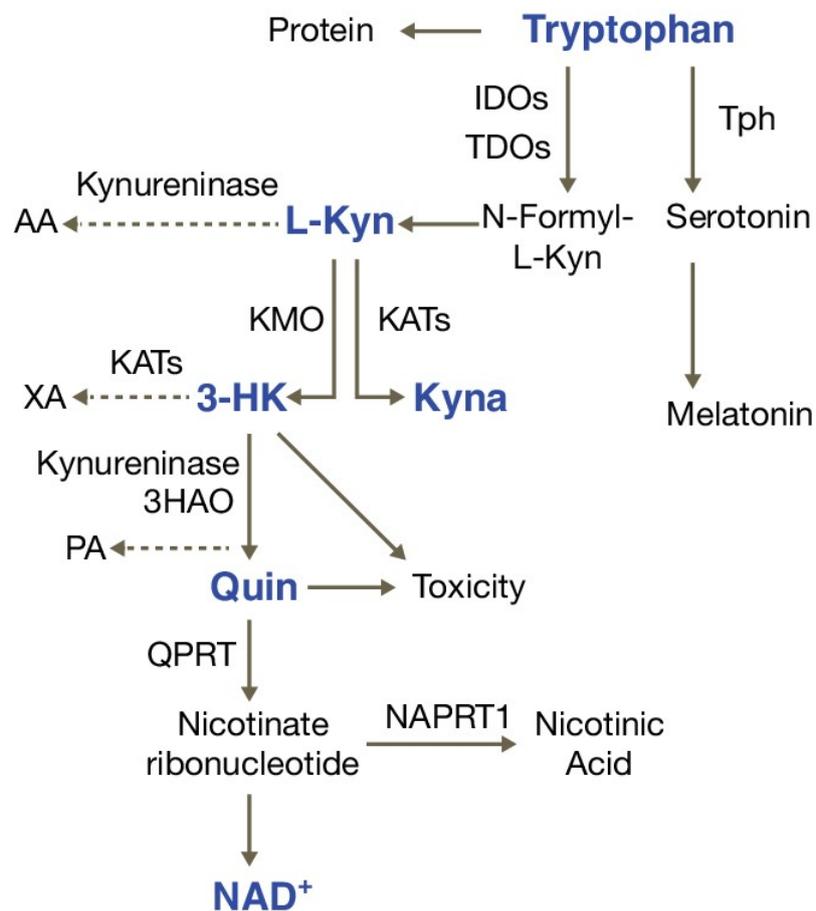


Figure 7. Voie de l'acide kynurénique.  
D'après : Spiegelman, 2017

Les cytokines pro-inflammatoires, telles que l'IL-6 et l'IL-1 $\beta$ , stimulent les enzymes indoléamine-2,3-dioxygénase (IDO) et tryptophane-2,3-dioxygénase (TDO) (Guillemin, 2012 ; Badawy, 2017) qui vont alors métaboliser le tryptophane en kynurénine (KYN) au lieu qu'il soit métabolisé en 5-HT par la tryptophane hydroxylase (Badawy, 2017). Les métabolites de cette voie (**Figure.7**), l'acide quinoléique (QUIN, un agoniste des récepteurs NMDA) et le nicotinamide adénine dinucléotide (NAD<sup>+</sup>) sont tous deux neurotoxiques (Guillemin, 2012 ; Schwarcz et al., 2012) et leur présence est détectée dans le plasma et le liquide céphalorachidien de patients atteints d'un EDC (Messaoud et al., 2019 ; Ogawa et al., 2014 ; Raison et al., 2010 ; Sublette et al., 2011). De plus, chez les patients atteints d'EDC, une augmentation dans le gyrus cingulaire antérieur et une diminution dans l'hippocampe de QUIN, ainsi qu'une baisse d'activité de la voie KYN dans le cortex préfrontal, indiquent une activation de la branche excitotoxique du métabolisme de la 5-HT dans ces régions (Busse et al., 2015 ; Clark et al., 2016). En outre, l'inhibition de l'IDO supprime les symptômes dépressifs dans des modèles murins basés sur le stress chronique ou sur l'injection de lipopolysaccharides (LPS), confortant un rôle potentiel de la voie KYN dans l'EDC (Dobos et al., 2012 ; Laugeray et al., 2016 ; O'Connor et al., 2009).

La présence de taux élevés de glucocorticoïdes chez les patients atteints d'EDC peut sembler incohérente avec la présence de neuro-inflammation, puisque ces hormones ont un effet anti-inflammatoire. Cette contradiction n'est qu'apparente et peut s'expliquer par le phénomène suivant : les cytokines pro-inflammatoire telle que l'interleukine-1, l'interleukine-6 et le TNF- $\alpha$  contribuent à maintenir un taux élevé de glucocorticoïdes (Bornstein et al., 2006), qui vont eux-mêmes potentialiser l'expression de cytokines pro-inflammatoires (Langlais et al., 2008). On a donc ici un phénomène de boucle positive. Les cytokines pro-inflammatoires modulent également l'axe HPA. En effet, la suppression du TLR-2, un récepteur de la voie toll (TLR) impliqué dans la réponse immunitaire précoce, diminue les taux d'interleukine-1, interleukine-6 et du TNF- $\alpha$ , ce qui conduit à une diminution des niveaux de corticostérone (Bornstein et al., 2004). Ces études montrent ainsi que les mécanismes inflammatoires et l'axe HPA se potentialisent entre eux. De plus les glucocorticoïdes ont aussi des effets génomiques importants dans l'induction et le maintien de l'inflammation. Leur action génomique augmente par exemple l'expression des gènes codant pour le purinorécepteur 2 (P2Y) et pour l'inflammasome dit de la famille des récepteurs de type NOD, contenant un domaine de pyrine 3 (NLRP3) (Busillo et al., 2011 ; Ding et al., 2010). Cela va respectivement augmenter la sécrétion d'IL-6 et faciliter l'induction d'autres inflammasomes (Busillo et al., 2011 ; Ding et al., 2010).

Des taux élevés de glucocorticoïdes, dans la durée, favorisent aussi une désensibilisation de leurs récepteurs, ce qui peut réduire leurs effets anti-inflammatoires et augmenter la libération de cytokines pro-inflammatoires. Ces dernières activent l'axe HPA conduisant à une libération encore

plus importante de glucocorticoïdes par leur action directe sur l'hypothalamus (Carvalho et al., 2010 ; Cattaneo et al., 2013).

#### 2.2.4. Altérations morphologiques dans la dépression

Des altérations morphofonctionnelles de plusieurs régions cérébrales ont été observées chez des patients atteints d'EDC. Une baisse du volume de l'hippocampe (Kempton et al., 2011 ; Etkin et al., 2015), des ganglions de la base et du thalamus (Kempton et al., 2011), ainsi qu'un amincissement des cortex orbitofrontal, cingulaire antérieur et postérieur, de l'insula et des lobes temporaux, ont notamment été rapportés (Schmaal et al., 2016).

Dans la vie de tous les jours, l'organisme perçoit en continu des informations qu'il doit filtrer et hiérarchiser pour en estimer la pertinence. La saillance affective (affective salience) correspond ainsi à la pertinence émotionnelle attribuée à ces stimulus. Dans le cas de pathologies telles que la dépression, cette saillance affective pourrait être altérée, en associant par exemple une valeur trop élevée à certains stimulus peu pertinents et/ou n'en donnant pas assez aux stimulus pertinents. Des altérations de la connectivité entre les régions associées aux circuits de la saillance affective sont en effet observables chez les patients atteints d'EDC. Par exemple, des augmentations de l'activité de l'amygdale, de la portion dorsale du cortex cingulaire antérieur et de l'insula antérieure ont été observées en réponse à un stimulus négatif (Hamilton et al., 2012). Une diminution du contraste « gain vs perte » apparaît aussi chez les patients dépressifs, que ce soit dans l'activité du striatum ventral ou dans celle d'autres régions liées à la récompense, comme le cortex insulaire antérieur et le cortex cingulaire antérieur (Satterthwaite et al., 2015). Les régions liées au circuit cognitif fronto-pariétal semblent également altérées. Une augmentation de la connectivité fonctionnelle au repos entre le réseau du mode par défaut (composé du mPFC, du cortex cingulaire postérieur, du précuneus et du gyrus angulaire) et le cortex préfrontal dorsal est ainsi observée chez des patient atteints d'EDC (Kaiser et al., 2015).

Chez les rongeurs, une diminution de la neurogenèse ainsi que des taux de BDNF, un facteur neurotrophique, sont observables dans l'hippocampe de modèles de dépression (Monje et al., 2003 ; Kaneko et al., 2006 ; Goshen et al., 2008 ; Ja & Duman, 2008 ; Eisch & Petrik, 2012 ; Molendijk et al., 2014 ; Zheng et al., 2014 ; Eliwa et al., 2017 ; Yuan et al., 2017 ; Cai et al., 2019). L'activation de la microglie augmente les taux de cytokines pro-inflammatoires qui vont réguler la prolifération et la différenciation des précurseurs neuronaux. Cette diminution de la neurogenèse en modèles chez le rongeur apparaît en même temps que les comportements de type dépressif (Monje et al., 2003 ; Kaneko et al., 2006 ; Goshen et al., 2008 ; Ja & Duman, 2008 ; Borsini et al., 2018).

### 2.2.5. Cas de la comorbidité douleur-dépression

Bien que la douleur chronique ne soit pas un symptôme caractéristique de la dépression, la forte prévalence de l'EDC chez les patients douloureux chroniques indique un lien étroit entre les deux pathologies. En effet, selon les estimations, entre 30 et de 50% des patients douloureux vont développer des symptômes anxio-dépressifs (Merikangas et al., 1990 ; Breslau & Davis, 1992 ; Von Korff & Simon, 1996 ; Campbell et al., 2003). De plus, la durée et le nombre de sites douloureux sont corrélés avec la sévérité de la dépression, même si l'intensité des symptômes dépressifs ne l'est pas (Von Korff & Simon, 1996). Cela souligne que même une douleur de faible intensité, mais prolongée, est un facteur de risque important de l'EDC. Un risque réciproque de développer une comorbidité a également été établi entre l'EDC et la lombalgie chronique. En effet, dans une étude publiée en 2023 aux États-Unis, près de 17% des patients présentant une lombalgie chronique souffraient également d'EDC, contre uniquement 10% chez les sujets non douloureux. Réciproquement, la présence de lombalgies chroniques chez les patients atteints d'EDC (37,4%) était plus élevée que chez les sujets non dépressifs (8,5%) (Yang et al., 2023). En outre, des symptômes de la dépression tels que la détresse psychologique, les troubles du sommeil, la baisse d'énergie et l'inquiétude sont plus souvent présents chez les patients douloureux chroniques (Von Korff & Simon, 1996). Dans la même logique, une étude longitudinale menée sur 4 ans a révélé des changements synchronisés dans les niveaux de douleur, d'anxiété et de dépression chez les patients (Gerrits et al., 2015). Lors de la rémission d'un EDC les patients montraient simultanément une baisse de leurs niveaux de douleur (Gerrits et al., 2015 ; Von Korff & Simon, 1996), et si l'état émotionnel des patients atteints d'EDC restait stable, il en allait de même pour leurs niveaux de douleur (Von Korff & Simon, 1996 ; Gerrits et al., 2015). Inversement, l'amélioration des symptômes douloureux chez les patients exprimant une comorbidité douleur-dépression entraînait une diminution de leurs symptômes dépressifs (Gerrits et al., 2015).

La douleur peut être considérée comme est une sensation qui comporte diverses « dimensions » intégrées par différentes régions du cerveau : une dimension physiologique intégrée par le système somatosensoriel, une dimension affective et motivationnelle intégrée par les régions limbiques et une dimension cognitive intégrée par les régions thalamocorticales. Ces « dimensions » ou processus se retrouvent également altérés dans la dépression et il apparaît donc cohérent que ces deux pathologies présentent des interactions complexes (Campbell et al., 2003), notamment à travers des altérations fonctionnelles dans le traitement cérébral des informations. Chez les individus sains, les parties dorsales de l'insula traitent les informations douloureuses alors que l'insula antérieure traite l'information émotionnelle. Chez les patients atteints d'un EDC, ce traitement de l'information émotionnelle va en partie être réalisé dans ces régions dorsales de l'insula, c'est-à-dire dans des régions reliées à la douleur physique chez les patients sains (Mutschler et al., 2012).

L'origine de l'EDC semble ainsi provenir d'une combinaison d'altérations de différents systèmes biologiques et psychologiques interagissant entre eux de manière complexe.

L'étude de ces mécanismes biologiques est donc impérative afin de soulager plus efficacement les patients. En effet, bien que des traitements soient disponibles depuis de nombreuses années, leurs effets indésirables ainsi que leur absence d'efficacité chez près de 30% des patients (Barohn et al., 2021 ; Lesser et al., 2004) restent toujours une limitation thérapeutique majeure.

### 2.3. Evaluer la dépression chez les animaux

Chez l'homme, le diagnostic d'un trouble de l'humeur nécessite une anamnèse, c'est-à-dire un entretien au cours duquel le patient va pouvoir décrire ses symptômes et son « histoire » à un praticien. Notre incapacité à communiquer de manière directe et compréhensible avec les animaux, notamment les rongeurs, ne permet toutefois pas l'utilisation d'outils diagnostiques similaires à ceux utilisés chez l'homme, et d'autres stratégies ont été mise en place. Des tests comportementaux modélisant des symptômes de la dépression ont ainsi été développés, et chez l'animal on n'utilisera pas les termes d'EDC ou de dépression mais plutôt de comportements de type anxieux ou dépressif. Certains symptômes de l'EDC tels que le sentiment de tristesse, la présence de remords ou d'idée suicidaires ne sont pas modélisables chez les rongeurs, tandis que d'autres tels que l'anxiété, l'anhédonie, l'apathie, les altérations du sommeil ou les changements dans le poids le sont plus facilement. De plus, une batterie de tests comportementaux sera souvent utilisée pour étayer la conclusion d'un phénotype de type dépressif.

Un des symptômes de type dépressif observable chez les rongeurs est le désespoir. Pour cela, l'animal est placé dans une situation désagréable et inévitable à laquelle il tentera de se soustraire. Deux tests sont couramment utilisés pour mesurer ces comportements : le test de nage forcée (Forced Swim Test – FST) (Porsolt et al., 1978 ; Cryan et al., 2005 ; Yankelevitch-Yahav et al., 2015) et celui de suspension par la queue (Tail Suspension Test – TST). Le FST consiste à placer l'animal dans un récipient circulaire rempli d'eau (Porsolt et al., 1978) tandis que le TST consiste à suspendre l'animal par la queue sans aucune prise environnante (Cryan et al., 2005). Au début des tests, l'animal nage activement pour le FST ou tente de se redresser pour le TST, puis ces comportements diminuent laissant apparaître des périodes d'immobilités. L'augmentation du temps d'immobilité entre des animaux contrôles et test permet ainsi d'identifier la présence éventuelle d'une résignation accrue, considérée comme modélisant le « désespoir ».

Un second symptôme de l'EDC observable chez les rongeurs est l'anhédonie, c'est à dire l'incapacité à éprouver du plaisir dans une situation qui en procurait auparavant. Une première méthode pour évaluer ce symptôme est le test de choix entre deux bouteilles (two bottle choice) (Levy & Dubois, 2006a ; Castagné et al., 2009). Dans ce paradigme, l'animal choisi entre une bouteille contenant de l'eau sucrée (1-2% de saccharose) et une autre contenant juste de l'eau et

les volumes consommés sont mesurés. En condition de base, les rongeurs ont une préférence naturelle pour la solution sucrée, mais en présence d'un phénotype dépressif celle-ci peut diminuer voire disparaître (Castagné et al., 2009 ; Carratalá-Ros et al., 2023). Ce test peut sembler simple à implémenter, mais il nécessite un contrôle strict des conditions environnementales et sa sensibilité en modèles animaux de dépression reste limitée. De plus, l'hébergement conventionnel des animaux en cage collective ne donne accès qu'à des consommations de groupe, et des mesures individuelles nécessitent l'isolement des animaux (Liu et al., 2018). Un autre paradigme utilisé pour identifier l'anhédonie est l'autostimulation intracrânienne du faisceau médian du télencéphale (Olds & Milner, 1954). De telles stimulations électriques libèrent de la dopamine dans le NAc et le PFC. Elles sont récompensantes et addictives (Olds & Milner, 1954 ; Baird et al., 2021), et des animaux exprimant un phénotype dépressif important peuvent montrer une augmentation du seuil de stimulation nécessaire pour maintenir l'autostimulation par rapport à des animaux contrôles (Cryan et al., 2003). Bien que robuste, cette méthode nécessite de réaliser une chirurgie lourde pour l'animal. Enfin, l'anhédonie peut également s'observer par l'altération du comportement sexuel des rongeurs. En effet, on observe une baisse de la fréquence des interactions sexuelles chez les rongeurs exprimant des comportements de type dépressif (Castagné et al., 2009)

L'apathie est un symptôme défini comme un déficit motivationnel et peut être identifié chez l'animal par une réduction des comportements dirigés vers un but (Levy & Dubois, 2006b ; Tanaka & Hamaguchi, 2019). Le test le plus couramment utilisé pour mettre en évidence ce symptôme, basé sur le principe qu'un rongeur prend soin de son pelage, est le test de pulvérisation d'eau sucrée ou Splash Test. La pulvérisation d'une solution de saccharose (10 à 20%) sur le dos de l'animal déclenche ainsi un comportement naturel de toilettage. L'utilisation d'une solution sucrée visqueuse mime la présence de substances telles que la boue, mais sans ses composantes aversives. On mesure alors la fréquence et la durée des périodes de toilettage pendant cinq minutes et les animaux apathiques présentent une baisse de ces paramètres (Isingrini et al., 2010). Ce test simple à réaliser est très sensible aux conditions environnementales avant et pendant le test. L'apathie peut également être évaluée à travers d'autres changements comportementaux, comme des altérations dans la formation de nid, mesurable avec un test de formation du nid (Nest Test), ou simplement à travers un manque général d'entretien spontané du pelage (Cathomas et al., 2015).

Un autre symptôme de type dépressif observable chez les rongeurs est la réduction des interactions sociales. Les rongeurs sont des animaux grégaires qui, en conditions normales, préfèrent passer du temps avec un autre animal (même étranger) plutôt que seuls. Le test de sociabilité de Crawley (Yang et al., 2011) permet par exemple d'évaluer cet aspect en utilisant 3 compartiments distincts : un central vide et les deux autres abritant soit un animal étranger soit un objet. Après une session d'habituation au dispositif sans congénère ni objet, la préférence d'une souris pour chacun des trois compartiments est mesurée lors de leur présence. Des comportements

de type dépressif peuvent ainsi se traduire par une diminution du temps passé avec le congénère comparé à celui passé avec le nouvel objet (Crawley et al., 2007).

### 2.3.1. Tests d'évaluation de l'anxiété chez les rongeurs

L'expression de comportement anxieux est fréquente chez les patients atteints d'EDC, mais aussi chez les rongeurs présentant un phénotype dépressif. Afin d'évaluer la présence de cette anxiété, plusieurs tests sont basés sur le conflit entre la tendance innée des rongeurs à explorer un environnement inconnu et leur préférence pour les espaces clos et/ou sombres.

Le test du labyrinthe en croix surélevé (elevated plus maze – EPM) consiste en un labyrinthe avec 4 branches disposées en croix, 2 bras fermés et sombres et 2 bras ouverts et lumineux. Cette disposition fait que les bras ouverts sont plus anxiogènes que les bras fermés (Shepherd et al., 1994 ; Carola et al., 2002 ; Lezak et al., 2017).

Le test du clair-obscur (Light-Dark test – LD), est constitué de deux compartiments adjacents reliés par une porte ou un passage étroit. Un des compartiments, fortement illuminé, est plus anxiogène que l'autre qui reste plongé dans l'obscurité (Bourin & Hascoët, 2003).

Le test du champ ouvert (Open Field Test – OF) permet d'évaluer à la fois les comportements anxieux et l'activité locomotrice des rongeurs. Le dispositif est constitué d'une arène carrée dont la zone centrale est plus anxiogène que les bords (Carola et al., 2002 ; Seibenhener & Wooten, 2015).

Dans l'ensemble de ces tests, les comportements de types anxieux sont identifiés par une augmentation de la latence à entrer dans la zone anxiogène (illuminée) et/ou par une diminution du temps passé dans cette zone. Une diminution du nombre d'alternances entre les zones peut aussi indiquer la présence de comportements de type anxieux. Dans ces tests, il est cependant nécessaire d'enregistrer la distance totale parcourue par l'animal ainsi que sa trajectoire afin de vérifier que les altérations ne sont pas dues à des modifications de l'activité locomotrice.

Le test dit d'hyponéophagie (Novelty Supressed Feeding - NSF), plus complexe, utilise un paradigme détectant aussi bien des changements de comportements de type anxieux que dépressif. Il est basé sur le conflit entre la peur d'entrer dans le centre d'un champ ouvert et la motivation à aller manger la nourriture qui y a été déposée. Pour motiver les animaux, ils sont mis à jeun pendant 24 h avant le test (Samuels & Hen, 2011; Blasco-Serra et al., 2017). En présence d'anxiété ou d'une perte de motivation ou d'une apathie, on observe une augmentation de la latence à approcher et manger la nourriture malgré la faim.

### 2.3.2. Tests d'évaluation des altérations des fonctions cognitives associées à un phénotype anxiodépressif chez le rongeur

Des altérations des fonctions cognitives sont classiquement observées chez les patients atteints d'EDC et il en est de même chez les rongeurs qui expriment un phénotype de type dépressif. Deux tests classiquement utilisés chez le rongeur pour évaluer cet aspect sont la piscine de Morris et le labyrinthe en Y. La piscine de Morris mesure la mémoire spatiale et l'apprentissage dépendant de l'hippocampe. De nombreux protocoles sont possibles, dont l'un mesure le temps nécessaire à un animal pour retrouver, sur la base d'indices spatiaux, une plateforme immergée dans une piscine circulaire dont l'eau est opaque (Vorhees & Williams, 2006 ; Yu et al., 2011 ; Darcet et al., 2014). Une trajectoire plus longue que nécessaire et une augmentation du temps pour trouver la plateforme indiquent notamment un déficit de mémoire spatiale. Le labyrinthe en Y, quant à lui, permet d'identifier des altérations de la mémoire de travail, un type de mémoire à court terme (Sarnyai et al., 2000 ; Miedel et al., 2017 ; Kraeuter et al., 2019).

### 2.3.3. Considérations sur les tests

Il est important de noter que beaucoup de ces tests n'évaluent pas uniquement des symptômes présents dans la dépression, mais que d'autres pathologies peuvent présenter les mêmes symptômes. Par exemple, les modèles murins de la maladie d'Alzheimer présentent des déficits cognitifs observables dans le test de la piscine de Morris (Da Cunha et al., 2002 ; Ghafarimoghadam et al., 2022), et les modèles animaux de l'autisme présentent des carences dans les interactions sociales (Arakawa, 2020) alors que dans les deux cas ces animaux n'expriment pas classiquement de phénotype dépressif.

Les dernières avancées dans les techniques de capture vidéo et d'évaluation des trajectoires et des postures fines des rongeurs permettent aujourd'hui d'automatiser un grand nombre de ces tests. Notamment, l'ensemble des tests d'anxiété et d'interactions sociales sont automatisables à l'aide de logiciels commerciaux tels que EthoVision ou Anymaze, ainsi que ou par des solutions OpenSource telles que DeepLabCut (Hédou et al., 2001 ; Bermudez Contreras et al., 2022 ; Bühler et al., 2023). L'automatisation d'autres tests comportementaux comme le FST ou le Splash test est plus complexe et nécessite encore souvent l'expertise de l'expérimentateur pour identifier des comportements spécifiques comme l'immobilité ou le toilettage. Néanmoins, des méthodes automatisées sont désormais disponibles avec des résultats de plus en plus proches de ceux obtenus avec une évaluation manuelle (Hédou et al., 2001). Ces méthodes d'automatisation permettent donc d'analyser plus rapidement un plus grand nombre de variables comportementales en un même temps et dans un plus grand nombre d'animaux, ce qui permet d'effectuer des criblages comportementaux à grande échelle en s'affranchissant des biais liés aux expérimentateurs.

Ces tests sont également très sensibles à l'environnement dans lequel les animaux sont élevés, et la présence de bruits inhabituels ou importants à proximité des animaux ou des changements même mineurs dans les méthodes de test peuvent impacter le niveau d'anxiété des animaux et affecter les résultats obtenus d'une cohorte à l'autre ou d'une pièce de stabulation à l'autre par exemple.

Finalement il est important de rappeler que l'EDC chez l'homme se caractérise par plusieurs symptômes et non par un seul. Il est donc cohérent d'utiliser une combinaison de tests comportementaux ciblant différents symptômes de type dépressif afin de réaliser une évaluation précise de l'état émotionnel des rongeurs.

#### 2.4. Les modèles de dépression chez le rongeur

Comme pour les modèles de douleurs, les modèles de comportements de type dépressif chez les rongeurs visent à remplir les trois critères qui caractérisent un bon modèle : la validité apparente ou phénoménologique, la validité étiologique ou constructive, et la validité prédictive qui correspondent respectivement à l'expression d'un phénotype similaire à celui observé chez l'homme, dont l'origine est cohérente avec les mécanismes pathophysiologiques impliqués dans la pathologie humaine, et dont la réponse aux traitements utilisés chez l'homme est similaire. De nombreux modèles ont ainsi été développés notamment pour représenter la variété des étiologies pouvant conduire à un EDC chez l'humain.

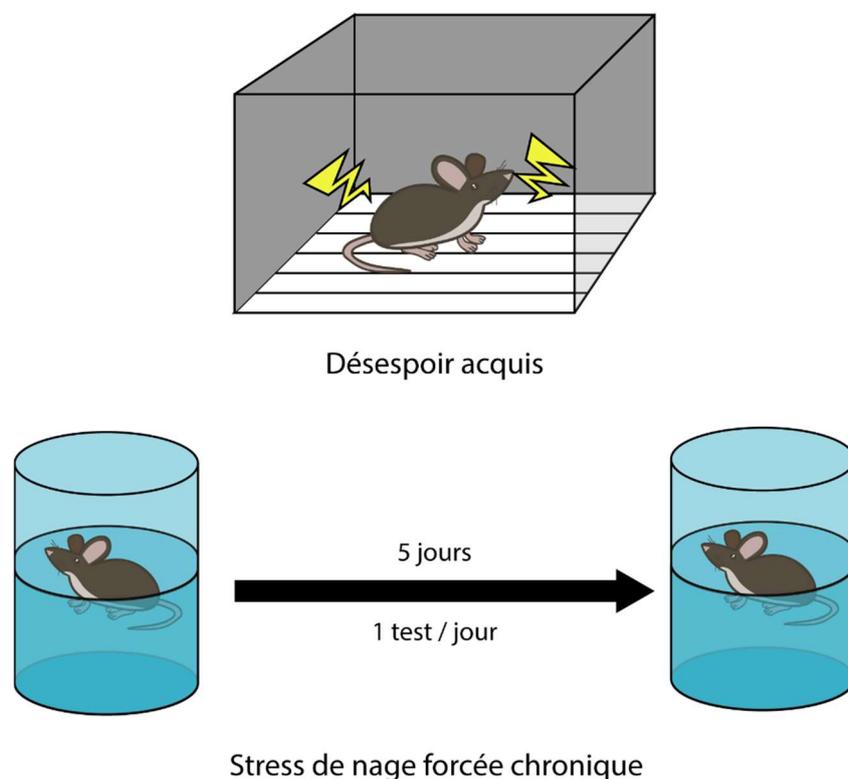
##### 2.4.1. Modèles de stress environnemental

Ces modèles reposent sur le principe qu'un être humain va au cours de sa vie subir de nombreux stress environnementaux auquel il ne peut se soustraire et que ceux-ci peuvent constituer une cause d'EDC (Otte et al., 2016). Ces modèles vont ainsi exposer les rongeurs à différents types de stress environnementaux de manière aiguë ou chronique.

Si le FST réalisé de façon aiguë ne peut pas être considéré comme un modèle de dépression, sa répétition sur plusieurs jours constitue un modèle de stress répété entraînant des changements comportementaux robustes et stables jusqu'à 2 semaines après le dernier FST (Mul et al., 2016) (**Figure.8**).

Un second modèle pouvant être utilisé est celui du désespoir acquis (Learned Helplessness – LH). Ce modèle (illustré **Figure.8**) utilise l'application répétée d'un stress non prédictible et non évitable, en l'occurrence l'application de chocs électrique aux pattes. Après plusieurs sessions, l'évaluation du phénotype est réalisée en appliquant une nouvelle série de chocs électriques aux animaux, mais en leur permettant cette fois de s'échapper facilement (Chourbaji et al., 2005 ; Landgraf et al., 2015 ; Maier & Seligman, 2016 ; Pryce et al., 2012 ; Seligman & Beagley, 1975). Certains des animaux qui subissent ces chocs inévitables développent un déficit dans l'évitement du stimulus aversif, qui se traduit par une augmentation de la latence à s'échapper voire une

incapacité à s'échapper (Muneoka et al., 2013), en plus de présenter des changements physiologiques avec une augmentation des taux de glucocorticoïde et des cytokines pro-inflammatoires (Cheng et al., 2015, 2018 ; Chourbaji et al., 2005 ; Henn & Vollmayr, 2005 ; Pryce et al., 2012) et un phénotype de type dépressif dans d'autres tests comportementaux (anhédonie, variation du poids, altération du sommeil et de l'activité locomotrice) (Palma et al., 2000 ; Vollmayr et al., 2004). Ces phénotypes sont réversibles par l'application d'antidépresseur (Maudhuit et al., 1997). Ce modèle permet aussi d'étudier les mécanismes impliqués dans les phénomènes de résilience au stress, une partie des animaux ne développant pas le phénotype (Baratta et al., 2023 ; Henn & Vollmayr, 2005). Une critique importante de ce modèle est que le stress utilisé pour produire le phénotype est à la fois peu éthologique et peu représentatif de ceux subits par l'homme et que le modèle serait plus proche d'un syndrome de stress post-traumatique.



**Figure 8. Illustration de modèles de stress environnementaux.**

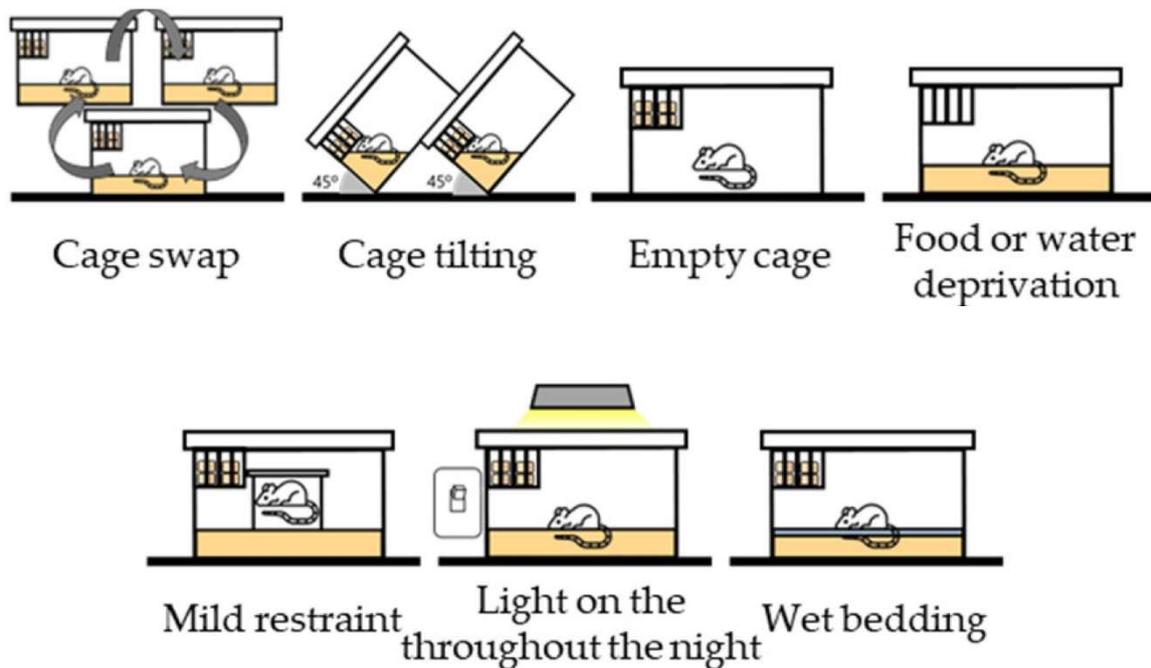
Chez l'homme, la présence de stress lors des périodes précoces du développement augmente significativement le risque de développer un EDC (Kalia, 2005 ; Otte et al., 2016). Pour reproduire cette étiologie, plusieurs modèles de stress précoce ont été développés. Compte tenu du fait que les hormones du stress traversent le placenta et possèdent une action directe sur le cerveau, l'application de stressseurs à des femelles gestantes permet d'induire un phénotype de type dépressif chez leur descendance (Brannigan et al., 2019 ; Howland et al., 2017 ; Lee & Jung, 2024 ; Maxwell et al., 2018 ; O'Donnell et al., 2014). Plusieurs stressseurs ont été utilisés, tels que la contention, les altérations du cycle jour-nuit, la déprivation de sommeil, le FST, ou l'alternance entre des phases

d'isolement social et des phases de surpopulation (Baratta et al., 2019 ; Brannigan et al., 2019 ; Weinstock, 2016). L'évaluation du phénotype dans la descendance à l'âge adulte révèle une validité apparente au travers d'une anhédonie (observée par une diminution de la préférence pour le saccharose), de comportements dits de « désespoir » (observés par une augmentation de l'immobilité dans le FST et/ou le TST), ainsi qu'à travers la présence d'un phénotype anxieux dans le test d'EPM (Akatsu et al., 2015 ; Brannigan et al., 2019 ; Frye & Wawrzycki, 2003 ; Jia et al., 2015 ; Morley-Fletcher et al., 2003 ; Zheng et al., 2016). Un point intéressant de ce modèle est que les femelles développent des symptômes plus prononcés, en accord avec les données humaines (Akatsu et al., 2015; Sickmann et al., 2015), mais la différence d'ontogénie entre les cerveaux humains et de rongeurs (Bayer et al., 1993 ; Rice & Barone, 2000) rend toutefois compliquée l'extrapolation des données. Un autre modèle communément utilisé pour provoquer un stress précoce est la séparation maternelle. Ce modèle reproduit une négligence maternelle en séparant les petits de leur mère trois heures par jour, du 2<sup>ème</sup> au 12<sup>ème</sup> jour post-natal, ce qui entraîne un stress considérable chez eux. Une fois adultes, les animaux présentent des phénotypes anxieux dans les tests d'EPM et de champ ouvert (OF) ainsi que des altérations de l'apprentissage et de la mémoire (Goodwill et al., 2019 ; Romeo et al., 2003), qui sont diminués par un traitement chronique avec un antidépresseur, la fluoxétine (Bhansali et al., 2007). La reproductibilité de ce modèle est néanmoins délicate, à cause notamment de l'absence de contrôle de la « quantité » de stress perçu ainsi qu'aux fortes variations de sensibilité au stress entre les souches de souris. De plus, les petits correspondent d'un point de vue développemental à des prématurés humains, ce qui complique l'extrapolation aux bébés et aux enfants en bas âge. Un dernier modèle de stress précoce repose sur l'isolement social des rongeurs après leur sevrage, notamment pour mimer des altérations de l'environnement social lors de l'enfance à l'adolescence. Pour cela, un isolement physique d'une durée de 3 à 8 semaines est réalisé à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine post-natale, c'est-à-dire au sevrage, tout en maintenant un contact visuel, auditif et olfactif avec les congénères (Yorgason et al., 2016). Ce protocole va empêcher les jeux sociaux et l'établissement de la hiérarchie sociale nécessaire au développement psychologique des rongeurs. Ils vont alors développer un syndrome de stress, caractérisé par des comportements de type anxieux dans l'OF et l'EPM qui ne sont pas réversible par une socialisation ultérieure, et des comportements de type dépressif dans le FST et le Splash test qui peuvent être corrigés par un traitement à la fluoxétine (Ferdman et al., 2007 ; Fone & Porkess, 2008 ; Kuramochi & Nakamura, 2009 ; Rivera-Irizarry et al., 2020 ; Weiss et al., 2004). Lorsque ce modèle est mis en place chez le rat, les individus une fois adultes et remis en situation de contact social vont alterner entre des attaques rapides et des interactions sociales tout en présentant une augmentation des comportements défensifs (Toth et al., 2011). Ce schéma comportemental fragmenté peut être corrigé en associant la fluoxétine à une resocialisation (Toth et al., 2011). L'ensemble de ces modèles de stress précoces présente des altérations physiologiques similaires, telles qu'une augmentation des taux de corticostérone (Djordjevic et al., 2009 ; Harvey et

al., 2019 ; Lopez & Laber, 2015 ; Martin & Brown, 2010), une diminution des niveaux de BDNF dans l'hippocampe (Marais et al., 2008 ; Rice et al., 2008 ; Ieraci et al., 2016; Van Bodegom et al., 2017 ; Goodwill et al., 2019), ainsi que des altérations spécifiques à chaque modèle, tels que des changements des niveaux du facteur de croissance nerveuse (NGF) à la suite de la séparation maternelle par exemple (Goodwill et al., 2019 ; Ieraci et al., 2016 ; Marais et al., 2008 ; Rice et al., 2008 ; Van Bodegom et al., 2017).

Le stress chronique étant un facteur prédictif du développement d'un EDC chez l'adulte (Hammen, 2018), des modèles de stress d'une durée de plusieurs semaines ont été mis en place. Le modèle du stress chronique non prédictible (Chronic Mild Stress – CMS, illustré **Figure.9**) utilise une alternance de stress légers et aléatoires sur une période d'une à sept semaines (Moreau et al., 1995 ; Broekkamp, 1997 ; Willner, 2005). Les stress utilisés sont très divers allant de méthodes traditionnelles telles que la contention, le TST, les altérations du rythme circadien ou des privations de nourriture, à des stress plus atypiques tels que des chocs aux pattes, des pincements de la queue, ou de la marche sur la glace par exemple (Willner, 2005, 2016). On observe alors des changements émotionnels reflétés notamment par des défauts du toilettage, des comportements agressifs ou une anhédonie, qui sont réversibles par des traitements antidépresseurs chroniques (Willner et al., 1987 ; Moreau et al., 1995 ; Hu et al., 2017 ; Rudyk et al., 2019 ; Sequeira-Cordero et al., 2019). Ce modèle possède toutefois une très forte variabilité interindividuelle, avec près de 60% des souris pouvant présenter une résilience aux symptômes dépressifs malgré une diminution de leur activité locomotrice et exploratoire (Strekalova et al., 2004 ; Jayatissa et al., 2006). Cet aspect peut aussi être considéré comme un avantage pour étudier le mécanisme de résilience ou de susceptibilité sous-jacent, phénomène aussi présent chez l'homme. Ce modèle est néanmoins compliqué à mettre en place, car il nécessite beaucoup d'espace en animalerie, du temps et du personnel. Un modèle de stress chronique plus simple à implémenter est celui de contention répétée, qui consiste à immobiliser l'animal dans un cylindre entre deux et huit heures par jour pendant 21 jours (Huang et al., 2015 ; Xu et al., 2017 ; Woo et al., 2018). Les animaux exposés à cette procédure développent des comportements de type anxiodépressif, tels qu'une anhédonie, une diminution des interactions sociales et une augmentation des niveaux d'anxiété (Kim & Han, 2006 ; Christiansen et al., 2011 ; Grizzell et al., 2014 ; Park et al., 2018). Ces symptômes sont réversibles par des traitements antidépresseurs, mais présentent le défaut de ne durer que peu de temps après la fin de la procédure de contention répétée, ce qui constitue un point de divergence avec les symptômes humains. Ces deux modèles de stress vont présenter des altérations de l'axe HPA (Hill et al., 2012 ; Park et al., 2018), ainsi qu'une diminution des niveaux de BDNF dans

l'hippocampe et des altérations des systèmes monoaminergiques et sérotonergiques pour le CMS (Hill et al., 2012).

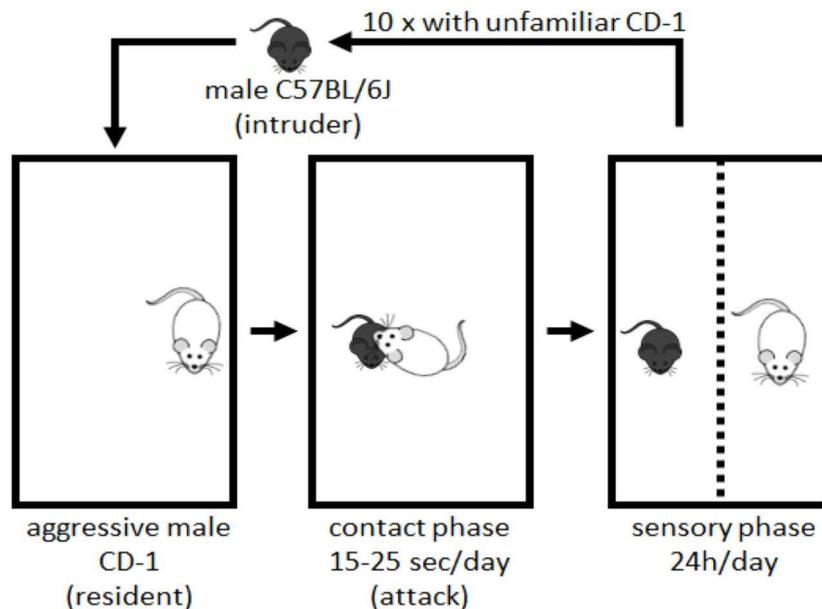


**Figure 9. Modèle de stress chronique imprédictible.**  
D'après : Jeong et al., 2022

#### 2.4.2. Modèles de stress social

Le stress psychosocial peut être un facteur important dans les origines de l'EDC chez l'homme. Pour mieux comprendre l'impact et le mécanisme de cette forme de stress, un modèle de défaite sociale a par exemple été développé chez le rongeur (Golden et al., 2011). Ce modèle repose sur le paradigme résident-intrus (illustré **Figure.10**), dans lequel on utilise une souris de nature agressive, comme une souris de souche ICR, placée à résidence dans une cage. Une souris « intrus », pouvant être d'une autre souche comme C57, sera introduite dans la cage et va être attaquée par la souris résidente. Après cette première phase, on va placer la souris intrus dans un compartiment de la cage afin de maintenir le contact visuel, auditif et olfactif, mais plus physique, avec l'agresseur et ainsi créer un stress psychologique. On réalise une session par jour pendant dix jours, les souris intrus étant exposées à de nouvelles résidentes chaque jour. Ce protocole, bien que lourd à mettre en place, permet le développement d'un comportement de subordination chez près d'un tiers des souris (Golden et al., 2011), qui va être associé à une aversion des contacts sociaux à long terme.

L'un des défauts de ce test est la durée limitée des symptômes provoqués, mais surtout qu'il n'est réalisable que chez les mâles, les femelles ne présentant pas suffisamment d'agression entre elles. Pour pallier ce problème, un modèle d'instabilité sociale a été développé. Il repose sur la déstabilisation de l'organisation sociale des rongeurs en alternant des périodes d'isolement social et des périodes de surpopulation ainsi que des modifications régulières des congénères (Goñi-Balentziaga et al., 2018 ; Haller et al., 1999). Ce modèle a l'avantage d'être efficace chez les mâles et les femelles, mais nécessite du temps pour sa mise en place. Un modèle bien plus simple de stress social consiste à réaliser un isolement social complet du rongeur. Ceux-ci étant des animaux grégaires, l'absence de contact social direct de manière prolongée va entraîner le développement de comportements de type dépressif (Watanabe et al., 2022). L'ensemble de ces modèles de stress sociaux vont, en plus de présenter une certaine pertinence éthologique et étiologique, aussi présenter une validité de construction avec la présence d'anhédonie (Krishnan et al., 2007 ; Rygula et al., 2005), d'immobilité accrue dans le TST et le FST (Krishnan et al., 2007 ; Rygula et al., 2005), de comportements de type anxieux dans l'EPM (Goñi-Balentziaga et al., 2018 ; Jarcho et al., 2016 ; Labaka et al., 2017), ainsi que de modifications de l'axe HPA (Avgustinovich et al., 2005 ; Krishnan et al., 2007) qui sont réversibles par des traitements chroniques par antidépresseurs (Berton et al., 2006 ; Tsankova et al., 2006 ; Yohn et al., 2019).



**Figure 10. Modèle de défaite sociale.**  
D'après : Wendelmuth et al., 2020

### 2.4.3. Modèles de comorbidité douleur-dépression

Comme évoqué dans une section précédente, l'EDC est l'une des comorbidités fréquentes de la douleur chronique. Pour étudier ces conséquences émotionnelles de la douleur chronique, deux types de modèles sont principalement utilisés chez le rongeur : ceux de douleur inflammatoire chronique et ceux de douleur neuropathique. Les diverses équipes de recherche qui ont utilisé des modèles de douleurs chroniques ont toutefois rapporté des résultats variables, mettant notamment en évidence l'importance du point temporel d'évaluation des symptômes de type anxiodépressif dans ces modèles.

Les modèles de douleurs chroniques d'origine inflammatoire présentent une apparition des symptômes anxieux très précoce. Après induction de douleur inflammatoire, les rongeurs expriment, en 24 h, une diminution du temps passé dans les bras ouverts dans l'EPM (Fernández-Guasti et al., 2005 ; do Nascimento & Leite-Panissi, 2014 ; Ji et al., 2017) et l'EZM (elevated zero-maze) (Refsgaard et al., 2016), ainsi que du temps passé dans le compartiment éclairé dans le LD (do Nascimento & Leite-Panissi, 2014). Ces symptômes peuvent être encore présents après 3 à 4 semaines selon les tests (Narita, Kaneko, et al., 2005 ; Narita et al., 2006 ; Parent et al., 2012 ; Amorim et al., 2014 ; Borges et al., 2014 ; Wang et al., 2015). Une diminution du temps passé dans le centre d'un OF est aussi observable entre 3 et 28 jours (Amorim et al., 2014 ; Chen et al., 2013 ; Grégoire et al., 2014 ; Guo et al., 2016 ; Kim et al., 2012 ; Parent et al., 2012 ; Sun et al., 2016 ; Tian et al., 2017 ; Yue et al., 2018). Certains tests mettent également en évidence la présence de comportements de type anxieux plus tardifs, notamment dans le test d'interaction sociale où les symptômes ne sont visibles qu'après 2 à 3 semaines (Grégoire et al., 2014). Dans le test d'enfouissement, aucune différence n'a été observée 5 semaines post-injection (Urban et al., 2011). Ces animaux présentent également des symptômes de type dépressif avec un certain délai, notamment avec une diminution de la préférence pour le saccharose deux jours après l'injection (Refsgaard et al., 2016) et qui va être encore présente à 4 semaines (Amorim et al., 2014), ainsi qu'une augmentation du temps d'immobilité dans le FST et le TST après une semaine et se maintenant respectivement jusqu'à 35 et 14 jours (Borges et al., 2014 ; Hamann et al., 2016 ; Kim et al., 2012 ; Le et al., 2014 ; Maciel et al., 2013 ; Omorogbe et al., 2018 ; Zhang et al., 2016). L'évolution temporelle des symptômes de type anxieux et de type dépressif ont été moins caractérisés dans les modèles de douleur par injection de carraghénine et celui d'ostéoarthrite. Toutefois, le premier modèle montre une augmentation de l'immobilité dans le FST à 4 semaines post-injection (Amorim et al., 2014), alors que des symptômes de type anxieux ont été observés dans l'EZM pour le second, 41 semaines après son induction (Griffin et al., 2010). Ces différences notables montrent que l'étiologie ou le modèle de douleur influence l'apparition et l'évolution des troubles affectifs.

Lorsque l'on s'intéresse aux conséquences émotionnelles de la douleur chronique d'origine neuropathique, la première chose qui apparaît est le délai bien plus long avant l'apparition des comportements de type anxiodépressif ainsi que leur durée par rapport aux modèles inflammatoires. La plupart des modèles neuropathiques traumatiques vont ainsi montrer des comportements de type anxieux aux alentours de 3-4 semaines post-chirurgie que ce soit dans l'EPM (Chen et al., 2018 ; Pan et al., 2018 ; Roeska et al., 2009 ; Sang et al., 2018 ; Seminowicz et al., 2009 ; Sieberg et al., 2018 ; Zhang et al., 2017), l'EZM (Alba-Delgado et al., 2016, 2018 ; Dimitrov et al., 2014 ; Llorca-Torralba et al., 2018), l'OF (Alba-Delgado et al., 2018 ; Avila-Martin et al., 2015 ; Chen et al., 2018 ; Dimitrov et al., 2014 ; Galan-Arriero et al., 2014 ; Gong et al., 2018 ; Sang et al., 2018 ; Zhang et al., 2017), le LD (Chen et al., 2018 ; Suzuki et al., 2007 ; Yalcin et al., 2011), les interactions sociales (Benbouzid et al., 2008) ou le test d'enfouissement de billes (Benbouzid et al., 2008 ; Guida et al., 2015 ; Yalcin et al., 2011). Ces comportements peuvent ensuite persister jusqu'à 4 à 8 semaines de plus [EPM : (Suzuki et al., 2007 ; Lyons et al., 2015 ; Descalzi et al., 2017 ; Sang et al., 2018); LD : (Barthas et al., 2017 ; Lyons et al., 2015, 2018 ; Sellmeijer et al., 2018 ; Suzuki et al., 2007 ; Yalcin et al., 2011); OF : (Aguilar-Ávila et al., 2019 ; Gong et al., 2018 ; Lyons et al., 2015 ; Suzuki et al., 2007)].

En présence de douleur neuropathique, les animaux vont également exprimer des comportements de type dépressif. Certains de ces comportements ont pu être observés relativement tôt dans certains modèles. Une diminution de la préférence au saccharose a ainsi été rapportée après 1 à 2 semaines seulement dans le modèle de SNL (Zhu et al., 2017 ; Wu et al., 2018) et à 2 semaines dans le modèle de SNI (Goffer et al., 2013) et est encore présente à 10 et 11 semaines postchirurgie respectivement dans les modèles de SCI et SNI (Fu et al., 2018 ; Thompson et al., 2018 ; Wu et al., 2014). Le test d'hyponéophagie a permis d'observer un phénotype dès 2 à 4 semaines après la chirurgie (Mutso et al., 2012 ; Sellmeijer et al., 2018) et qui reste observable jusqu'à au moins 8 et 9 semaines postchirurgie dans les modèles du cuff (Barthas et al., 2015, 2017 ; Yalcin et al., 2011), de ligature partielle du nerf sciatique (PSNL) (Hisaoka-Nakashima et al., 2022) et de CCI (Jiang et al., 2019). Le FST et le TST révèlent la présence de désespoir via une augmentation de l'immobilité entre 3 et 4 semaines post-chirurgie dans les modèles de SNL (Chung et al., 2017 ; Hu et al., 2010), de SNI (Guida et al., 2015 ; Zhang et al., 2019), de CCI (Ferreira-Chamorro et al., 2018 ; Wang et al., 2019) et PSNL (Brüning et al., 2015 ; Gai et al., 2014 ; Wang et al., 2017). Dans le modèle du cuff, l'augmentation d'immobilité n'est détectée qu'à d'environ 8 semaines (Yalcin et al., 2011). De manière similaire, le test de pulvérisation d'eau sucrée ne met en évidence une apathie qu'à partir de 6 semaines dans le modèle du cuff (Barthas et al., 2015 ; Sellmeijer et al., 2018 ; Yalcin et al., 2011). Les comportements de type dépressif sont toujours observables entre 7 et 9 semaines après la chirurgie dans le FST selon le modèle (SNL : (Suzuki et al., 2007) ; SNI : (Gonçalves et al., 2008 ; Descalzi et al., 2017); SCI : (Boadas-Vaello et al., 2018);

PSNL : (Hisaoaka-Nakashima et al., 2022), et jusqu'à 10 semaines dans TST dans le modèle de CCI (Wu et al., 2014). L'apathie mise en évidence par le test de pulvérisation d'eau sucrée est toujours observable à 16 semaines dans le modèle du cuff (Sellmeijer et al., 2018).

Bien que dans l'ensemble les réponses aux tests comportementaux soient similaires, certains modèles présentent néanmoins des spécificités. Par exemple, dans le modèle de SNI, les animaux peuvent présenter un désespoir très tôt, entre 1 et 2 semaines après l'induction (Stratinaki et al., 2013 ; Zhou et al., 2015 ; Laumet et al., 2017 ; Xie et al., 2017 ; Pan et al., 2018 ; Yang et al., 2019), ainsi que des symptômes anxieux qui vont persister entre 4 et 6 mois (Seminowicz et al., 2009). Ce modèle permet aussi de mettre en évidence des animaux résilients et sensibles au travers du test de préférence pour le saccharose (Xie et al., 2017 ; Yang et al., 2019). De plus, chez le rat, les conséquences émotionnelles du modèle de douleur neuropathique seraient plus importantes lorsque la lésion du nerf est réalisée à gauche plutôt qu'à droite (Leite-Almeida et al., 2012). Le modèle de CCI va quant à lui conduire à une augmentation d'immobilité dans le FST entre 1 et 2 semaines (Fukuhara et al., 2012 ; Li et al., 2014, 2019 ; Garg et al., 2017), mais à une diminution de la préférence pour le saccharose qui n'est détectable qu'à partir de 4 semaines (Dellarole et al., 2014 ; Wang et al., 2019). Cela suggère l'apparition d'un désespoir précoce, mais d'une anhédonie plus tardive. Le modèle de PSNL présente quant à lui une récupération spontanée des comportements anxieux dans l'EPM (González-Sepúlveda et al., 2016) alors que celui de constriction chronique du nerf sciatique (SCI) ne va pas présenter de comportement de type anxieux dans le LD (Boadas-Vaello et al., 2018).

Le modèle du « Cuff » est un autre modèle de douleur neuropathique présentant des caractéristiques particulières (Pitcher et al., 1999b ; Benbouzid et al., 2008). Ce modèle consistant en l'implantation d'un manchon autour de la branche principale du nerf sciatique (description complète de la procédure réalisée dans le paragraphe portant sur les modèles de douleur de chronique) permet d'induire de manière standardisée une douleur neuropathique (Yalcin et al., 2014), mais aussi des symptômes anxiodépressifs de manière stable (Yalcin et al., 2011). Yalcin et ses collaborateurs ont mis en évidence dans ce modèle le développement de symptômes de type anxieux entre 4 et 5 semaines après la chirurgie (Yalcin et al., 2011). Cela est observable au travers du LD, du test d'enfouissement des billes, ainsi que dans le NSF. Dans cette même étude, la présence de comportements de type dépressif a été mise en évidence au travers des tests de pulvérisation d'eau sucrée ainsi que du test de nage forcée à partir de respectivement 6 et 8 semaines post-chirurgie. Une particularité de ce modèle est qu'il n'entraîne pas d'altération de l'axe HPA, à la différence de la majorité des modèles de dépression basés sur le stress. Ce modèle présente aussi l'intérêt de récupérer spontanément de l'hypersensibilité mécanique à partir de 10 à 12 semaines post-induction, tout en maintenant un certain temps l'expression de comportements de type anxiodépressif (Sellmeijer et al., 2018). Cela montre que les conséquences émotionnelles de

la douleur ne sont pas directement dues à la seule présence des symptômes douloureux, mais qu'elles résultent aussi d'adaptations à long terme dans les voies cérébrales impliquées dans le traitement de l'information douloureuse et émotionnelle.

### 3. Pourquoi étudier le système dopaminergique dans la comorbidité douleur-dépression ?

Le système dopaminergique est impliqué dans un large éventail de fonctions, allant de la régulation des fonctions motrices par la voie nigrostriée à la régulation des processus motivationnels et émotionnels par les voies mésolimbique et mésocorticale (Luo & Huang, 2016). Ces voies sont illustrées **Figure.11**.

De nombreuses pathologies ont été associées à des dysfonctionnements du système dopaminergique, telles que la maladie de Parkinson, l'addiction et les troubles de l'humeur comme la dépression (Jarcho et al., 2012 ; Sophie & Ford, 2012), mais également la douleur chronique (Bosak et al., 2022).

Les études d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle chez l'homme ont notamment montré que le fonctionnement de l'aire tegmentale ventrale (VTA), du noyau accumbens (NAc) et du cortex préfrontale (PFC) est altéré chez les patients souffrant de douleur ou de dépression. Plus spécifiquement, les patients atteints d'un EDC présentent une diminution de l'activité de la VTA (Gong et al., 2017) et la connectivité fonctionnelle entre le NAc et le PFC est réduite lors de l'expression de symptômes dépressifs (Froeliger et al., 2015 ; Gong et al., 2017 ; Zhang & Li, 2018). En présence de douleur chronique, le NAc présente une diminution du volume de la matière grise (Seifert et al., 2015 ; Hayes et al., 2017 ; Tsai et al., 2018) et une augmentation de l'activité du NAc et du PFC est observable chez ces patients (Baliki et al., 2006 ; Geha et al., 2007 ; Seifert et al., 2015 ; Hayes et al., 2017 ; Tsai et al., 2018). Enfin, la connectivité fonctionnelle entre le NAc et le PFC permet de prédire la persistance de la douleur, supposant l'implication de ce circuit dans la transition de la douleur aiguë vers la douleur chronique (Baliki et al., 2012). De plus, les traitements par stimulation intracérébrale profonde (Deep Brain Stimulation – DBS) ou par stimulation magnétique transcrâniale répétitive (rTMS) de ces régions peuvent être efficaces dans le traitement de la dépression (Bewernick et al., 2010 ; Seldenrijk et al., 2011) et de la douleur (Akram et al., 2016 ; Chen et al., 2019).

Ainsi le système dopaminergique pourrait être un des substrats anatomiques communs entre les troubles dépressifs et la présence de douleur chronique.

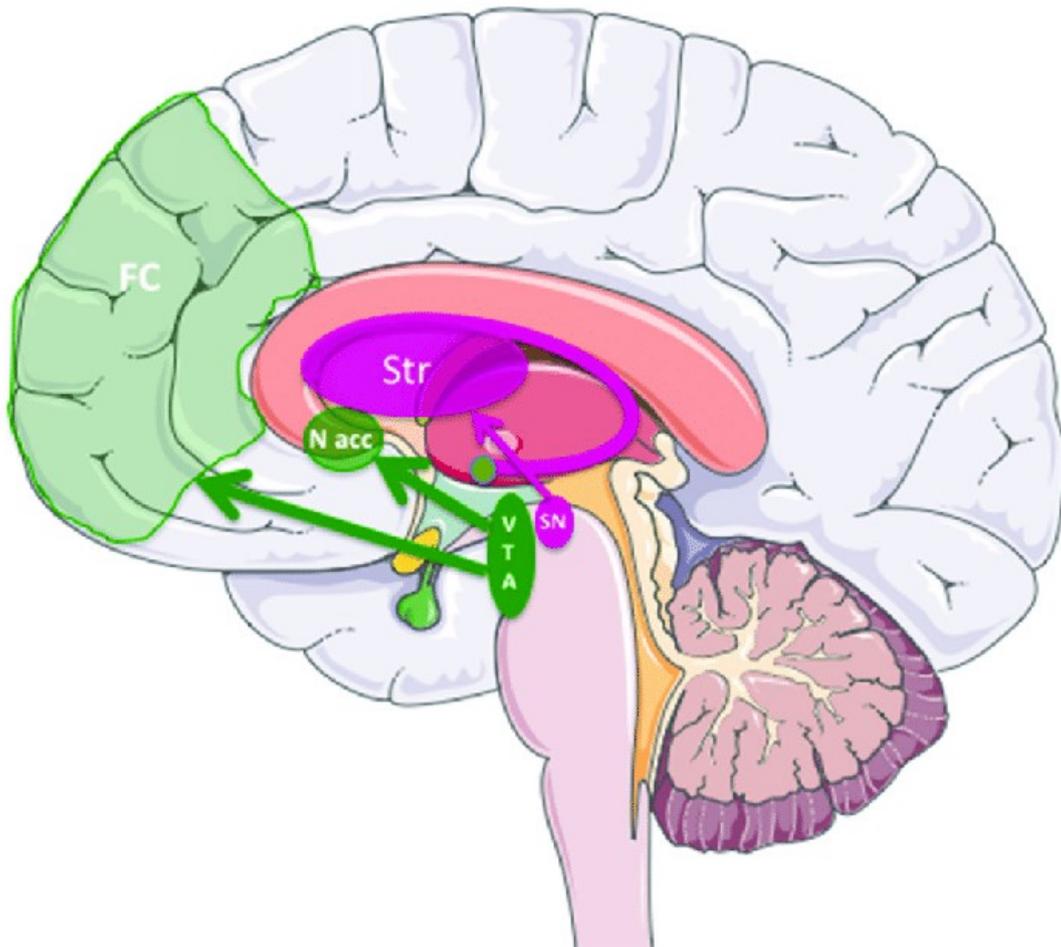


Figure 11. Voies dopaminergiques.  
D'après : Lasbleiz et al., 2019

## 4. Le Système Dopaminergique Mésolimbique

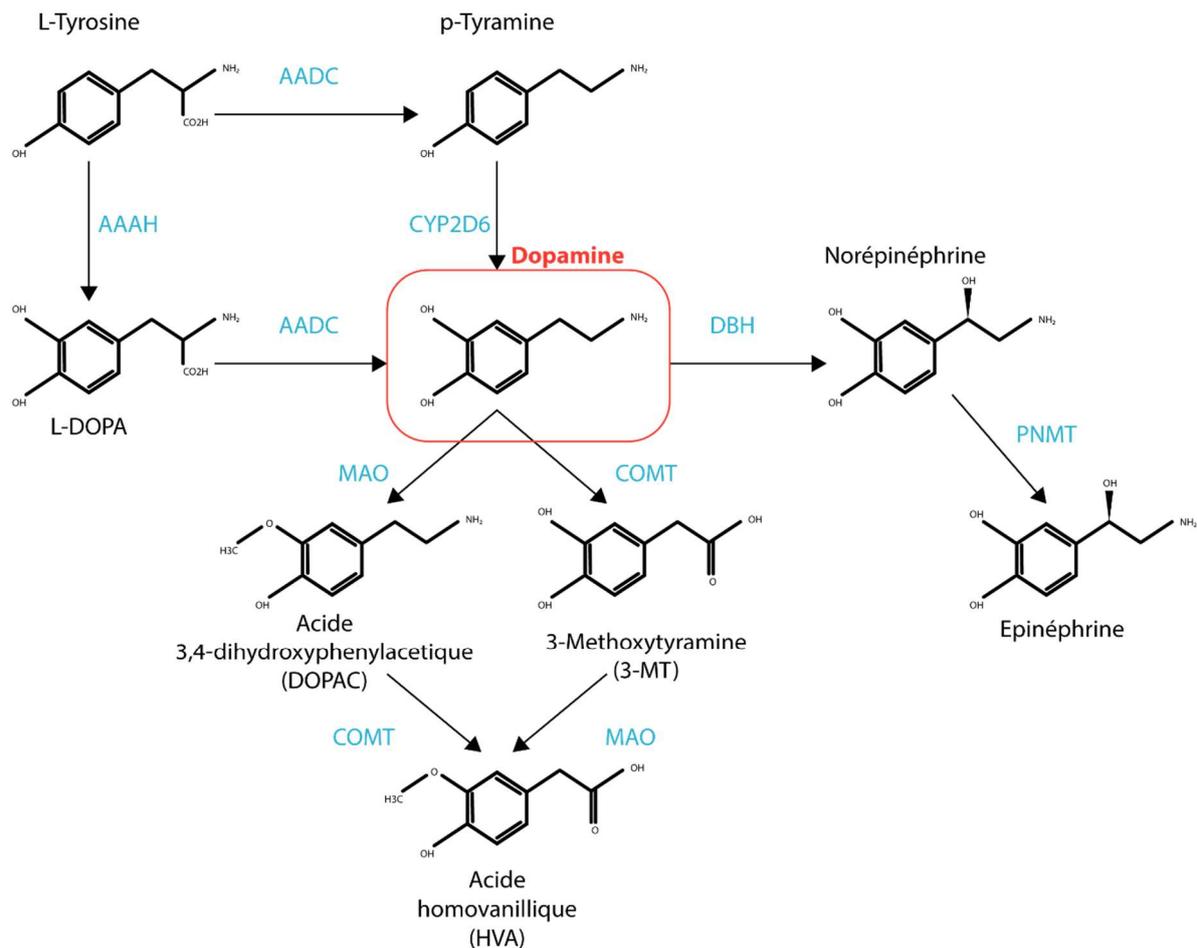
### 4.1. La dopamine

La 3,4-dihydroxyphénylamine, communément appelée dopamine, est une bioamine naturellement présente dans le cerveau de nombreuses espèces animales (Bertler & Rosengren, 1959 ; Smeets & González, 2000 ; Yamamoto & Seto, 2014). Cette molécule, également précurseur de la noradrénaline, a été identifiée dès 1957 par Katharine Montagu (Biochem et al., 1957) et présente une répartition inégale dans le système nerveux central (Carlsson et al., 1958). Les neurones dopaminergiques à l'origine de la biosynthèse de cette amine ont été mis en évidence quelque années plus tard (Fuxe et al., 1970). C'est d'abord son implication dans les fonctions motrices qui a été observée, suite à la présence de symptômes parkinsoniens après une déplétion striatale de la dopamine provoquée par la réserpine chez le lapin (Carlsson, 1959). Souvent décrite de manière simpliste comme étant la molécule du bonheur, son rôle dans les fonctions motivationnelles et son lien avec des pathologies telles que l'addiction ou la dépression n'ont été mises en évidence que plus tardivement (Coppen, 1969 ; Barbeau, 1970 ; Dackis & Gold, 1985 ; Dackis et al., 1986).

La dopamine est un neuromédiateur de la famille des catécholamines synthétisé par les neurones dopaminergiques à partir de la L-tyrosine. La voie principale de biosynthèse (illustré **Figure.12**) utilise la tyrosine hydroxylase (TH) pour produire de la L-Dopa, qui est ensuite métabolisée en dopamine par la DOPA décarboxylase (DDC). La TH est l'enzyme limitante de cette voie. Une seconde voie, mineure, métabolise directement la L-tyrosine en p-tyramine via la DDC puis la p-tyramine est convertie en dopamine dans le cerveau via le cytochrome CYP2D6. La dopamine est soit utilisée en tant que telle par les neurones dopaminergiques, soit métabolisée en noradrénaline, également connue sous le nom de norépinéphrine, par la dopamine bêta-hydroxylase (DBH) dans les neurones noradrénergiques. Concernant sa dégradation, la dopamine est métabolisée en 3-méthoxytyramine (3-MT) par la catéchol-O-méthyltransférase (COMT) ou en acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) par les monoamine oxydases (MAO). Ces métabolites (3-MT et DOPAC) sont ensuite convertis en acide homovanillique (HVA) par la MAO et la COMT respectivement, afin d'être excrétés dans les urines (Molinoff & Axelrod, 1971).

### 4.2. Les aires dopaminergiques du cerveau

Chez les mammifères, les corps cellulaires des neurones dopaminergiques (DA) forment une population neuronale semi-continue qui s'étend du mésencéphale jusqu'au cerveau antérieur. Il existe 11 groupes de neurones DA désignés par la lettre A et un chiffre, allant de A8 à A17 (Kandel et al., 2000).



**Figure 12. Synthèse et métabolisme de la dopamine.**  
Adapté d'après : Beauchaine et al., 2009

Les aires A8 à A10 sont localisées dans le mésencéphale. L'aire A8 se situe dans la formation réticulée du mésencéphale, à proximité de la substance noire et constitue le champ rétro-rubral (German & Manaye, 1993). L'aire A9 est la plus dense et se situe dans la partie ventrolatérale du mésencéphale chez les rongeurs et les primates. La majeure partie de ce groupe correspond à la substance noire compacte (SNc) et ses neurones sont facilement identifiables chez l'homme grâce à l'accumulation de neuromélanine (Nishio et al., 1998). L'aire A10 correspond à l'aire tegmentale ventrale (VTA). Cette région est chez le rongeur la plus grande des aires DA et se trouve dans le tegmentum ventral du mésencéphale (Poirier et al., 1983 ; German & Manaye, 1993).

Les aires A11 à A15 sont plus petites et localisées dans le diencéphale. A11 et A12 représentent des petits groupes de neurones localisés dans l'hypothalamus des primates et des rongeurs (Dahlstroem & Fuxe, 1964). A13 se situe dans le tractus mammillo-thalamique chez les primates et dans le zona incerta chez les souris, où elle occupe une position ventrale et médiale (Felten & Sladek, 1983 ; Franklin & Paxinos, 2013). A14 est constituée de quelques cellules dans les noyaux

préoptiques des primates et des rongeurs (Felten & Sladek, 1983 ; Franklin & Paxinos, 2013). A15 est située près de l'hypothalamus antérieur (Foster, 1994).

L'aire A16 correspond aux neurones DA du bulbe olfactif. Cette région est particulièrement développée chez les rongeurs, mais est également présente chez les primates (German & Manaye, 1993).

Enfin, A17 est constituée de cellules amacrines de la rétine (Chen et al., 2000).

### 4.3. L'aire tegmentale ventrale (VTA)

#### 4.3.1. Découverte et fonction

L'aire tegmentale ventrale (VTA) a été mise en évidence pour la première fois par Tsai en 1925 (Tsai, 1925) lors de l'étude du trajet du tractus optique dans le cerveau de l'opossum. Grâce à des colorations de Nissl et de Golgi, il a décrit une région latérale au noyau interpédonculaire (IP) : le *trigonum interpeduncular*. Cette région est composée du pédoncule mamillaire (*peduncularis corporis mamillaris*), du lemnisque médian (*lemniscus medialis*) et du *nucleus tegmenti ventralis* ou aire tegmentale ventrale. Ce dernier noyau constitue la partie médiale du *trigonum interpeduncular* et s'étend du *pes pedunculi* (pédoncule cérébral) jusqu'à la pointe ventrale de la substantia nigra.

La petite taille des cellules du *nucleus tegmenti ventralis* et la proximité de cette structure avec les *tractus mamillo- et olfacto-tegmentalis* suggèrerait une spécificité anatomique et fonctionnelle de cette région par rapport à la *substantia nigra*, mais cette hypothèse a été mise de côté pendant de nombreuses années notamment en raison de l'hétérogénéité cytoarchitectonique du *nucleus tegmenti ventralis*. C'est Nauta qui dans les années 50 a confirmé cette distinction entre la VTA et la SNc en mettant en évidence des projections spécifiques vers la VTA, notamment en provenance de l'hypothalamus latéral (LH) vers la VTA mais pas la SNc. L'aire tegmentale de Tsai fut ainsi pour la première fois citée par Nauta en 1958 (Nauta, 1958).

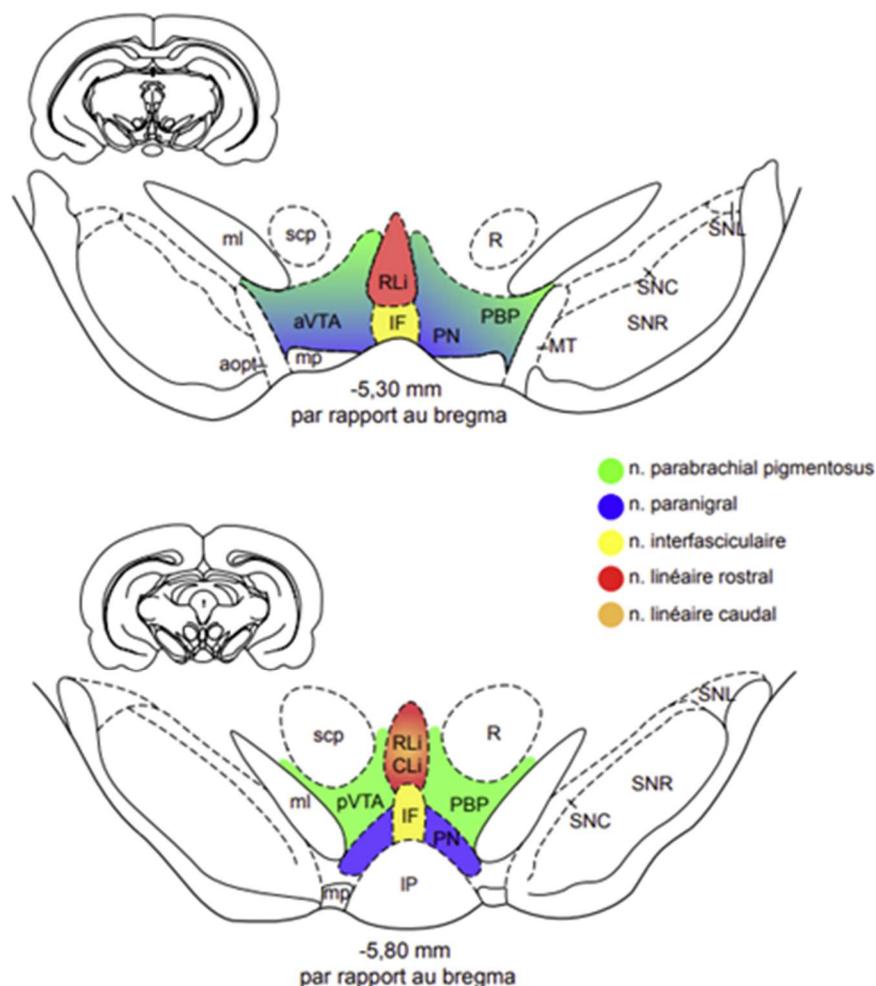
L'aire tegmentale ventrale (VTA) a ensuite été caractérisée dans diverses espèces (Phillipson, 1979a ; Swanson, 1982 ; Oades & Halliday, 1987) et on sait aujourd'hui qu'elle est impliquée dans une variété de fonctions comportementales telles que la motivation, la régulation des émotions, l'apprentissage ou la mémoire ainsi que dans des pathologies comme l'addiction ou la dépression.

#### 4.3.2. Divisions anatomiques de la VTA

Classiquement, la VTA est subdivisée en 5 sous-noyaux riches en neurones DA (illustré **Figure.13**), distinguables par coloration de Golgi. Le noyau paranigral (PN) et le noyau *parabrachial pigmentosus* (PBP) sont bilatéraux, les plus latéraux et les plus importants. Ils s'étendent sur la quasi-totalité de l'axe antéro-postérieur de la VTA. Le PN se trouve dans la portion adjacente à la zone antérolatérale de l'IP, et le PBP est localisé dorsalement puis dorso-latéralement au PN constituant la limite latérale entre la VTA et la SNc (Phillipson, 1979a, 1979c, 1979b). D'un point de

vue cytologique, le PN est composé de neurones au corps cellulaire fusiforme ainsi que de petites cellules prolongées de 2 à 4 dendrites. Dans le PBP, on trouve des neurones fusiformes similaires à ceux de la partie la plus dorsale de la SNc ainsi des neurones avec des corps globulaires de taille moyenne prolongés de nombreuses dendrites.

À cela s'ajoutent 3 noyaux médians : le noyau interfasciculaire (IF), le noyau linéaire rostral (RLi) et le noyau linéaire caudal (CLi) (Kaufling, 2010). L'IF, dorsal à l'IP, s'étend sur toute l'antéro-postériorité de la VTA. Il est surplombé dans sa partie antérieure par le RLi et dans sa partie postérieure par le CLi. Ces noyaux sont pauvres en neurones dopaminergiques. Les corps cellulaires des neurones de l'IF sont plus petits que ceux de la VTA, ronds et regroupés en paquets. Le RLi comporte les cellules les plus grandes de ces noyaux médians. Le CLi présente des cellules légèrement plus petites que celles du RLi.



**Figure 13. Illustration des sous-divisions de la VTA.**  
D'après : Kaufling, 2010

Ainsi l'organisation cytoarchitecturale de la VTA est complexe et ces hétérogénéités morphologiques suggèrent une hétérogénéité fonctionnelle.

#### 4.3.3. Division fonctionnelle de la VTA

Une hétérogénéité fonctionnelle de la VTA a été observée selon son axe antéropostérieur. Chez le rongeur, on distingue ainsi une portion antérieure de la VTA (VTA antérieure, aVTA) d'une partie postérieure (VTA postérieure, pVTA). Une première étude, réalisée en 1979, avait déjà observé que l'infusion de modulateurs des récepteurs GABA<sub>A</sub> provoquait des réponses locomotrices différentes en fonction de la localisation de l'infusion dans la VTA (Arnt & Scheel-Krüger, 1979), mais ce n'est que dans les années 2000 qu'une série d'études utilisant les paradigmes d'autoadministration intracérébrale et de conditionnement de place ont confirmé cette distinction aVTA/pVTA sur des bases comportementales (voir Sanchez-Catalan et al., 2014 pour une revue complète sur le sujet).

Ainsi, confirmant l'étude princeps de 1979, on a observé que des rats s'autoadministrent des agonistes des récepteurs GABA<sub>A</sub> dans la pVTA mais pas dans l'aVTA, tandis que l'autoadministration d'antagonistes des récepteurs GABA<sub>A</sub> ne se produit que lorsque les infusions sont effectuées dans l'aVTA (Ikemoto et al., 1997 ; Ikemoto, 2005a, 2005b). Chez le rat, une autoadministration dans la pVTA mais pas dans l'aVTA a aussi été mise en évidence pour différentes drogues. Pour l'éthanol, l'autoadministration dans la pVTA (Rodd-Henricks et al., 2000, 2003 ; Rodd, Bell, Zharag, et al., 2005 ; Ding et al., 2015) est associée à une augmentation de l'activité des neurones DA de cette sous-région par un mécanisme de désinhibition (Melis et al., 2007, 2015 ; Guan et al., 2012). L'autoadministration intra-pVTA est également observable pour la cocaïne, la nicotine, les cannabinoïdes et l'endomorphine 1, un agoniste des récepteurs  $\mu$  aux opiacés (Rodd-Henricks et al., 2000 ; Zangen et al., 2002, 2006 ; Rodd et al., 2005 ; Lee et al., 2007 ; Ding et al., 2009).

La différenciation aVTA et pVTA n'a pas été mise en évidence que dans le contexte des propriétés récompensantes d'une substance, mais concerne aussi de façon plus large la régulation émotionnelle. Ainsi, plusieurs études illustrent une distinction a/pVTA dans le contexte de comportements de type anxiodépressif. On observe par exemple que la surexpression de la PLC $\gamma$  dans l'aVTA augmente l'anxiété, alors que la surexpression de cette molécule dans la pVTA diminue la latence d'immobilité dans le test de la nage forcée et augmente la sensibilité nociceptive (Bolaños et al., 2003).

#### 4.3.4. Hétérogénéité cellulaire de la VTA

Bien que le VTA soit principalement définie comme une région de neurones dopaminergiques (entre ~60 et 70% des neurones) (Nair-Roberts et al., 2008), elle comporte également des neurones GABAergiques (~30 à 35% des neurones) et glutamatergiques (entre 2 et 3% des neurones) (Yamaguchi et al., 2007, 2015a ; Nair-Roberts et al., 2008), et certains des neurones de la VTA

peuvent co-libérer de la dopamine et du GABA ou de la dopamine et du glutamate (Morales & Margolis, 2017). Les neurones de la VTA peuvent également exprimer de façon différentielle des neuropeptides, ainsi que les protéines de régulation du calcium calbindine, calrétinine ou parvalbumine (Seroogy et al., 1988 ; Jayaraman et al., 1990 ; Hyman et al., 1994 ; Liang et al., 1996 ; Grieder et al., 2014 ; Mongia et al., 2019). Les neurones possédant des caractéristiques similaires présentent une tendance à se concentrer dans des sous-régions spécifiques de la VTA et sous-tendent la présence de sous-populations neuronales distinctes (Lammel et al., 2008 ; Li et al., 2013 ; Morales & Root, 2014). L'hétérogénéité cellulaire semble être l'un des facteurs importants dans la diversité des réponses de la VTA en fonction des conditions.

#### 4.3.4.1. Les neurones dopaminergiques de la VTA

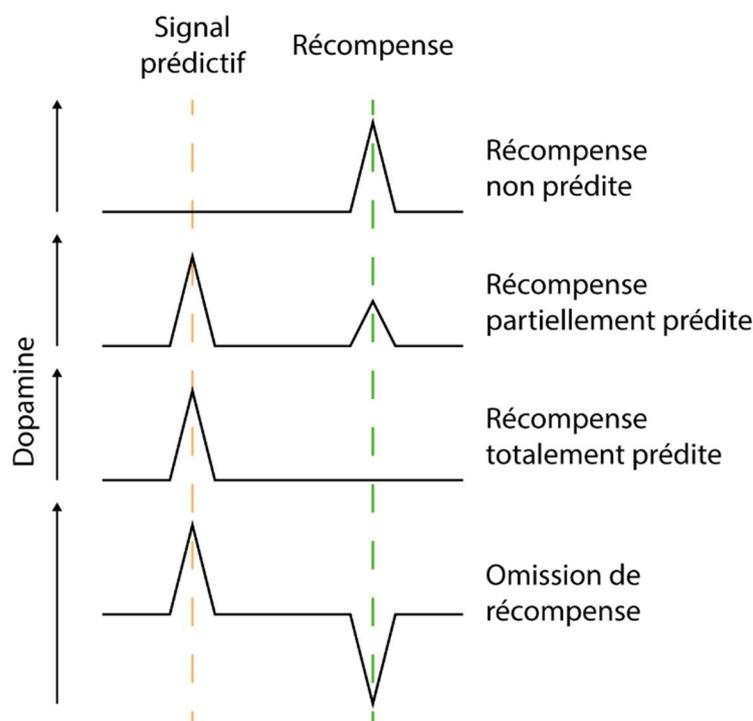
Les neurones dopaminergiques (DA) ont été le premier type de neurones identifié dans la VTA. Ils expriment la tyrosine hydroxylase (TH) (Pickel et al., 1976) ainsi que le transporteur de la dopamine (DAT) et le transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT2).

De manière surprenante, une sous-population de neurones TH-positifs n'exprimant pas VMAT2 et DAT a toutefois été mise en évidence dans la partie médiale de la VTA chez le rat (Li et al., 2013) ; et des neurones expriment l'ARN messager de la TH mais sans niveau détectable de la protéine ont également pu être observés (Yamaguchi et al., 2015).

De façon générale, l'ensemble des neurones TH-positifs de la VTA ont une libération synaptique et somatodendritique de la dopamine. Au niveau cellulaire, l'action de la dopamine est exercée via l'activation de 5 récepteurs couplés aux protéines G (RcpG), regroupés en 2 grandes sous-familles : les récepteurs de type D1 (comprenant les récepteurs D1A-1D et D5) qui sont couplés à des protéines G stimulatrices (Gs) ; et les récepteurs de type D2 (comprenant les récepteurs D2, D3 et D4), qui sont eux couplés à des protéines G inhibitrices (Gi). Bien que l'action des récepteurs de ces deux sous-familles soit opposée, ils agissent souvent de manière coordonnée (Arias-Carrián et al., 2010).

À la fin des années 90, Wolfram Schultz observa chez le primate non humain que les neurones DA de la VTA étaient impliqués dans les processus liés à la récompense. Pour cela, il réalisa des enregistrements de neurones unitaires lors d'une tâche opérante. Il montra qu'une récompense non prédite (Schultz, 1997) ou les stimulus prédisant une récompense (Schultz, 1998) activent de manière transitoire des neurones DA de la VTA, émettant une bouffée ou « burst » de potentiels d'action. L'hypothèse principale développée à la suite de ces expériences est que les neurones DA de la VTA encodent l'erreur de prédiction de récompense ou « reward prediction error » en anglais (RPE – illustré **Figure.14**) (Schultz, 2016). Selon cette hypothèse, les neurones DA coderaient la différence entre la récompense prédite et le résultat obtenu. Ces neurones vont dans un premier temps s'activer en présence du stimulus récompensant et libérer de manière transitoire de la

dopamine dans les structures de projection (Schultz, 2016). Avec la répétition de la situation et l'apprentissage qui en résulte, ces neurones vont émettre un pic d'activité non plus lors de l'arrivée de la récompense mais à l'apparition du stimulus qui prédit cette récompense. La différence entre le pic d'activité lors du signal prédictif et le pic lors de l'arrivée de la récompense va coder la différence entre la récompense et sa prédiction, et permettre à l'animal d'identifier les éléments nécessaires pour optimiser son comportement dirigé vers l'obtention la plus efficace de ces récompenses (Schultz, 2016). Lors de l'omission d'une récompense prédite, on observe ainsi une diminution de l'activité des neurones DA au moment où la récompense aurait dû être délivrée (Schultz, 1997). Dans la même logique d'identifier les signaux récompensants ou d'éviter des stimulations aversives, une partie des neurones DA de la VTA sont inhibés lors de l'exposition à des stimulus aversif (Mirenowicz & Schultz, 1996 ; Tanimoto et al., 2004 ; Ungless et al., 2004).



**Figure 14. Illustration de l'erreur de prédiction de récompense.**  
D'après : Schultz, 2016

Néanmoins, plusieurs autres études montrent que certaines sous-populations neuronales de la VTA peuvent aussi être activées par des stimulus aversifs. Une première explication serait que les neurones DA de la VTA augmenteraient leur activité lors de l'arrêt de stimulation aversive, qui serait alors considéré comme une récompense (Brischoux et al., 2009). Une autre hypothèse serait qu'une majorité des neurones de la VTA activés par les stimulations aversives serait en fait des neurones non-DA ou des neurones DA localisés dans la partie médiane de la VTA (Ungless et al., 2004 ; Schultz, 2013). L'existence ces sous-populations de neurones de la VTA répondant à un stimulus aversif a été confirmée à plusieurs reprises, d'une part au travers d'enregistrements unitaires de

neurones DA identifiés optogénétiquement (Cohen et al., 2012), mais aussi grâce à des marquages juxtacellulaires (Brischoux et al., 2009). Cette dernière étude met notamment en évidence que ces neurones DA activés par un stimulus aversif sont localisés dans la partie ventrale de la VTA, proche du PN. En appui de ces données, il a été montré qu'une proportion similaire de neurones DA putatifs était en fait activée ou inhibée par une stimulation nociceptive (Zweifel et al., 2011). Ces études sous-tendent ainsi la notion que la VTA ne coderait pas, ou du moins pas uniquement, la récompense, mais aussi la saillance d'un stimulus par rapport au contexte afin de discriminer les informations utiles dans l'orientation du comportement vers un but.

#### 4.3.4.1.1. Caractéristiques électrophysiologiques

Bien que les neurones DA de la VTA soient hétérogènes, ceux-ci peuvent être caractérisés par un ensemble de propriétés électrophysiologiques communes.

Les caractéristiques des neurones DA ont été étudiées par Grace & Bunney grâce à des enregistrements électrophysiologiques *in vivo* de neurones chez le rat Sprague-Dawley anesthésié (Grace & Bunney, 1984a, 1984b). L'ensemble des neurones DA de la VTA ne sont pas spontanément actifs, certains sont silencieux. Les neurones spontanément actifs vont présenter une fréquence de potentiels d'action (PA) basale dite « pacemaker », d'environ 5 Hz (Grace & Bunney, 1984a ; Kaufling et al., 2017). Cette activité lente et irrégulière présente néanmoins une grande hétérogénéité, les fréquences des PA les plus faibles s'approchant de 1 Hz et les plus rapides de 10 Hz. La répartition des durées entre les potentiels d'actions (inter-spike interval – ISI) dues à cette activité tonique suit une distribution normale autour de l'ISI de la fréquence basale. Elle provient de l'alternance entre des phases de lente dépolarisation suivies par une phase d'hyperpolarisation, retardant le prochain PA (Grace & Bunney, 1984b). Une partie de ces neurones spontanément actifs va également présenter un second schéma d'activité phasique dit en bouffée de potentiels d'action, ou « burst ». Cette activité est caractérisée par un train d'au moins deux PA dans un intervalle de temps restreint suivi d'une période prolongée d'inactivité. De manière générale la fréquence des PA intra-bursts est de 25 à 50 Hz (Grace & Bunney, 1984a). L'amplitude des PA composant un burst a tendance à diminuer, alors que l'ISI entre ces PA tend à augmenter, au fur et à mesure que le burst augmente en durée. La première étude de Grace & Bunney a également défini des paramètres empiriques de détection des burst chez le rat grâce de deux seuils fixes : le seuil d'entrée en burst correspondant à un ISI < 80 ms et un seuil de sortie de burst avec un ISI > 160 ms (Grace & Bunney, 1984a). Ce mode d'activité phasique permet une libération transitoire plus importante de dopamine aux sites de projection des neurones DA (Marinelli & McCutcheon, 2014) Ces modes de décharge associés à des pauses d'activité permettent un codage fin de l'information par les neurones DA.

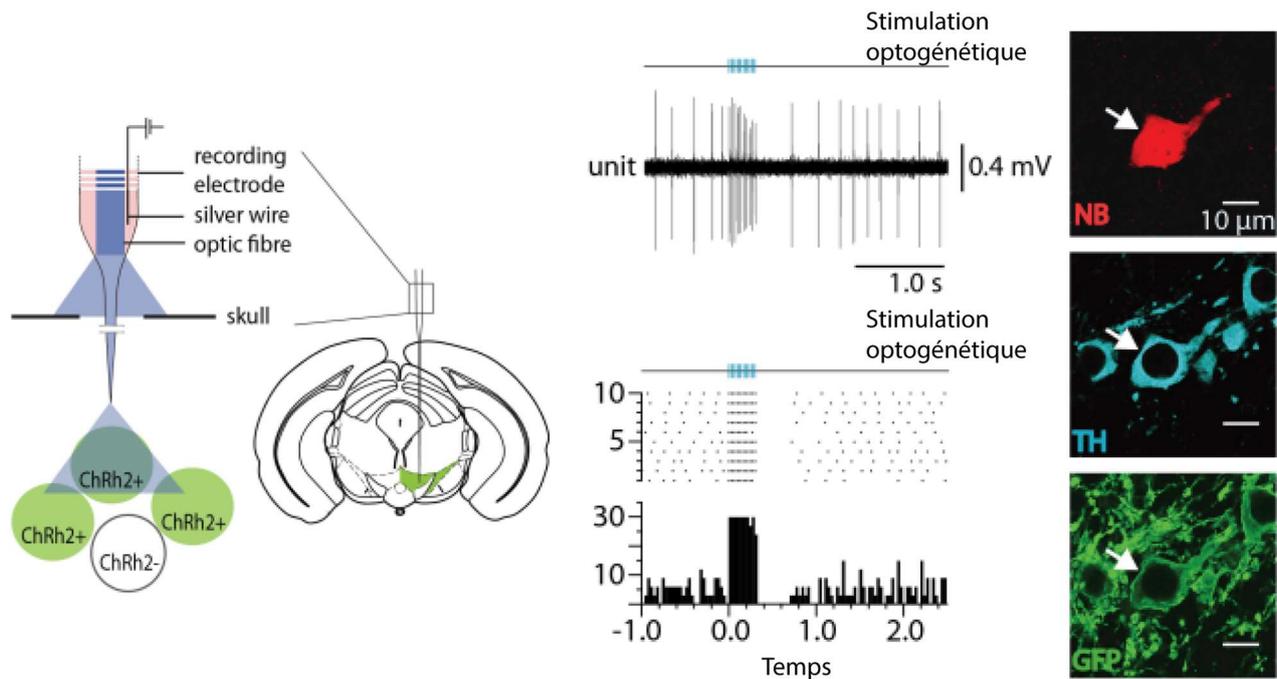
Ces paramètres ont été définis initialement dans la SNc, mais ont été longtemps considérés comme applicables aux neurones DA de la VTA, notamment en raison de la proximité anatomique

et neurochimique entre les deux régions. Afin de confirmer cette hypothèse, des enregistrements de l'activité des neurones de la VTA couplés à leur marquage juxtacellulaire ont été réalisés. Cette technique permet de remplir un neurone par de la neurobiotine, un traceur cellulaire, afin d'identifier la localisation anatomique de son corps cellulaire et éventuellement de ses projections grâce à des techniques histologiques. Il a ainsi été montré à plusieurs reprises que certaines propriétés identifiées précédemment par Grace & Bunney n'étaient pas transférables à tous les neurones DA de la VTA (Johnson & North, 1992 ; Cameron et al., 1997 ; Jones & Kauer, 1999 ; Korotkova et al., 2003 ; Margolis et al., 2003, 2006). En particulier, la présence d'un courant cationique activé par l'hyperpolarisation, ou courant I<sub>h</sub> (Lacey et al., 1989) ne prédit pas nécessairement la présence de TH dans la VTA et ne peut donc pas être utilisé pour identifier la nature dopaminergique d'un neurone dans cette structure (Cameron et al., 1997 ; Jones & Kauer, 1999 ; Margolis et al., 2003, 2006). En effet, des neurones I<sub>h</sub>-positifs mais TH-négatifs peuvent présenter une magnitude de ce courant, une durée des PA, une fréquence et des schémas de décharge des PA ainsi qu'une inhibition par les agonistes des récepteurs D2 identiques aux neurones TH-positifs. L'absence d'un courant I<sub>h</sub> est en revanche un marqueur de neurones non-DA dans la VTA (Jones & Kauer, 1999 ; Margolis et al., 2003, 2006).

Afin de surmonter ce problème de discrimination des neurones DA, en particulier lors d'enregistrements de neurone unique *in vivo*, une méthode d'identification optogénétique des neurones DA appelée « optotagging » peut être utilisée. Cette technique nécessite l'expression d'un canal ionique photo-activable tel que la channelrhodopsine spécifiquement dans les neurones DA de la VTA. Ainsi en réalisant des stimulations optogénétiques à l'aide d'une fibre optique placée dans l'électrode d'enregistrement, ou à proximité de celle-ci, il est possible d'évoquer de manière spécifique des PA dans les neurones DA de la VTA et ainsi d'identifier de manière fiable ces neurones avant de les enregistrer (**Figure.15**, données non publiées, travaux de Master 2 de J. Nieweler encadrée par le Dr J. Kaufling et Dr P. Magill). Finalement, il est à noter que la fréquence d'émission des PA ainsi que les propriétés d'activité phasique des neurones DA de la VTA ne présentent pas de différence significative entre les rats et les souris (Kaufling et al., 2017).

#### 4.3.4.1.2. Régulation de l'activité des neurones DA de la VTA

L'activité des neurones DA de la VTA, notamment phasique, est régulée par des mécanismes intrinsèques à la VTA, mais aussi par des entrées provenant de plusieurs régions, les principaux acteurs étant une inhibition tonique GABAergique combinée à des entrées excitatrices plus ponctuelles (Lobb et al., 2010).



**Figure 15. Illustration de l'identification optogénétique des neurones DA de la VTA.**

**D'après : Nieweler – Non publié**

L'injection de vecteurs viraux dans la VTA de souris *DAT-IRES-CRE* permet l'expression de channelrhodopsine spécifiquement dans les neurones DA. Une fibre optique placée à l'intérieur de l'électrode d'enregistrement permet de réaliser des stimulations optogénétiques au niveau du site d'enregistrement électrophysiologique. Les neurones DA de la VTA vont alors émettre un PA lors de chaque pulse de lumière. Les neurones répondant et marqués par approche juxtacellulaire co-expriment la GFP (fusionnée à la channelrhodopsine) et la tyrosine hydroxylase (TH)

*Ex vivo*, une application de courant dépolarisant entraîne une activité tonique des neurones DA de la VTA allant jusqu'à 10 Hz (Richards et al., 1997 ; Paladini, Celada, et al., 1999). *In vivo*, des bouffées d'activité phasique allant jusqu'à 50 Hz ont été observées (Tepper et al., 1995 ; Paladini et al., 1999 ; Hyland et al., 2002). Ces « burst » ne peuvent donc être produits par l'activité tonique seule. En effet, lors d'enregistrements *ex vivo*, l'activité tonique pacemaker se maintient, mais aucun « burst » n'est spontanément généré (Khaliq & Bean, 2008, 2010 ; Morikawa & Paladini, 2011 ; Roeper, 2013).

Plusieurs études suggèrent que les afférences excitatrices glutamatergiques et cholinergiques promeuvent l'activité phasique des neurones DA de la VTA. En effet, la désinhibition du noyau pédonculopontin (PPN) par la bicuculline, un antagoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub>, augmente l'activité en burst des neurones DA de la VTA, tandis que l'inhibition de cette structure par le muscimol, un agoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub>, ou par la lidocaïne, un anesthésique local, réduit la fréquence de ces burst (Floresco et al., 2003 ; Pan & Hyland, 2005 ; Grace et al., 2007). De manière similaire, la désinhibition du noyau sous-thalamique (STN), une structure glutamatergique, produit également

une augmentation de la fréquence de burst des neurones DA (Chergui et al., 1994). Enfin, bien que les entrées corticales sur les neurones DA soient faibles, la stimulation électrique du cortex préfrontal médial (mPFC) entraîne deux types de réponse : une excitation ou une excitation à la suite d'une inhibition initiale. Ces deux types de réponse vont être accompagnées de burst dans environ 30% des cas (Tong et al., 1996).

La majorité des entrées sur les neurones DA de la VTA sont néanmoins inhibitrices, et essentiellement GABAergiques (Ribak et al., 1976, 1980 ; Henny et al., 2012) et une hypothèse de génération des burst par désinhibition est envisageable. En effet, la perfusion d'antagonistes des récepteurs GABA dans la VTA augmente le nombre de burst sans modifier l'activité tonique (Paladini & Tepper, 1999). Les afférences GABAergiques de la VTA sont principalement issues du NAc et de la tVTA, auxquelles s'ajoute une inhibition par des neurones GABAergiques locaux (Matsui & Williams, 2011 ; Matsui et al., 2014). En condition basale, un tonus GABAergique est ainsi exercé sur les neurones DA, inhibant leur activité en burst sans altérer l'activité tonique (Grace & Bunney, 1985 ; Lobb et al., 2011a, 2011b). Ponctuellement, en fonction de la prédiction d'une récompense, les neurones GABA locaux de la VTA peuvent augmenter leur activité (Cohen et al., 2012) pour, par exemple, supprimer l'émission de burst des neurones DA lorsqu'une récompense est totalement prédite, ou produire une pause dans l'activité lorsque la récompense est omise.

Les neurones DA présentant un courant pacemaker important, la synchronisation des afférences GABAergiques est nécessaire pour inhiber de manière suffisamment forte et longue les neurones DA et produire une pause notable dans leur activité tonique (Amini et al., 1999 ; Estep et al., 2016 ; Morozova et al., 2016).

#### 4.3.4.2. Les neurones GABAergiques de la VTA

En plus des neurones DA, certains neurones de la VTA expriment les deux isoformes des enzymes de synthèse du GABA, la glutamate décarboxylase 67 et 65 (GAD67 et GAD65), codées respectivement par les gènes GAD1 et GAD2, et le transporteur vésiculaire du GABA (VGAT) codé par le gène SLC32A. Ces neurones GABAergiques représentent localement un peu plus de 20% des neurones (Margolis et al., 2012) et sont présents dans l'ensemble de l'étendue rostro-caudale de la VTA (Olson & Nestler, 2007). Comme les neurones DA de la VTA, certains de ces neurones coexpriment des peptides, tels que la cholécystokinine, et les protéines de régulation du calcium comme la parvalbumine, la calrétinine ou la calbindine (Olson & Nestler, 2007) et une majorité d'entre eux présente également un courant Ih (Margolis et al., 2012).

Chez la souris, l'activation optogénétique des neurones GABA de la VTA, grâce l'utilisation de souris GAD-cre, entraîne une aversion de place conditionnée (Tan et al., 2012) et diminue la consommation d'une solution de saccharose à 10% sans altérer le comportement d'anticipation conditionné, tel qu'un léchage pendant la présentation du signal prédictif (Van Zessen et al., 2012).

Cette activation des neurones GABA va être associée à une inhibition des neurones DA de la VTA (Van Zessen et al., 2012). Cet effet est médié par les récepteurs GABA<sub>A</sub> (Tan et al., 2012). De plus, l'activation spécifique des projections GABAergiques de la VTA vers le NAc conduit à une libération de GABA dans le NAc sans altérer la consommation d'une récompense (Van Zessen et al., 2012). Ceci suggère que les influences GABA locales vont réguler les neurones DA et être impliquées dans les processus récompensants, alors que les neurones GABA de projection longue seraient à priori impliqués dans d'autres comportements.

La queue de l'aire tegmentale ventrale (tVTA ou rostromedial tegmental nucleus – RMTg) est un groupe de neurones GABAergiques localisé en continuité postérieure de la VTA (Perrotti et al., 2005). Cette région, bien qu'anatomiquement très proche de la VTA (Olson & Nestler, 2007 ; Kaufling, 2010), doit être anatomiquement et fonctionnellement distinguée de celle-ci (Kaufling et al., 2009b ; Kaufling et al., 2010a ; Kaufling et al., 2010b ; Jhou, 2021). Il se peut alors qu'une partie des études ayant porté sur les neurones GABA de la VTA postérieure aient en fait été réalisées sur les neurones GABA de la tVTA.

#### 4.3.4.3. Les neurones glutamatergiques de la VTA

Aux neurones DA et GABAergiques s'ajoute une population de neurones glutamatergiques (GLUT) minoritaire. Ces neurones sont immunoréactifs à la glutaminase ainsi qu'au transporteur vésiculaire du glutamate VGLUT2 codé par le gène Slc17a6 (Kawano et al., 2006 ; Yamaguchi et al., 2007, 2011 ; Nair-Roberts et al., 2008). Ils sont principalement localisés dans les portions rostrales et médiales de la VTA (Yamaguchi et al., 2007, 2011, 2015b ; Nair-Roberts et al., 2008). La majorité de ces neurones est non-DA et non-GABAergique, mais une faible proportion co-exprime les ARN messagers soit de la TH soit de la GAD (Yamaguchi et al., 2007). Les neurones uniquement glutamatergiques, ainsi que ceux coexprimant VGLUT2 et la TH, projettent au PFC et au NAc, deux des sites de projection majeure des neurones DA de la VTA (Yamaguchi et al., 2011). Sur le plan fonctionnel, ces neurones sont responsables de la réponse excitatrice rapide des neurones du PFC provoquée par une stimulation électrique de la VTA (Mercuri et al., 1985 ; Lavin et al., 2005). En effet la stimulation de la VTA crée un courant post-synaptique dans des neurones du PFC, ce qui peut être bloqué par l'application d'antagoniste des récepteurs à l'acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (rAMPA) (Lavin et al., 2005). Ces courants sont donc dépendants d'une libération de glutamate dans le PFC. De plus, la stimulation phasique de la VTA libère aussi de la dopamine dans le PFC, ce qui diminue l'activité des neurones de cette région, effet qui peut être prévenu ou bloqué par l'application de réserpine ou d'antagonistes des récepteurs dopaminergiques (Lavin et al., 2005). Ces travaux montrent que les neurones de la VTA vont à la fois libérer du glutamate et de la dopamine dans le PFC.

#### 4.3.4.4. Les neurones mixtes de la VTA

La VTA n'est pas uniquement composée de neurones libérant un seul neurotransmetteur. Des neurones libérant à la fois de la dopamine et du glutamate, de la dopamine et du GABA ou du GABA et du glutamate existent. Les neurones DA-Glutamate vont exprimer la TH ainsi que VGlut2 et sont localisés au niveau de la ligne médiale de la VTA (Yamaguchi et al., 2011). Ces neurones présentent 2 mécanismes de libération possible : soit par colibération du glutamate et de la dopamine à partir des mêmes vésicules (Hnasko et al., 2012), soit par la présence de 2 pools de vésicules différentes (Stuber et al., 2010 ; El Mestikawy et al., 2011). Ces neurones projettent au NAc et permettent une double action avec une réponse excitatrice rapide via le glutamate et une modulation plus lente via la libération de dopamine (Zhang et al., 2015). Les neurones DA-GABA expriment à la fois la TH et la GAD. Ces neurones colibèrent du GABA et de la dopamine au niveau des neurones épineux moyens du NAc (Tritsch et al., 2014 ; Kim et al., 2015 ; Berrios et al., 2016). Enfin, des neurones non dopaminergiques vont exprimer les gènes VGLUT2, GAD1, GAD2 et VGAT et vont notamment projeter à la LHB (Morales & Root, 2014). Cette double libération de glutamate et de GABA permettrait une excitation rapide suivie d'une inhibition lente ou l'inverse, une inhibition rapide suivie d'une excitation, permettant ainsi une modulation temporelle fine (Morales & Root, 2014).

#### 4.3.5. Connectivité de la VTA

La VTA étant impliquée dans de nombreuses fonctions, elle va présenter une grande diversité dans sa connectivité à la fois dans les afférences qu'elle reçoit, mais aussi dans les différents sites de projection de ses neurones.

##### 4.3.5.1. Efférences de la VTA

Les neurones de la VTA projettent vers de nombreuses structures allant du télencéphale au tronc cérébral, mais les efférences de la VTA sont globalement moins nombreuses que ses afférences (Aransay et al., 2015 ; Beier et al., 2015, 2019 ; Beier, 2022 ; Derdeyn et al., 2022). La projection majeure de la VTA et là plus étudiée est la voie dopaminergique mésolimbique, c'est-à-dire la projection des neurones DA de la VTA vers les neurones épineux moyens (MSN) du NAc, la population neuronale GABAergique et principale de cette région (Pickel et al., 1988 ; Beier et al., 2015, 2019 ; Flores-Dourojeanni et al., 2021 ; Derdeyn et al., 2022). Parmi les nombreuses autres structures de projection majeure des neurones de la VTA on trouve notamment le PFC (Huang et al., 2020 ; Flores-Dourojeanni et al., 2021), le striatum dorsal (DS) (Beier et al., 2019), l'hippocampe (McNamara et al., 2014) et l'amygdale (Nguyen et al., 2021).

La localisation anatomique d'un neurone au sein de la VTA détermine au moins en partie ses sites de projection. Ainsi, concernant la voie DA mésolimbique, les neurones DA localisés dans la partie latérale la VTA projettent préférentiellement vers la zone latérale de la coquille du NAc, alors que les neurones situés dans la partie plus médiale de la VTA projettent vers la zone médiale de la

coquille du NAc ainsi qu'au cortex préfrontal (PFC) (Lammel et al., 2012). De manière surprenante, chez la souris, les neurones DA qui projettent au PFC n'expriment pas le récepteur D2 et ont une faible immunoréactivité pour la DAT (Lammel et al., 2008).

Jusqu'à récemment, il était considéré que bien que la VTA possède de nombreux sites de projection, un neurone DA donné ne projetait qu'à une seule région. Une étude récente combinant techniques de traçage et analyse multidimensionnelle indique que les neurones DA de la VTA peuvent avoir plusieurs collatérales d'axones projetant vers différentes régions. Le schéma de projection d'un neurone dépend ainsi à la fois de la localisation de son corps cellulaire dans la VTA, de son site de projection principale, mais aussi des afférences qu'il reçoit (Derdeyn et al., 2022). Par exemple, les neurones DA de la VTA qui projettent à la partie médiale de la coquille du NAc peuvent envoyer des collatérales au pallidum ventral (VP), mais pas au mPFC (Derdeyn et al., 2022).

Les neurones GABA de la VTA comprennent une population d'interneurones locaux projetant aux neurones DA et participant à leur inhibition tonique, mais également des neurones de projection (Taylor et al., 2014). L'utilisation de traçage antérograde et rétrograde chez des souris GAD65 et GAD67-cre montre que les neurones de projection ciblent en particulier le raphé dorsal (DR) (Taylor et al., 2014), l'habénula latérale (LHb) (Root et al., 2014), le noyau du lit de la strie terminale (BNST) (Taylor et al., 2014), le pallidum ventral (VP) (Zhou et al., 2022) et le NAc (Yang et al., 2018). Les neurones glutamatergiques de la VTA sont quant à eux principalement localisés dans les régions dorsales et médiales de la VTA et projettent à la LHb, au noyau préoptique magnocellulaire (MCPO), au BNST et au VP (Taylor et al., 2014). Enfin, les neurones colibérant de la dopamine et du glutamate (neurone TH et VGlut-positifs) projettent sur les MSN (Stuber et al., 2010 ; Tecuapetla et al., 2010) et les interneurones (Chuhma et al., 2014) du NAc, mais également sur les neurones GABAergiques parvalbumine-positifs du mPFC connus pour inhiber les neurones pyramidaux (Mingote et al., 2015).

#### 4.3.5.2. Afférences de la VTA

La VTA agissant comme un centre modulant différentes fonctions au travers de ses projections, cette région reçoit et intègre des informations provenant de nombreuses régions dont des aires motrices et sensorielles mais aussi des structures liées aux émotions.

Grâce à l'injection de traceurs rétrogrades classiques, on peut observer que les afférences de la VTA ne se limitent pas à des régions bien définies, mais forment un long continuum au sein de l'encéphale. Selon Geisler et Zahm (Geisler & Zahm, 2005), ce continuum est centré dans le cerveau antérieur sur le faisceau médian du télencéphale et sur le *fasciculus rétroflexus* et s'étend dans le tronc cérébral jusqu'au bulbe rachidien. Des techniques récentes de traçage rétrograde mono-transynaptique utilisant des virus de la rage modifiée ont révélé et confirmé les entrées spécifiques aux neurones DA de la VTA (Watabe-Uchida et al., 2012 ; Derdeyn et al., 2022). Parmi les structures sous-corticales afférentes aux neurones DA de la VTA se trouvent notamment le NAc (Yang et al.,

2018 ; Qi et al., 2022 ; Siahposht-Khachaki et al., 2021), le VP (Hjelmstad et al., 2013), le BNST (Georges & Aston-Jones, 2001), le noyau central de l'amygdale (Jiang et al., 2021), l'hypothalamus latéral (Watabe-Uchida et al., 2012 ; Beier et al., 2015 ; Faget et al., 2016 ; Derdeyn et al., 2022). Au niveau des inputs corticaux, les neurones DA reçoivent principalement des afférences du cortex orbitofrontal (Namboodiri et al., 2019), mais aussi du mPFC (Carr & Sesack, 2000) et de l'ACC (Gao et al., 2020 ; Watabe-Uchida et al., 2012). L'une des entrées importantes sur les neurones DA de la VTA provient de la queue de la VTA (tVTA). Ce pool de neurones GABAergiques, également connu sous le nom de noyau rostromédian du tegmentum (RMTg), localisé directement à l'arrière de la VTA, constitue un centre de contrôle inhibiteur majeur des neurones DA de la VTA mais aussi de la SNc (Kaufling et al., 2009a ; Kaufling, 2010 ; Kaufling et al., 2010 ; Bourdy & Barrot, 2012 ; Jhou, 2021).

Comprendre le lien complexe entre les entrées et les sorties d'une même population neuronale est fondamental, mais est longtemps resté un challenge technique. Répondre à ce challenge a été possible par l'étude de voies spécifiques, mais aussi de manière plus générale grâce à la méthode de traçage c-Trio (Beier et al., 2015). Ainsi, l'étude de Derdeyn et ses collaborateurs (2022) a pu mettre en évidence des voies de projection distinctes de sous-populations de neurones de la VTA en fonction de leurs afférences. À titre d'exemple, les neurones du cortex antérieur (dont fait partie le mPFC), projettent chez la souris sur des neurones DA et GABA de la VTA, ces neurones DA projetant quant à eux au NAc (Beier et al., 2015). En outre, en plus de la connexion principale mais indirecte entre la LHb et la VTA, via les neurones GABAergiques de la tVTA, une population de neurones DA de la VTA médiale reçoit chez la souris une entrée excitatrice directe de la LHb et ces neurones projettent spécifiquement au mPFC et au NAc médial (Lammel et al., 2012). Par contre, de manière surprenante, chez le rat les neurones DA recevant des afférences du mPFC projettent en retour au mPFC, alors que ce sont les neurones GABA de la VTA recevant des afférences du mPFC qui projettent au NAc (Carr & Sesack, 2000).

Ainsi, des voies spécifiques de la VTA avec des connectomes distincts peuvent être associées à des fonctions distinctes ou potentiellement conduire à des effets physiologiques ou comportementaux opposés (Morales & Margolis, 2017) ; et les données anatomiques parfois contradictoires dans la littérature ouvrent aussi la question de potentielles différences inter-espèces dans le détail des connectomes à l'échelle neuronale individuelle.

#### 4.3.6. VTA et douleur aiguë

La douleur étant un signal d'alarme pour l'organisme, la VTA pourrait participer à son intégration afin de favoriser les comportements minimisant ou évitant cette douleur. Les informations nociceptives impactent en effet la VTA. En accord avec la théorie de l'erreur de prédiction de récompense, il a ainsi été observé chez le rat que des neurones DA de la VTA peuvent être inhibés par des stimulus nociceptifs (Maeda & Mogenson, 1982 ; Mirenowicz & Schultz, 1996 ; Ungless et al., 2004 ; Brischoux et al., 2009), tandis que le soulagement de la douleur peut activer des neurones de la VTA (Navratilova et al., 2012 ; Porreca & Navratilova, 2017 ; De Jong et al., 2019). De plus, le noyau parabrachial latéral (LPB), directement activé par les informations nociceptives ascendantes, peut transférer ces informations vers la VTA sous la forme d'une inhibition directe et indirecte des neurones DA (Qiao et al., 2019 ; Yang et al., 2021 ; Zhang et al., 2021).

En retour, la VTA a un rôle modulateur sur les sensations et réponses douloureuses. Si une stimulation de la VTA ne produit pas d'effet analgésique chez l'animal naïf (Li et al., 2016), lors d'une stimulation douloureuse, comme des chocs électriques aux pattes, l'activation électrique ou pharmacologique de la VTA entraîne une analgésie impliquant des mécanismes supraspinaux et médullaires (Kender et al., 2008 ; Li et al., 2016). Une stimulation de la VTA juste après d'un stimulus nociceptif peut ainsi réduire l'expression du comportement douloureux, mais sera sans effet si la stimulation a été effectuée avant le stimulus (Sotres-Bayón et al., 2001). Dans un modèle de douleur post-chirurgicale, le soulagement de la douleur provoque une augmentation de l'activité des neurones DA de la VTA projetant à la l'amygdale centrale (CeA) et l'activation expérimentale de cette voie soulage la douleur provoquée par une incision (Huang et al., 2022). La stimulation pharmacologique de l'hypothalamus latéral conduit aussi à une analgésie dépendante de la VTA dans des modèles de douleur inflammatoire périphériques et faciaux, et montre un effet plus prononcé lors des phases douloureuses tardives de ces modèles (Moradi et al., 2015 ; Ezzatpanah et al., 2016 ; Safari-Sandiani et al., 2020). Ces effets analgésiques sont dépendants des récepteurs D1 et D2 (Moradi et al., 2015 ; Safari-Sandiani et al., 2020 ; Siahposht-Khachaki et al., 2021 ; Huang et al., 2022) ainsi que des récepteurs orexinergiques (Ezzatpanah et al., 2016 ; Safari-Sandiani et al., 2020).

Les entrées cholinergiques et sérotonergiques de la VTA contribuent également à cette modulation de la douleur. L'infusion intra-VTA de carbachol, un agoniste cholinergique, produit en effet une analgésie lors de douleurs inflammatoires. Cet effet dépend des récepteurs muscariniques dans la VTA postérieure et des récepteurs nicotiniques et muscariniques dans la VTA antérieure (Schifirnet et al., 2014). L'utilisation d'antagonistes des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> dans la VTA bloque quant à lui les effets anti-allodynie de la morphine lors d'une douleur neuropathique, ce qui supporte l'hypothèse d'un effet analgésique de la libération aiguë de dopamine (Ghasemzadeh et al., 2021).

#### 4.3.7. VTA et douleur neuropathique

Lors de douleurs chroniques, la VTA présente des altérations moléculaires et électrophysiologiques qui pourraient sous-tendre la chronicisation de la douleur. En effet, l'imagerie fonctionnelle par résonance magnétique montre que la VTA est sur-réactive lors de la mise en place d'une douleur neuropathique (Pellicer et al., 2022). En outre, la lésion de la VTA bloque la transition d'une douleur aiguë vers une douleur chronique chez le rat, mais n'altère pas l'hyperalgésie une fois la douleur chronique en place (Vergara et al., 2020). La VTA semble donc contribuer à la mise en place de cette forme de douleur pathologique.

La présence de douleur a également été associée à une diminution des concentrations de dopamine dans le NAc chez le rat (Vergara et al., 2020) et chez la souris (Taylor et al., 2014 ; Wang et al., 2016, 2018). En accord avec cette baisse de dopamine, une diminution de l'excitabilité intrinsèque des neurones DA projetant vers le NAc est observée dans les modèles de douleur neuropathique induite par le cancer ou par une ligature partielle du nerf sciatique (Watanabe et al., 2018). De manière similaire, une augmentation de la fréquence spontanée des courants post synaptique inhibiteur (IPSC) provoqués dans les neurones DA de la VTA par des entrées du BNST dorsolatéral a été observée dès les premières semaines de la mise en place d'une douleur chronique (Takahashi et al., 2019). Ces altérations suggèrent une réduction de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA, qui fut aussi observée dans le modèle de CCI (Ko et al., 2018). La VTA étant en fait une région hétérogène, les altérations de l'activité électrophysiologique de la VTA ou leurs conséquences ne sont toutefois pas identiques en fonction des différentes sous-populations de neurones étudiées.

Par exemple, une diminution de la fréquence des PA des neurones DA de la VTA projetant au mPFC est observée lors de l'expression de la douleur neuropathique, et si l'activation tonique ou chémogénétique de ces neurones DA ne produit pas de modification des seuils nociceptifs des souris (Huang et al., 2020 ; Wang et al., 2021), la stimulation phasique de ces neurones DA de la VTA projetant au mPFC diminue quant à elle les seuils d'hyper-sensibilité mécanique et peut conditionner une préférence de place chez les animaux douloureux (Huang et al., 2020). Cela suggère que la voie VTA-mPFC contribue à la douleur chronique. Le soulagement de la douleur par le recrutement de cette voie serait la conséquence d'une modulation de l'intégration de l'information entre le mPFC et la PAG ventrolatérale (vIPAG), une région impliquée dans les contrôles descendants de la douleur (Huang et al., 2020). En effet, les neurones du mPFC peuvent moduler les comportements douloureux au travers de leurs projections vers la vIPAG (Huang et al., 2019). Les neurones localisés dans la portion latérale de la VTA présentent eux aussi une baisse d'activité, alors qu'aucune modification n'a été observée dans la portion médiale (Huang et al., 2019).

En outre, une diminution de l'expression de la TH, du DAT et des récepteurs D2, ainsi qu'une baisse de l'induction du facteur de transcription c-Fos et de l'expression des kinases ERK et p38, ont également été mises en évidence dans la VTA dans divers modèles de douleur neuropathique (Kami et al., 2018 ; Ko et al., 2018 ; Narita et al., 2004a, 2004b ; Wang et al., 2016).

Les conséquences du modèle du SNL sont également associées à une baisse des propriétés récompensantes des opiacés. Bien que les animaux SNL et contrôle s'autoadministrent des stimulations électriques intra-VTA de façon similaire, le décalage des courbes fréquence/réponse produit par les opiacés est perdu chez les animaux neuropathiques (Ewan & Martin, 2011a, 2011b), ce qui illustre cette perte d'effet récompensant. En outre, la préférence de place pour le DAMGO, un agoniste des récepteurs mu, est supprimée dans le modèle SNL (Nakamura et al., 2008). La morphine, classiquement utilisée pour traiter la douleur, présente donc un effet récompensant moindre chez les animaux neuropathiques. Cette diminution serait notamment due à une baisse de l'action de la morphine sur ses récepteurs mésencéphaliques, responsables de la desinhibition des neurones DA, conduisant ainsi à une plus faible libération de DA dans le NAc (Niikura et al., 2008). La morphine inhiberait donc moins les neurones GABA de la VTA (ou de la tVTA ?) chez les animaux neuropathiques. Un autre mécanisme a toutefois aussi été proposé. En effet, dans le modèle de SCI, l'activité des neurones GABA de la VTA est toniquement augmentée et par conséquent l'activité des neurones DA diminuée. Si l'injection de morphine diminue bien l'activité des neurones GABAergiques, cette diminution ne fait que ramener les niveaux d'activité à ceux observés chez les animaux non douloureux, sans permettre une desinhibition efficace des neurones DA (Ko et al., 2018).

Si les études que nous venons de citer soutiennent principalement l'hypothèse d'une diminution de l'activité des neurones DA dans la VTA et d'une diminution des niveaux de dopamine dans le NAc lors de la présence de douleur neuropathique, d'autres études contredisent cette hypothèse. En effet, chez le rat, 2 semaines après la mise en place d'un modèle SNI, une augmentation de l'activité en burst des neurones DA de la VTA a été observée (Sagheddu et al., 2015). De même, dans le modèle de CCI, même si l'activité globale des neurones DA de la VTA est réduite (Ko et al., 2018), une augmentation de la fréquence de décharge des neurones DA projetant spécifiquement au NAc a été rapportée (Wang et al., 2021), et l'inhibition de l'activité de ces neurones par un agoniste des canaux KCNQ corrige les symptômes douloureux associés à ce modèle (Wang et al., 2021). Toujours dans le modèle de CCI, les neurones DA localisés dans l'hémisphère controlatéral à la patte lésée semblent développer une augmentation de leur fréquence de décharge ainsi que du pourcentage de PA en burst (Zhang et al., 2017). Il a notamment été proposé qu'une réduction de la fonction des récepteurs D2, pouvant sous-tendre un déficit de l'auto-inhibition des neurones DA de la VTA, pourrait être à l'origine de ces effets (Sagheddu et al., 2015). Ces données sont également soutenues par une augmentation de l'expression de FosB dans la VTA et du turnover de

dopamine dans l'amygdale et l'insula chez des animaux avec constriction du nerf sciatique (Baptista-de-Souza et al., 2022).

Un autre niveau de complexité s'ajoute quand on prend en compte les altérations des neurones non-DA de la VTA lors de douleurs chroniques.

Par exemple, dans le modèle de CCI, une augmentation de l'activité des neurones GABA de la VTA est observée, suggérant une augmentation du tonus inhibiteur sur les neurones DA (Ko et al., 2018). Cela pourrait donc contribuer à la diminution de l'activité des neurones DA observée précédemment. L'hyperexcitabilité des neurones de l'ACC ciblant les neurones GABA de la VTA pourrait aussi participer à ce phénomène (Gao et al., 2020). Enfin, lors d'une douleur chronique, les neurones GABA de la VTA peuvent présenter une altération des récepteurs NMDA ainsi qu'une surexpression de VGAT, GAD64, GAD65 et c-Fos (Alemi et al., 2023; Ko et al., 2018; Manning et al., 2022). Ces résultats convergent pour indiquer une augmentation de l'activité de ces neurones GABAergiques, soutenant ainsi l'hypothèse d'une augmentation du tonus inhibiteur sur les neurones DA de la VTA.

L'inhibition des neurones GABAergiques du LH projetant à la VTA entraîne une analgésie chez les animaux neuropathiques (Ma et al., 2023). De manière surprenante, l'activation de cette voie augmente l'activité des neurones DA alors qu'elle diminue l'activité des neurones GABAergiques de la VTA. L'application intra-VTA de picrotoxine supprime ces effets, supportant l'hypothèse que les neurones GABAergiques du LH exercent en fait leur effet dans la VTA via une inhibition des interneurones GABAergiques (Ma et al., 2023). Une augmentation de la fréquence des neurones glutamatergiques de la VTA a également été observée en situation de douleur chronique et l'inhibition de ces neurones soulage les symptômes anxieux et douloureux (Abdul et al., 2022).

Les altérations de la VTA, lors de l'expression de douleur chronique, sont donc multiples et fortement liées à son l'hétérogénéité cellulaire et fonctionnelle. Certaines sous-populations de neurones de la VTA seraient hypoactives et d'autre hyperactives en fonction notamment de leur site de projection, mais également en fonction de la localisation anatomique de leurs corps cellulaires dans la VTA. De plus, la VTA ne semble pas traiter uniquement les informations sensorielles, mais aussi les aspects motivationnels et émotionnels de la douleur. Par exemple dans le modèle de CCI, l'inhibition chémogénétique de la voie ACC-VTA conduit à une préférence de place chez les animaux douloureux (Gao et al., 2020), alors que l'inhibition chémogénétique de la voie VIPAG-VTA dans le modèle de SNL diminue les symptômes de type dépressif associés (Lee et al., 2023). Dans les deux cas, aucune modulation des seuils nociceptifs n'a été observée.

#### 4.3.8. VTA et dépression

La VTA est une région contribuant aux processus de récompense, à la motivation, ainsi qu'à la régulation des émotions. Son implication dans des troubles de l'humeur, comme la dépression, n'est donc pas surprenante. De manière similaire aux altérations observées lors de douleurs, les altérations de la VTA liées aux comportements de type dépressif sont complexes. Le modèle choisi et le type de stress qui lui est associé exercent en effet des impacts différents sur les neurones DA de la VTA.

Le modèle de désespoir acquis diminue le nombre de neurones DA de la VTA spontanément actifs (nombre de cellules par descente de pipette) sans altérer la fréquence de décharge tonique ou les paramètres de l'activité phasique de ces neurones (Belujon & Grace, 2014). Ces changements pourraient être associés à une augmentation de l'excitabilité des neurones de la LHb, observée par exemple lors de dépression liée à un stress chronique (Cerniauskas et al., 2019a), et plus particulièrement de ceux projetant vers la VTA (Li et al., 2011). La stimulation cérébrale profonde à haute fréquence de la LHb, menant à son inhibition, réduit l'expression de comportements de type dépressif chez des rats ayant subi un protocole de désespoir acquis (Li et al., 2011), ce qui est en accord avec le cas d'une patiente souffrant de dépression sévère et résistante aux traitements conventionnels et qui a pu être traitée avec succès par stimulation cérébrale profonde de la LHb (Sartorius et al., 2010). Comme la projection directe de la LHb vers les neurones DA de la VTA est excitatrice et mineure, le lien entre l'excitabilité glutamatergique de la LHb et la réduction de l'activité des neurones DA de la VTA observée dans le désespoir acquis ne peut être direct. Les neurones GABAergiques de la tVTA sont soupçonnés d'être le relai entre la LHb et les neurones DA de la VTA, l'hyperexcitabilité de la voie LHb-tVTA conduisant à une influence inhibitrice accrue de la tVTA sur les neurones DA de la VTA dont l'activité serait ainsi diminuée (Hong et al., 2011).

Des données similaires ont été observées dans le modèle du stress chronique léger (CMS) où une diminution du nombre de neurones DA spontanément actifs est rapportée (Chang & Grace, 2014 ; Moreines et al., 2017 ; Rincón-Cortés & Grace, 2017), notamment dans les parties médiale et centrale de la VTA (Moreines et al., 2017). Ces neurones semblent notamment faire partie de ceux projetant vers le mPFC et la partie médiale de la coquille du NAc. En effet, dans ce même modèle, Liu et ses collaborateurs ont mis en évidence une diminution de l'activité tonique des neurones DA de la VTA projetant au mPFC (Liu et al., 2018), et une diminution de la densité des axones des neurones TH-positifs localisés dans le mPFC a aussi été observée, suggérant une baisse des projections vers cette région ou au moins une baisse de la TH exprimée dans ces projections (Quessy et al., 2021). Une diminution de l'activité tonique et phasique, mais concernant cette fois les neurones DA de la VTA projetant vers la partie latérale de la coquille du NAc, est également observé dans le modèle de CMS et dans celui de stress précoce postnatal (Zhong et al.,

2018 ; D'Addario et al., 2021). Cette diminution d'activité dans ces modèles est associée à une diminution de l'hyperpolarisation due aux courants *I<sub>h</sub>* (Zhong et al., 2018 ; D'Addario et al., 2021).

Le fait qu'une baisse d'activité des neurones DA de la VTA soit associée à l'expression de comportements de type dépressif est cohérent avec la correction expérimentale de ces symptômes par une augmentation de l'activité dopaminergique. Ainsi l'utilisation d'agonistes des récepteurs D1 et D2 en intrapéritonéal, qui miment une augmentation de dopamine au niveau des terminaisons, réduit les comportements d'évitement actif après une exposition au modèle de désespoir acquis chez le rat ou la souris, ainsi que dans le test de FST (Duterte-Boucher et al., 1988 ; Takamori et al., 2001 ; Bertaina-Anglade et al., 2006). De manière plus complexe, l'injection intrapéritonéale de quetiapine, un antagoniste des récepteurs D2 de nouvelle génération, restaure l'activité des neurones DA de la VTA et réduit aussi les comportements de type dépressif chez les souris exposées au modèle de CMS. On observe cependant un effet opposé chez les animaux naïfs, la quetiapine augmentant l'activité des neurones DA ainsi que la susceptibilité au stress de ces animaux (Moreines et al., 2017). La quetiapine possède donc un effet dépendant du contexte et/ou de l'état du système sur lequel elle agit. De manière plus directe, la stimulation phasique des neurones DA de la VTA, ou des récepteurs DA dans le NAc, réduit l'expression de comportements de type dépressif chez les animaux exposés à ce même modèle (Tye et al., 2013).

Alors que les modèles utilisant des stress environnementaux tels que le désespoir acquis ou le CMS pointent vers une diminution de l'activité des neurones DA de la VTA, les modèles basés sur le stress social montrent à l'inverse une augmentation de l'activité des neurones DA de la VTA. Le modèle le plus utilisé est celui de la défaite sociale, qui présente l'avantage de ne pas entraîner de phénotype de type dépressif chez tous les animaux, permettant de distinguer des animaux résilients et des animaux susceptibles (Lyons et al., 2023). Dans ce modèle, les souris susceptibles présentent une augmentation d'activité de leurs neurones DA de près de 35% par rapport aux neurones des souris résilientes (Krishnan et al., 2007). L'augmentation de la fréquence de décharge des PA ainsi que de la fréquence des burst de ces neurones corrèle également négativement aux comportements d'évitements sociaux (Cao et al., 2010). Une augmentation similaire de l'activité des neurones DA de la VTA a aussi été rapportée dans un modèle à trois chambres de stress social par procuration (Qi et al., 2022). Dans ce modèle, des souris subissent un stress psychologique en étant exposées, sans contact physique, aux séances de défaite sociale subies par d'autres souris. L'expression du phénotype dépressif dans le modèle de défaite sociale est notamment liée à une diminution des courants potassiques ainsi qu'à une augmentation des courants *I<sub>h</sub>* (Krishnan et al., 2007 ; Cao et al., 2010). Dans ce modèle, un traitement chronique par la fluoxétine, un antidépresseur inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine, ou l'utilisation d'inhibiteur locaux des courants *I<sub>h</sub>*, réduisent les symptômes de type dépressif (Cao et al., 2010).

Différentes procédures de stimulation intracérébrale des neurones DA de la VTA modulent également les effets de la défaite sociale. La stimulation phasique chronique à haute fréquence (20 Hz) de la VTA pendant la procédure promeut la susceptibilité (Chaudhury et al., 2013). Plus spécifiquement, seule l'activation phasique, et non l'activation tonique, de la voie VTA-NAc favorise cette susceptibilité. À l'inverse, l'inhibition de la voie VTA-NAc promeut la résilience (Chaudhury et al., 2013). De manière surprenante, bien que la stimulation de la voie VTA-mPFC ne modifie pas la sensibilité au modèle, son inhibition conduit à une susceptibilité accrue chez les animaux exposés au protocole de défaite sociale (Chaudhury et al., 2013).

Concernant l'implication des afférences de la VTA, la stimulation chronique des projections noradrénergiques du *locus caeruleus* vers la VTA normalise l'activité pathologique des neurones DA induite par la défaite sociale chez les animaux susceptibles (Zhang et al., 2019). Il a également été observé une augmentation du tonus cholinergique sur les neurones DA de la VTA chez les animaux susceptibles, et l'inhibition de cette activité cholinergique pendant l'exposition au stress social bloque le développement des comportements de types dépressif (Morel et al., 2018). Dans ce contexte, l'exposition à la nicotine, un agoniste des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs), augmente la sensibilité au stress social en même temps que l'activité tonique et phasique des neurones DA de la VTA (Chaudhury et al., 2013 ; Morel et al., 2018). Plus spécifiquement, l'utilisation de modulateurs allostériques des récepteurs  $\alpha 7$  nAChRs va augmenter la susceptibilité au stress et ainsi provoquer un changement de phénotype de résilient vers susceptible (Ortiz et al., 2022).

Le développement d'une résilience à la défaite sociale semble en fait être associée à la capacité ou non à renormaliser l'activité des neurones DA de la VTA, notamment grâce à la surexpression de canaux K<sup>+</sup> dans ces neurones, ce qui permet une réduction leur excitabilité intrinsèque (Krishnan et al., 2007 ; Shah & Aizenman, 2014). De façon contre-intuitive, la stimulation répétée des neurones DA de la VTA favorise en fait la résilience (Chaudhury et al., 2013), cela par normalisation de leur activité. L'hypothèse associée à ce mécanisme est la suivante : lors de l'exposition au stress social, l'activité des neurones DA de la VTA augmente jusqu'à un point où une boucle de rétrocontrôle négatif se met en place, normalisant l'activité des neurones grâce au courant Ih et aux canaux K<sup>+</sup>. Les animaux susceptibles ne présentant pas une augmentation suffisante de l'activité de leurs neurones DA, ce mécanisme ne s'enclenche pas ce qui aboutit à l'apparition du comportement de type dépressif. Cela pourrait alors contribuer à également expliquer l'effet antidépresseur de la kétamine qui est associé à une augmentation de l'activité des neurones DA dans le modèle de défaite sociale une semaine après l'injection (Ortiz et al., 2022). De manière similaire, l'effet anxiolytique d'une stimulation de la voie VTA-BLA après exposition au stress social (Morel et al., 2018) pourrait s'expliquer par la réactivation de cette boucle de rétrocontrôle.

#### 4.3.9. VTA et comorbidité douleur-dépression

Bien que la majorité des modèles de douleur chronique s'accompagnent de l'apparition de symptômes de type dépressif, peu d'études se sont focalisées sur les altérations de la VTA lors de l'expression des symptômes douloureux et dépressifs en même temps. En effet, la plupart des équipes de recherche ont étudié les altérations dopaminergiques lors des premières semaines de développement du modèle, c'est-à-dire souvent avant la mise en place effective et l'expression des symptômes de type dépressif.

Au niveau électrophysiologique, lors la co-présence de symptômes douloureux et dépressifs, les neurones DA de la VTA montrent une augmentation de leur activité tonique à 3 semaines dans le modèle de SNL et à 4 semaines dans le modèle de de transection partielle du nerf infraorbital (partial infraorbital nerve transection - pIONT) (Fu et al., 2016, 2018 ; Zhang et al., 2021). Néanmoins une contradiction existe au niveau des altérations de l'activité phasique dans le modèle de SNL. En effet, une étude montre une augmentation de l'activité phasique des neurones DA de la VTA (Fu et al., 2016) alors qu'une autre étude du même laboratoire ne rapporte pas de modification (Fu et al., 2018). Cette différence de résultats pourrait être expliquée par les différentes méthodes d'enregistrement utilisées.

La gabapentine est cliniquement un traitement de première ligne des douleurs neuropathiques. Dans le modèle de SNL, elle va soulager à la fois les symptômes douloureux et les symptômes de type dépressif, ce qui s'accompagne d'une diminution de l'activité tonique et phasique des neurones DA de la VTA (Fu et al., 2018). De manière semblable, dans le modèle de pIONT, l'utilisation de rétigabine, un agoniste des canaux KCNQ, soulage les symptômes dépressifs et diminue l'activité des neurones DA de la VTA (Zhang et al., 2021). Cet effet de la rétigabine est similaire aux effets observés par l'activation des canaux KCNQ dans les modèles de défaite sociale. Il se pourrait que les mécanismes pathologiques à l'origine de l'augmentation de l'activité des neurones DA et l'expression des symptômes dépressifs soient similaires dans ces deux modèles.

La PAG ventrolatérale (vPAG) constitue un élément majeur des contrôles descendants de la douleur et projette aussi aux neurones DA de la VTA. La modulation des neurones de cette région va aussi contribuer à altérer les sensations douloureuses (Samineni et al., 2017). De plus, la lésion pharmacologique des neurones glutamatergiques de la vPAG entraîne une hypersensibilité tactile ainsi que des comportements de type dépressifs (Lee et al., 2023), ce qui suggère que cette région pourrait contribuer à la comorbidité douleur-dépression et plus spécifiquement à l'expression des conséquences émotionnelle de la douleur. En effet, l'activation chémogénétique de la voie vPAG-VTA peut soulager les comportements de type dépressif dans le modèle de SNL, cela sans altérer l'hypersensibilité mécanique. Cette hypersensibilité mécanique sera en revanche soulagée par l'activation de la voie descendante de la vPAG vers le complexe bulbaire ventrolatéral rostral (RVM),

qui elle n'aura pas d'impact sur l'expression des comportements de type dépressif (Lee et al., 2023). Cette étude montre ainsi que les symptômes douloureux et de type dépressif ne partagent pas forcément les mêmes voies, mais que des régions cérébrales peuvent servir de « hub » fonctionnel lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression.

#### 4.4. Le Noyau Accumbens (NAc)

##### 4.4.1. Neuroanatomie et Fonction

Le noyau accumbens (NAc) est une région du striatum ventral adjacente au septum (Heimer & Wilson, 1975; Mogenson et al., 1980). Cette région, anatomiquement et fonctionnellement distincte du striatum dorsal, est parfois considérée comme un « centre du plaisir », mais dès 1980 Mogensen a proposé qu'elle pouvait en fait être une interface entre motivation et action (Mogensen et al., 1980). En effet, cette région contribue à orienter l'attention et les comportements d'un individu vers les stimulus appétitifs, qu'ils soient naturels (nourriture ou sexe) ou non (argent, drogues).

Au niveau anatomique, le NAc est en fait hétérogène et peut-être divisé en plusieurs sous-régions sur la base de marqueurs histo- ou neurochimiques et/ou sur la base des connectomes (Zahm, 2000 ; Zahm & Trimble, 2008). Les trois sous-noyaux majeurs les plus souvent considérés dans les études fonctionnelles sont le cœur (core), la coquille latérale (lateral shell) et la coquille médiale (medial shell). Le cœur du NAc est localisé autour de la commissure antérieure (Záborszky et al., 1985). Le cœur est encapsulé par la coquille du NAc, la partie ventrale de celle-ci ayant été précédemment considérée comme la poche striatale ventrolatérale (Nauta et al., 1978).

Le NAc est majoritairement composé de neurones épineux moyens (MSN) (plus de 95% des cellules). Ces neurones GABAergiques ne présentent pas d'activité pacemaker, à la différence des neurones DA de la VTA, et ont une plus faible excitabilité. Ces neurones ne peuvent donc pas générer de patron d'activité récurrent sans stimulation extérieure (Pennartz et al., 1994 ; Uchimura et al., 1989). Les changements d'activité de ces neurones dépendent des changements d'activité des entrées glutamatergiques excitatrices provenant principalement des lobes temporaux et frontaux. Les MSN sont sous-classifiés en fonction des récepteurs à la dopamine qu'ils expriment : les récepteurs D1 et D2 (MSN-D1 et MSN-D2). Les MSN-D1 coexpriment en plus la substance P et la dynorphine alors que les MSN-D2 expriment la pro-enképhaline (Baik, 2013 ; Lobo et al., 2006). Ces deux types de neurones forment des synapses locales entre eux. Les récepteurs D2 sont plus sensibles à la dopamine que les récepteurs D1 et sont activés préférentiellement par la libération de dopamine tonique. De manière opposée, les récepteurs D1 sont activés par les pics transitoires de dopamine dus à l'activité phasique des neurones DA. Ceci va augmenter le ratio signal-bruit dans le NAc afin d'ajuster les réponses aux stimulus récompensants ou stressants (Baik, 2013).

Parmi les afférences majeures au NAc se trouvent l'hippocampe, l'amygdale basolatérale (BLA) et le cortex préfrontal (PFC). Les entrées issues de l'hippocampe intègrent les informations liées à

la navigation spatiale, à la reconnaissance de la nouveauté ainsi qu'à l'évaluation des relations entre les différents stimulus (Floresco et al., 1997 ; Ito et al., 2008 ; Mannella et al., 2013). Celles provenant de l'amygdale basolatérale peuvent transmettre des informations liées au changement de pertinence émotionnelle et à la valeur émotionnelle d'un stimulus, ainsi qu'à l'association entre un stimulus neutre et la prédiction d'une conséquence positive ou négative (Everitt et al., 1991 ; Fernando et al., 2014 ; McLaughlin & Floresco, 2007 ; Shiflett & Balleine, 2010). Le PFC médial (mPFC) transmet une grande variété d'informations, liées aux fonctions cognitives et affectives associées aux récompenses permettant d'associer les comportements au contexte (Floresco et al. 1999) et d'évaluer les bénéfices et les coûts liés aux actions (Hauber & Sommer, 2009).

Les neurones DA de la VTA constituent également l'une des principales entrées du NAc et modulent son activité par le biais de deux types de transmission. Le premier type de transmission est dit « phasique ». Il provoque des changements extracellulaires de dopamine rapides (< 1 s) et spatialement restreints en réponse à la présence et/ou à l'absence de récompense, qu'elle soit primaire ou conditionnée (Schultz, 1997). Ce mode de transmission sert de signal d'apprentissage permettant l'encodage de la prédiction de l'erreur (Schultz 1998). Lorsque cette récompense est anticipée, la magnitude de la réponse observée encode la prédiction de la disponibilité et/ou la taille de la récompense obtenue (Day et al., 2011 ; Sugam et al., 2012). Le second mode de libération correspond à un tonus DA présentant des changements lents (sur plusieurs minutes). Cette transmission d'information est contrôlée par le nombre de neurones DA de la VTA spontanément actifs et permet la modulation des entrées excitatrices au niveau présynaptique dans le NAc (Floresco & Phillips, 1999 ; Howland et al., 2002). Cette transmission semblerait estimer en continu le taux de réponse net. Cela influe sur la vigueur et la direction des réponses par rapport aux choix des différentes récompenses (Niv, 2007 ; St. Onge et al., 2012).

#### 4.4.2. Altérations du NAc lors de douleurs

Le NAc est une région contribuant au traitement des informations nociceptives et à l'intégration de la douleur en fonction du contexte. Sur la base de la réponse des neurones DA de la VTA aux stimulus nociceptifs, il semblerait cohérent que la libération de dopamine dans le NAc diminue lors de l'exposition à de tels stimulus. Cette diminution des niveaux extracellulaires de dopamine est notamment mesurable par microdialyse à la suite de pincements de la queue (Di Chiara et al., 1999). Toutefois d'autres équipes ont au contraire observé une augmentation ou l'absence de changement dans la libération de dopamine dans le NAc, toujours en réponse à un pincement de la queue (Giorgi et al., 2003 ; Leknes & Tracey, 2008 ; Ungless et al., 2004). La réponse de cette région à la douleur semble donc complexe et la résolution temporelle des techniques utilisées ne permettrait pas d'étudier la dynamique réelle des fluctuations de dopamine dans le NAc. Plus récemment, une étude utilisant la voltamétrie cyclique à balayage rapide a mis en évidence des réponses différentes dans le striatum dorsal, le cœur du NAc et la coquille du NAc en réponse aux pincements de la queue

chez le rat (Budygin et al., 2012). Ces différences existent tant pour les concentrations de DA que pour la synchronisation temporelle entre la libération de dopamine et le pincement de queue (Budygin et al., 2012). Le cœur du NAc, proposé pour être impliqué dans la saillance du stimulus, présente ainsi une augmentation des niveaux extracellulaires de dopamine lors du pincement (Budygin et al., 2012), alors que dans la coquille cette augmentation est observée lors de l'arrêt du stimulus (Budygin et al., 2012 ; Park et al., 2015). En utilisant l'imagerie par résonance magnétique, des observations similaires ont été faites chez l'être humain en réponse à des stimulus thermiques nociceptifs (Baliki et al., 2010 ; Becerra & Borsook, 2008 ; Leknes et al., 2011) ; et par la même approche chez le rat, toujours en réponse à une stimulation thermique nociceptive (Becerra et al., 2013). Il est important de noter que ces changements ne reflètent pas directement l'activité des neurones DA de la VTA, une modulation présynaptique de la libération de dopamine pouvant aussi avoir lieu dans le NAc (Lammel et al., 2008 ; Leknes & Tracey, 2008).

L'observation d'une diminution des propriétés récompensantes des opiacées chez les patients douloureux suggère des altérations du système DA. La préférence de place provoquée par l'injection d'agonistes du système opioïde, tels que la morphine, le tramadol, le DAMGO ou le métabolite M1 de la morphine, est diminuée à bloquée en présence de douleur chronique (Nakamura et al., 2008 ; Niikura et al., 2008 ; Ozaki et al., 2002, 2004). Ces effets sont associés à une diminution de la libération de dopamine dans le NAc en réponse à ces composés lors de douleur (Ozaki et al., 2004 ; Takahashi et al., 2019). Cette diminution des propriétés récompensantes en présence de douleur implique à la fois les récepteurs mu et kappa du système opioïde. En particulier, la suppression des  $\beta$ -endorphines, chez des souris knockout (KO), ou l'utilisation d'anticorps anti- $\beta$ -endorphines, restaure la préférence de place à la morphine chez des animaux douloureux (Niikura et al., 2008). En fait, la présence constante et forte de ce peptide chez les animaux douloureux entraînerait une dysfonction des récepteurs mu de la VTA, révélée notamment par une baisse d'efficacité de la morphine, ou d'autres agonistes mu, sur ces récepteurs (Ozaki et al., 2004). Un autre mécanisme, touchant cette fois le NAc, est aussi en jeu. Ainsi, en situation de douleur inflammatoire chronique, l'inhibition des récepteurs kappa par l'antagoniste Nor-BNI rétablit la préférence de place et la libération accumbale de dopamine provoqués par la morphine chez les animaux douloureux (Narita et al., 2004a, 2004b), cette action est à lier à une augmentation du tonus dynorphine dans le NAc de ces animaux qui contribuerait à la baisse de ces réponses en situation de douleur inflammatoire. Enfin, la préférence de place pour la morphine est indépendante des récepteurs D1 du NAc chez les animaux douloureux chroniques, alors qu'ils sont nécessaires à son expression en condition normale (Grenier et al., 2022), traduisant là encore des changements fonctionnels au sein du NAc en situation de douleur.

Si cette baisse des propriétés récompensantes des opiacés en situation de douleur chronique est observée par la plupart des équipes de recherche, il est à noter qu'en situation de douleur

neuropathique liée à d'un traitement anticancéreux une absence d'altération des propriétés récompensantes et de la réponse dopaminergique à la morphine a été rapportée (Mori et al., 2014). Ce résultat contradictoire pourrait s'expliquer par la précocité temporelle du test de préférence de place réalisé, c'est-à-dire juste après la mise en place du modèle. De manière similaire, l'utilisation de prégabaline intrathécale ou de morphine à des stades précoces des douleurs neuropathiques entraîne une préférence de place chez les animaux douloureux, mais cet effet disparaît lors des phases plus tardives (Asaoka et al., 2018). Cette baisse d'effet récompensant serait associée à un déficit de libération de dopamine dans le NAc lors de ces phases tardives. En effet, lors des phases tardives, la consommation d'une solution de sucrose ainsi que le soulagement des symptômes douloureux n'induit plus de libération de dopamine dans le NAc (Asaoka et al., 2018 ; Kato et al., 2016).

Finalement, il a été montré que la concentration basale de dopamine dans le NAc diminue lors des phases précoces de douleur chronique neuropathique (Taylor et al., 2014) ou inflammatoire (Narita, Kishimoto, et al., 2005). De plus, une baisse du métabolisme de la dopamine a aussi été rapportée en présence de douleur chronique (Ziółkowska, 2021). Cette diminution des concentrations en dopamine pourrait aussi être liée à l'augmentation de l'expression du DAT, transporteur de la dopamine (Ziółkowska, 2021).

L'ensemble de ces études indique la présence d'un état hypo-dopaminergique dans le NAc en présence de douleur chronique. Néanmoins, comme pour les altérations de la VTA, plusieurs études indiquent que ces altérations dans le NAc seraient en réalité plus complexes. Ainsi, dans le modèle de SNI lors des phases précoces du modèle, une augmentation des niveaux de dopamine associée à une augmentation de l'activité des neurones DA de la VTA ainsi qu'à une diminution des récepteurs D2 et de la TH dans le NAc a été observée (Sagheddu et al., 2015). Cette augmentation d'activité semble aussi présente dans le modèle de CCI et la rétigabine peut avoir un effet antinociceptif en inhibant l'activité des neurones DA de la VTA. Cette action de la rétigabine serait bloquée par l'injection de BDNF dans le NAc (Wang et al., 2021b), suggérant un effet pronociceptif du BDNF dans le NAc. Ainsi l'augmentation des taux de BDNF dans le NAc dans le modèle de CCI pourrait être l'un des facteurs en jeu dans la présence des symptômes douloureux (Zhang et al., 2021).

#### 4.4.3. Altérations du NAc lors de la dépression

Les changements touchant le NAc lors de la présence de comportements de type dépressif sont nombreux et complexes et la distinction des rôles des voies D1 et D2 est sans doute importante pour comprendre la variété de réponses aux différents modèles de stress. Plus globalement, en accord avec les données humaines (Drevets et al., 1992) et une diminution du volume du NAc a été observée chez la souris après l'exposition à un stress chronique de défaite sociale (Anacker et al., 2016).

L'exposition au stress diminue la transmission synaptique excitatrice dans le NAc et plus spécifiquement dans les MSN-D1 en promouvant une dépression à long terme de ces neurones après l'exposition répétée à un stress de contention (Lim et al., 2012). Les neurones MSN-D1 montrent également une corrélation négative entre la fréquence de leurs PA et les interactions sociales dans le modèle de défaite sociale (Francis et al., 2015). Cela suggère que la diminution d'activité des MSN-D1 serait liée à l'expression de comportements de type dépressif. En accord avec cette hypothèse la stimulation des MSN-D1 permet de soulager temporairement les symptômes dépressifs dans le modèle de CMS (Tye et al., 2013).

L'exposition a différents stressseurs aigus ou chroniques augmente les niveaux de dynorphine dans le NAc (Shirayama & Chaki, 2006) et l'activation des récepteurs KOR par la dynorphine provoque une baisse de la dopamine dans le NAc ainsi que l'émergence de comportements de types anxieux et dépressifs (Mague et al., 2003).

La voie D2 du NAc semble aussi directement impliquée dans les états dépressifs. L'agoniste des récepteurs D2 quinpirole peut en effet provoquer des comportements de type dépressif associés à une diminution de la dopamine dans le NAc (Qiao et al., 2020). Le stress chronique diminue quant à lui l'expression des récepteurs D2, et les antagonistes de ces récepteurs corrigent à la fois cette diminution et les comportements dépressifs qui y sont associés (Qiao et al., 2020). De manière surprenante, une exposition unique au stress de défaite sociale augmente la libération de dopamine dans le NAc (Barik et al., 2013), alors que les souris susceptibles après une exposition chronique à ce modèle de défaite sociale présentent une augmentation des courants excitateurs miniatures et une diminution des courants inhibiteurs post-synaptique (IPSC) dans les neurones MSN-D2, suggérant une augmentation de l'activité de ces neurones (Christoffel et al., 2011 ; Francis et al., 2015 ; Khibnik et al., 2016). Ces changements sont associés à une augmentation des niveaux de BDNF dans le NAc, qui promeut une susceptibilité au stress (Berton et al., 2006), alors que de façon réciproque l'inhibition des récepteurs TrkB promeut la résilience (Cao et al., 2010 ; Krishnan et al., 2007 ; Lim et al., 2012 ; Shen et al., 2008 ; Walsh et al., 2014 ; Wook Koo et al., 2016). Cette augmentation des niveaux de BDNF dans le NAc est en fait accentuée par la corticolibérine (CRF) et, combinée à une altération de la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (Barik et al., 2013), participe aussi à l'impact de l'axe HPA sur la genèse de comportements de type dépressif.

Le marqueur d'activation neuronale  $\Delta$ FosB s'accumule aussi dans le NAc chez les souris après exposition au stress de défaite sociale chronique (Vialou et al., 2010). Plus spécifiquement, l'accumulation de ce facteur de transcription est observée dans les MSN-D1 des souris résilientes et dans les MSN-D2 des souris susceptibles (Lobo et al., 2013). Les voies D1 et D2 semblent donc posséder des rôles opposés dans l'expression des comportements de type dépressif. Cette hypothèse est soutenue par l'augmentation de la densité des récepteurs D1 dans le NAc après exposition à un stress de contention (Cabib et al., 1998). L'inactivation spécifique de Cdk5, une

kinase impliquée dans les processus de plasticité synaptique, dans les MSN-D1 du NAc a un effet antidépresseur (Plattner et al., 2015). De façon similaire, la suppression des récepteurs aux glucocorticoïdes dans les MSN-D1 favorise la résilience, cela apparemment sans impacter les neurones DA de la VTA (Barik et al., 2013). Enfin, l'inactivation de NR1, une sous-unité des récepteurs NMDA, dans les MSN-D2 diminue l'expression de comportements de type dépressif dans le test de nage forcée (Joffe et al., 2017). Ces données suggèrent donc un effet opposé des MSN-D1 et MSN-D2 sur les symptômes de type dépressif et des modifications dans la dynamique de la voie VTA-NAc.

## 5. Objectifs de Thèse

Malgré la détérioration significative de la qualité de vie des patients souffrant de douleur et de dépression, les mécanismes à l'origine de cette comorbidité sont encore mal compris. Le système dopaminergique mésolimbique, et en particulier la VTA, pourrait être un des points neuroanatomiques de convergence entre la douleur chronique et la dérégulation émotionnelle. C'est cette hypothèse qui a motivé ce projet de thèse.

Notre équipe bénéficie à la fois, d'une expertise dans l'étude des systèmes DA, et en particulier la voie mésolimbique (Kaufling et al., 2009a, 2017b ; Kaufling et al., 2010), ainsi qu'une large connaissance des modèles murins de comorbidité douleur-dépression. En particulier, nous sommes experts dans le modèle cuff, associant la douleur neuropathique au développement d'un phénotype anxiodépressif chez la souris (Yalcin et al., 2011).

Notre hypothèse est que, en tant que centre de régulation motivationnelle et émotionnelle, la VTA pourrait être un substrat anatomique qui contribue au développement des conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique chronique.

En combinant enregistrements électrophysiologiques *in vivo* chez l'animal anesthésié, photométrie de fibres, optogénétique et dosage de neurotransmetteurs, nous avons pour objectif d'étudier les altérations potentielles des neurones DA de la VTA et de la voie VTA-NAc lors de l'expression chez la souris d'une comorbidité douleur-dépression induite par le modèle du cuff.

Ce projet de thèse s'est articulé en 3 étapes :

- L'étude des altérations de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA, abordée par l'enregistrement *in vivo* de l'activité unitaire de neurones chez la souris anesthésiée lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression ;
- L'évaluation des concentrations basales de dopamine et de ses métabolites dans la VTA et le NAc lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression ;
- L'évaluation des altérations de la dynamique de libération de dopamine dans le NAc par photométrie de fibre en réponse à des stimulations optogénétiques de la VTA chez l'animal éveillé tout au long du développement et de l'expression de la comorbidité douleur-dépression.

## Matériel et Méthodes

Cette partie décrit l'ensemble des procédures expérimentales et des analyses utilisées lors de cette thèse. Les expérimentations animales ont été réalisées après évaluation par un comité d'éthique, dans notre cas le Comité Régional d'Ethique en Matière d'Expérimentation Animale de Strasbourg (CREMEAS), et obtention d'une autorisation du ministère de l'Enseignement Supérieur de la Recherche et de l'Innovation de deux saisines APAFIS : 1) Altération du système de récompense du cerveau dans la dépression induite par la douleur chronique (n°APAFIS :36306-2022032816168173) ; et 2) Système dopaminergique et comorbidité douleur-dépression (n° APAFIS : 17365-2018102615157732).

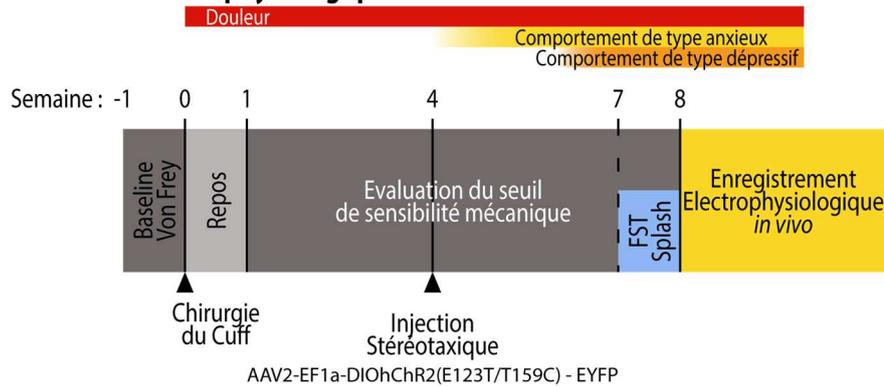
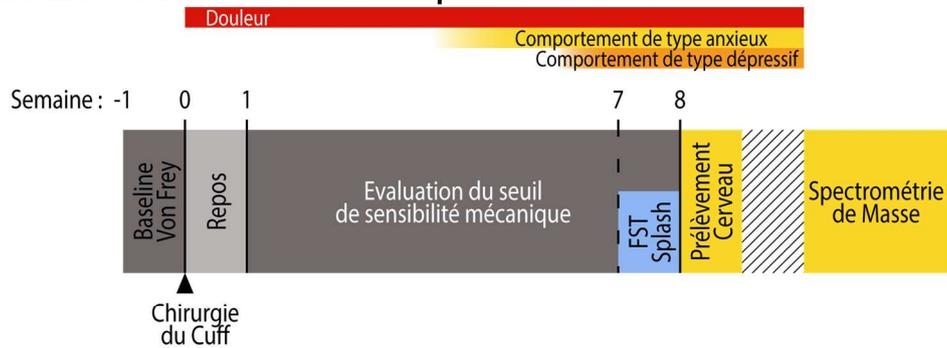
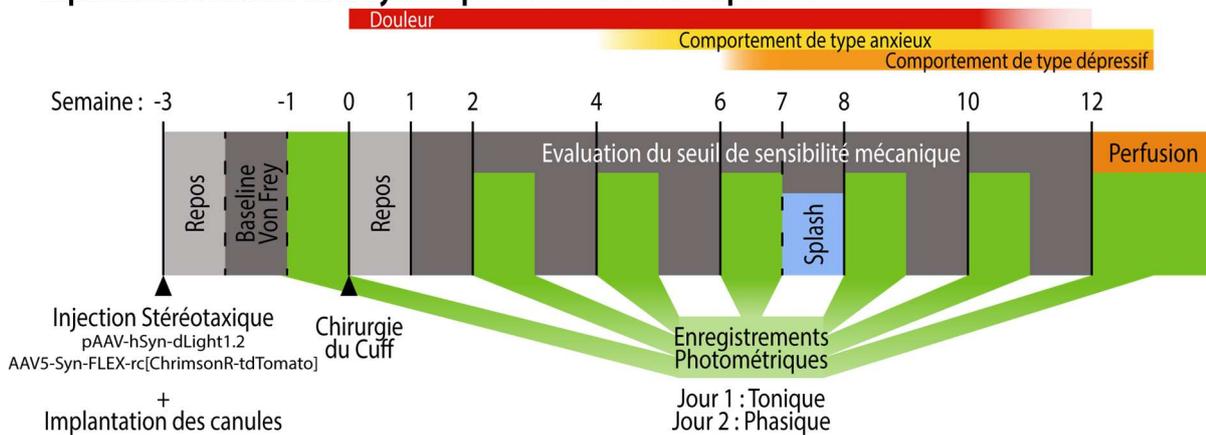
L'hébergement et les expérimentations ont été réalisés dans des locaux agréés, au sein du Chronobiotron (UAR3415, établissement d'élevage et d'hébergement) et du laboratoire CNRS INCI (UPR3212, Institut des Neurosciences Cellulaires et Intégratives).

Dans cette étude, 3 types d'expériences ont été menées, il s'agit :

Pour l'expérience 1 : de l'enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones dopaminergiques de la VTA chez des souris exprimant la comorbidité douleur-dépression ainsi que chez des souris contrôles.

Pour l'expérience 2 : de mesures de la concentration tonique de dopamine dans le NAc chez des souris exprimant la comorbidité douleur-dépression ainsi que des souris contrôles.

Pour l'expérience 3 : de mesures de la dynamique de libération de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations de la VTA chez des souris exprimant la comorbidité douleur-dépression et ainsi que chez des souris contrôles.

**A****Expérience 1 : Activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA****B****Expérience 2 : Mesure de la concentration de dopamine****C****Expérience 3 : Mesure de la dynamique de libération de dopamine****Figure 1. Décours temporel des 3 expériences.**

**A)** Décours temporel de l'expérience 1 permettant l'identification des altérations de l'activité électrophysiologique des neurones dopaminergiques (DA) de l'aire tegmentale ventrale (VTA) chez des souris exprimant une comorbidité douleur-dépression. **B)** Décours temporel de l'expérience 2 permettant l'identification des altérations de la concentration basale de DA dans la VTA et le Noyau Accumbens (NAc) chez les souris exprimant la comorbidité douleur-dépression. **C)** Décours temporel de l'expérience 3 permettant l'étude de la dynamique de libération de la DA dans le NAc en réponse à la stimulation des neurones DA de la VTA chez des souris exprimant une comorbidité douleur-dépression.

## 1. Méthodes relatives à l'ensembles des procédures

### 1.1. Animaux

Les expériences ont été menées sur des souris DAT-IRES-CRE (knock-in ; fond C57BL/6J) mâles adultes (entre 8 et 20 semaines) élevées au sein du Chronobiotron (UAR3415). Les animaux à l'origine de cette colonie sont des souris disponibles commercialement DAT-IRES-CRE (B6.SJL-Slc6a3tm1.1(cre)Bkmn/J, Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME USA).

Les animaux sont hébergés en groupes de 2 à 5 individus par cage et en cycle inversé (cycle nuit / jour de 12:00, lumière à 20:00; 22-23°C, humidité 45%±5%). La nourriture et l'eau sont disponibles *ad libitum*. Un enrichissement (bâtons en bois, frisures et carrés de coton) est présent dans les cages. Le nombre total d'animaux utilisé est de 105.

### 1.2. Chirurgie du cuff

Le modèle du cuff, ou du manchon en français, est un modèle de douleur neuropathique chronique utiliser en routine au laboratoire. Il a été initialement développé chez le rat (Pitcher et al., 1999b) puis adapté à la souris (Benbouzid et al., 2008). Le modèle est associé à une diminution du seuil de sensibilité mécanique dans les jours qui suivent la chirurgie, puis chez la souris est associé à un phénotype de type anxio-dépressif avec l'apparition de comportements de type anxieux au bout de 4 semaines ainsi que de type dépressif 6 semaines après la chirurgie. Vers 12 semaines post-chirurgie, les souris présentent une récupération spontanée de l'allodynie mécanique tout en conservant quelque temps l'expression des comportements de type anxio-dépressif et l'expérience de douleur spontanée. C'est donc un modèle de choix pour étudier les conséquences de la comorbidité douleur-dépression sur l'activité des neurones dopaminergiques de la VTA.



**Figure 2. Chirurgie du cuff.**

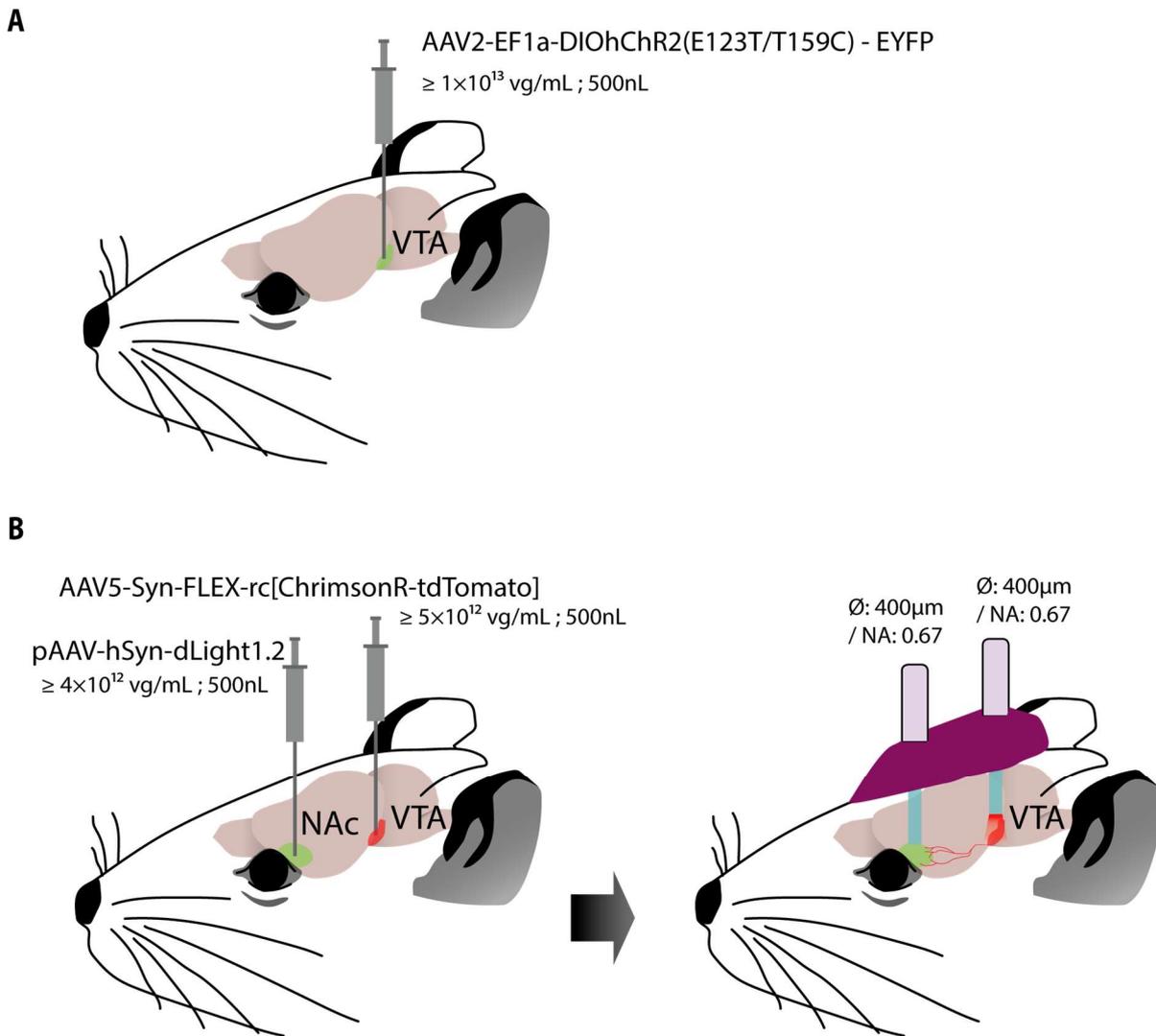
*Implantation du cuff, un manchon en polyéthylène, autour de la branche principale du nerf sciatique droit chez la souris. Illustration tirée de Benbouzid et al., 2008.*

Pour obtenir une douleur neuropathique chronique chez les souris, un manchon (ou cuff) de polyéthylène PE20 (longueur : 2 mm, diamètre externe : 1,09 mm, diamètre interne : 0,38 mm) est placé autour de la branche principale du nerf sciatique droit (animaux « Cuff »). Les animaux subissant la même chirurgie, mais sans pose du manchon, sont dit pseudo-opérés (animaux « Sham »). La chirurgie est réalisée sous anesthésie gazeuse à l'isoflurane (Vetflurane®, Vibrac, Carros, France ; induction : 3,5% isoflurane / 0,5 L/min air ; maintien : 1,5-2% isoflurane / 0,5 L/min air). De l'Ocry-gel® (Centravet) est appliqué sur les yeux pour maintenir une hydratation oculaire pendant l'anesthésie. La souris est placée sur son flanc gauche et la patte droite est surélevée par un morceau de papier absorbant. La cuisse droite est rasée, puis la peau est nettoyée à la Chlorhexidine (Apaisyl® Cleanspray) afin d'obtenir une aseptie. Une incision d'environ 0,5 cm, parallèle au fémur, est réalisée. Les muscles autour du fémur sont écartés à l'aide de cure-dents stérilisés pour exposer le nerf sciatique qui est maintenu hydraté avec du sérum physiologique stérile (0,9% NaCl). Avec une petite pince (type clamp), le manchon (préalablement incisé dans la longueur) est placé sur la branche commune du nerf sciatique et est resserré autour de celle-ci à l'aide d'une pince à disséquer. Le nerf est ensuite remis dans sa position originale et la peau est refermée par une suture (Yalcin *et al.*, 2014). L'animal est placé en cage de repos jusqu'à son réveil complet. Une fiche de suivi post-opératoire est utilisée pour permettre le suivi des animaux les jours suivant l'opération. Aucun traitement anti-inflammatoire ou analgésique post-opératoire n'est donné pour ne pas altérer le développement normal du phénotype neuropathique.

**Expérience 1 :** Les enregistrements électrophysiologiques sont réalisés entre 8 et 9 semaines après la chirurgie (30 souris dans le groupe « Cuff » et 29 souris dans le groupe « Sham »).

**Expérience 2 :** Les prélèvements des cerveaux pour la spectrométrie de masse sont réalisés 8 semaines après la chirurgie (14 souris dans le groupe « Cuff » et 14 souris dans le groupe « Sham »).

**Expérience 3 :** Les enregistrements de photométrie de fibre sont réalisés 1 semaine avant la chirurgie puis à 2, 4, 6, 8, 10 et 12 semaines après (9 souris dans le groupe « Cuff » et 9 souris dans le groupe « Sham »).



**Figure 3. Injection virale intracérébrale.**

À l'aide d'une micropipette en verre ( $\varnothing$  : 40  $\mu$ m), des injections intracérébrales de vecteurs viraux permettant l'expression d'une protéine photo-activable, la channelrhodopsine (ChR), et/ou d'un senseur de la dopamine, le DLight, sont réalisées dans l'aire tegmentale ventrale (VTA) et/ou le Noyau Accumbens (NAc). **A**) Injection de particules virales adénoassociées codant pour une ChR CRE-dépendante dans la VTA de souris DAT-ires-CRE. **B**) Injection de particules virales adénoassociées codant pour une ChR décalée dans le rouge dans la VTA et du senseur de la dopamine (DLight) dans le NAc. Deux canules ( $\varnothing$  : 400  $\mu$ m, Ouverture numérique : 0,67) sont ensuite placées au niveau de la VTA et du NAc afin de respectivement stimuler ou enregistrer la région d'intérêt.

### 1.3. Injection virale intra-cérébrale

Une anesthésie gazeuse à l'isoflurane est réalisée (Vetflurane®, Vibrac, Carros, France ; induction : 3,5% isoflurane / 0,5 L/min air ; maintien : 1,5–2% isoflurane / 0,5 L/min air), le crâne est rasé et la souris est placée dans un cadre stéréotaxique (Kopf apparatus, Model 1630) et maintenue à l'aide de barres d'oreille. De l'Ocry-gel® (Centravet) est mis sur les yeux pour maintenir l'hydratation oculaire. Le crâne est ensuite désinfecté à la Chlorhexidine 0,5% (Cooper) puis à l'alcool à 70%. Un mix de lidocaïne / bupivacaïne (Lurocaïne®, 2,5-5 mg/kg, Bupivacaïne 1-2 mg/kg injection : 20 µL) est injecté en sous-cutané (sc) pour produire une anesthésie locale rapide et de longue durée. Une incision d'environ 2 cm de la peau carnée est réalisée afin d'exposer le crâne du bregma jusqu'au lambda. Une craniotomie circulaire est ensuite réalisée au-dessus de la/les régions d'intérêt. Une micropipette en verre (diamètre interne : 40 µm, Hirschmann®, Ringcaps®) chargée en particules virales est ensuite descendue dans la structure d'intérêt grâce à des coordonnées stéréotaxiques spécifiques. Un volume de 500 µL de particules virales est alors injecté par pression (66 µL/min) dans la région ciblée. Tous les animaux sont âgés de 8 semaines et pèsent 25 g au minimum avant les chirurgies. Les divers vecteurs viraux utilisés et leur site de transfection sont les suivants :

#### **Expérience 1 :**

Pour les procédures comprenant l'enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA, l'injection de particules virales adénoassociées AAV2-EF1a-DIOhChR2(E123T/T159C) - EYFP (titration :  $\geq 1 \times 10^{13}$  vg/mL ; 500 nL) dans la VTA de souris DAT-IRES-Cre permet l'expression d'une channelrhodopsine spécifiquement dans les neurones DA de cette région. L'injection est réalisée unilatéralement juste au-dessus de la VTA (AP = -3,3 mm, ML =  $\pm 0,4$  mm, DV = -4,0 mm), dans l'hémisphère soit ipsilatéral soit controlatéral à la patte opérée des souris « Sham » et « Cuff ».

La chirurgie stéréotaxique est réalisée 4 semaines après la chirurgie du cuff et aucun traitement anti-inflammatoire ou analgésique post-opératoire n'est donné pour ne pas altérer le phénotype neuropathique. À la fin de la chirurgie, la peau du crâne est recousue (Ethilon™ 5-0 30" 16 mm 3/8C) et l'animal est placé en cage de repos jusqu'à son réveil complet avant d'être remis dans sa cage d'origine. Un suivi éthique quotidien est réalisé jusqu'à récupération totale.

#### **Expérience 3 :**

Pour les mesures de la dynamique de libération de la DA dans le NAc en réponse à la stimulation de la VTA, deux vecteurs viraux différents sont injectés lors de la chirurgie stéréotaxique. Une injection de particules virales adénoassociées AAV5-Syn-FLEX-rc[ChrimsonR-tdTomato] (AAV5/ titration :  $\geq 5 \times 10^{12}$  vg/mL ; 500 nL) dans la VTA de souris DAT-IRES-Cre permet l'expression d'une

opsine excitatrice décalée dans le rouge spécifiquement dans les neurones DA de cette région. L'injection est réalisée unilatéralement dans la VTA (AP = -3,3 mm, ML = +0,4 mm, DV = -4,0 mm) dans l'hémisphère ipsilatéral à la patte opérée des souris « Sham » et « Cuff ». Une seconde injection de particules virales adénoassociées (pAAV-hSyn-dLight1.2 (AAV5/ titration :  $\geq 4 \times 10^{12}$  vg/mL ; 500 nL) dans le NAc permet l'expression du senseur de la dopamine DLight dans cette région. L'injection est réalisée dans le NAc (AP = +1,5 mm, ML = +1,2 mm, DV = -3,8 mm) du même côté que la première injection. Pour réaliser les expériences chez la souris vigile, des fibres optiques (2 par souris ; Doric ;  $\varnothing = 400 \mu\text{m}$ , ouverture numérique Ouverture Numérique = 0,67) sont ensuite implantées au niveau du site d'injection dans la VTA et 200  $\mu\text{m}$  au-dessus du site d'injection dans le NAc. Une vis ( $\varnothing = 1,6 \text{ mm}$  ; M2) est placée au niveau de l'hémisphère controlatéral à la patte opérée (AP : -2,0 mm, ML : 2,0 mm) de manière à fournir un point d'ancrage au ciment dentaire. Du ciment adhésif dentaire (Super-Bond® Universal Kit, SUN MEDICAL Co. LTD) est appliqué autour de la base des canules et de la vis pour fixer l'ensemble au crâne, puis un chapeau composé de résine dentaire (PALADUR®, KULZER, MITSUI Chemicals group) est réalisé autour des canules pour fixer le tout et offrir une protection à la boîte crânienne. Une couche de vernis noir est appliquée pour rendre le chapeau opaque. Afin de favoriser la récupération des animaux en limitant la douleur et l'inflammation post-opératoire, on réalise une injection sc de métacam (Meloxicam®, Biogaran 5 mg/Kg) qui est donné par voie orale dès le lendemain à travers l'eau de boisson pendant 2 jours (Inflacam®, Virbac, suspension orale, 5 mg/kg). À la fin de la chirurgie, l'animal est placé en cage de repos jusqu'à son réveil complet avant d'être remis dans sa cage d'origine. Un suivi éthique quotidien est réalisé jusqu'à récupération totale. La chirurgie stéréotaxique est réalisée 3 semaines avant la chirurgie du cuff.

#### 1.4. Evaluation comportementale

L'ensemble de nos tests comportementaux sont réalisés sous lumière rouge lors de la période d'activité des animaux.

##### 1.4.1. Test de von Frey

Ce test permet de confirmer la présence d'une allodynie mécanique statique, un des symptômes de la neuropathie induite par la chirurgie du cuff. Il est basé sur le réflexe spontané de retrait de la patte provoqué lors de l'évocation d'une douleur par un stimulus mécanique (Barrot, 2012). Le test de von Frey consiste à appliquer, au centre de la plante des pattes arrière, des filaments calibrés de diamètre croissant (Aesthesio®, DanMic Global LLC, San Jose, CA, USA) de façon à exercer une pression de 0,4 à 10 g (seuil limite). L'application du filament est stoppée dès qu'il plie ou lorsque l'animal retire sa patte. Le seuil de sensibilité, exprimé en grammes, correspond à la force du premier filament sur deux consécutifs qui ont entraîné au moins 3 retraits de la patte sur 5 applications. Avant la chirurgie, les souris sont d'abord habituées à l'environnement du test de von Frey. Elles sont

placées dans des boîtes de plexiglas transparentes (7 x 9 x 7 cm) et posées sur une grille métallique surélevée durant une vingtaine de minutes. Les seuils de base « Baseline » de sensibilité mécanique sont ensuite mesurés grâce à la réalisation de 3 tests (maximum 1 test par jour) avant la chirurgie du cuff. Une semaine après la chirurgie, les tests sont réalisés hebdomadairement (sauf durant la semaine de repos suivant une éventuelle chirurgie stéréotaxique), afin de mesurer l'évolution du seuil de sensibilité mécanique chez les souris « Sham » et « Cuff » pendant la durée des 3 expériences (8 à 12 semaines).

#### 1.4.2. Test de pulvérisation d'eau sucrée (Test du Splash)

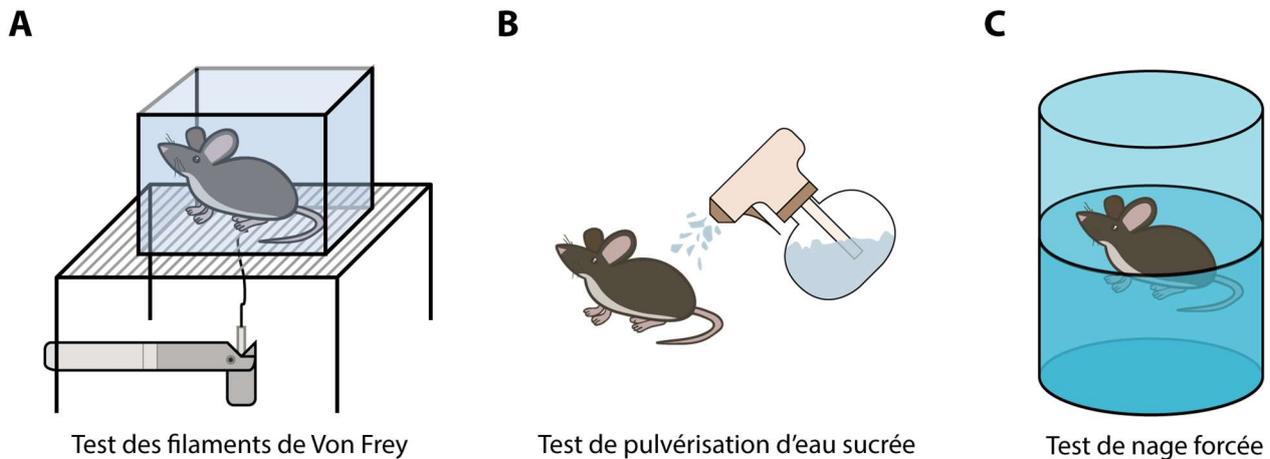
Ce test permet de mettre en évidence la présence d'un comportement de type dépressif chez la souris (Santarelli *et al.*, 2003). Il est basé sur le fait que les souris sont des animaux qui prennent naturellement soin de leur pelage en se toilettant de manière spontanée lorsque celui-ci est sale. Les souris présentant un moindre intérêt pour leur toilettage mis en évidence par une diminution du temps et du nombre de toilettages, sont considérées comme exprimant un comportement de type dépressif.

Pour le test l'animal est placé dans une cage propre du même type que la cage de stabulation (1264C EUROSTANDARD TYPE II, 268 x 215 x 141 mm, Techniplast) puis une solution de sucrose à 20% (40 g Sucrose / Erstein® dans 200 mL d'eau) est pulvérisée sur son dos. Ceci permet de rendre son pelage et sa tête sales et collants. Nous mesurons la latence que l'animal met à réaliser son premier toilettage (en sec), le temps total de toilettage (en sec), ainsi que le nombre de toilettages de la tête et du dos, sur une période de 5 min après la pulvérisation. L'animal est ensuite replacé avec ses congénères. Ce test a été réalisé sur l'ensemble des animaux « Cuff » et « Sham » des 3 expériences, 7 semaines après la chirurgie du cuff.

#### 1.4.3. Test de nage forcée (FST)

Ce test (Porsolt *et al.*, 1978) se base sur le fait que lorsqu'une souris est placée dans un environnement liquide sans possibilité de s'échapper, celle-ci va alors soit nager afin de trouver une échappatoire soit se résigner et se laisser flotter. Plus un animal sera résigné en se laissant flotter, plus celui-ci présentera un comportement considéré comme de type dépressif. Pour ce test, nous remplissons un béccher (Ø : 16 cm, volume : 4 L, Pyrex) d'eau tiède (2,5 à 3,5 L ; 24 à 25°C), puis plaçons l'animal dans l'eau. Le test dure 7 min et nous mesurons la latence avant la première immobilisation, le nombre de phases d'immobilité et le temps total d'immobilité. La souris est immédiatement retirée du béccher si elle reste immergée pendant 5 secondes. À la fin du test, l'animal est ensuite séché délicatement, puis replacé dans sa cage d'origine avec ses congénères. Ce test est réalisé 7 semaines après l'implantation du cuff et au minimum 48 heures après le test de pulvérisation d'eau sucrée, pour éviter les effets du stress sur les animaux. Pour les animaux ayant subi une implantation de canule (Expérience 3) nous n'avons pas réalisé ce test, les canules ainsi

que le chapeau étant considérés comme trop lourds pour permettre aux souris de maintenir correctement leur tête hors de l'eau.



**Figure 4. Tests d'évaluation de la sensibilité mécanique et des comportements de type dépressif.**

**A)** Test des filaments de von Frey : ce test consiste en l'application de filaments de force croissante afin de mesurer le seuil de retrait des pattes arrière correspondant au seuil de sensibilité mécanique. En présence de douleur, ce seuil sera diminué. **B)** Test de pulvérisation d'eau sucrée (Splash test) : ce test consiste à pulvériser une solution de sucrose sur le dos de l'animal pour provoquer un toilettage. La diminution de ce comportement suggère la présence d'un comportement de type dépressif chez l'animal. **C)** Test de nage forcée (FST pour forced swim test) : ce test consiste à placer l'animal dans un bocal d'eau à 25°C et observer sa réaction. L'augmentation de l'immobilité suggère la présence d'un comportement de type dépressif chez l'animal.

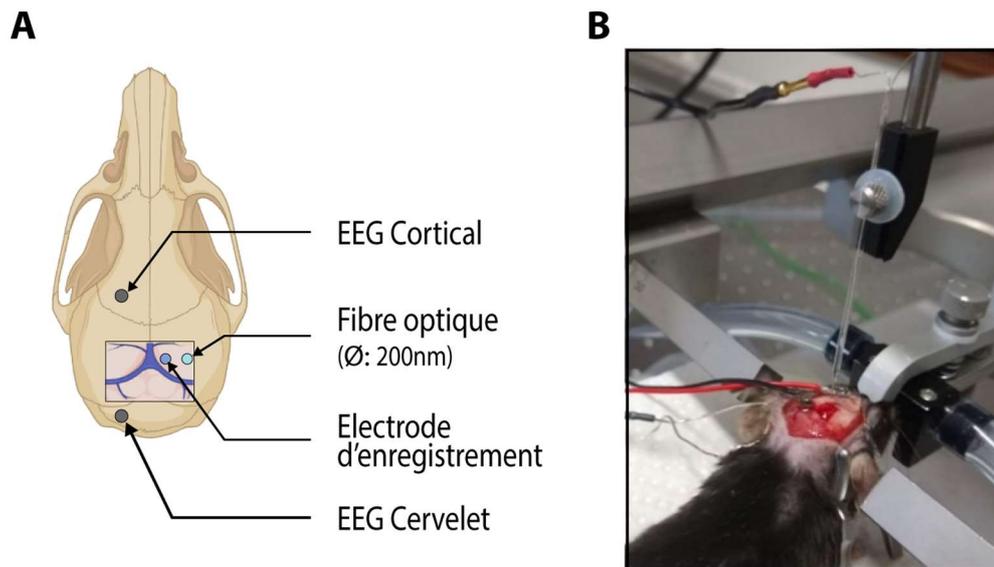
## 2. Méthodes relatives à l'expérience 1 : Enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA.

### 2.1. Electrophysiologie in vivo

L'ensemble des séances d'enregistrement électrophysiologique sont réalisées entre 8 et 9 semaines après la chirurgie du « Cuff ».

#### 2.1.1. Chirurgie

De l'uréthane (Sigma ; 10% éthylcarbamate dans de l'eau distillée, 250 mg/mL, 1 g/kg, IP) est utilisé pour obtenir une anesthésie durable et stable (plus de 8h). Pour pallier au temps d'induction long de l'anesthésie à l'uréthane, une complémentation par administration d'isoflurane (Vetflurane, Virbac) est réalisée pendant les phases d'induction de l'anesthésie (3% ; 2 L/min air) et de chirurgie (0,5-1% ; 0,5 L/min air). L'isoflurane est ensuite coupé et le niveau d'anesthésie est réajusté par des réinjections d'uréthane au besoin (20-50  $\mu$ L/injection ; IP ; minimum 30 min entre chaque injection). Le niveau d'anesthésie est suivi tout au long de l'expérience grâce à un enregistrement électroencéphalographique (EEG), à l'observation régulière de l'animal et à l'absence de réflexe de retrait de la patte lors d'un pincement des pattes arrière.



**Figure 5. Dispositif d'enregistrement électrophysiologique.**

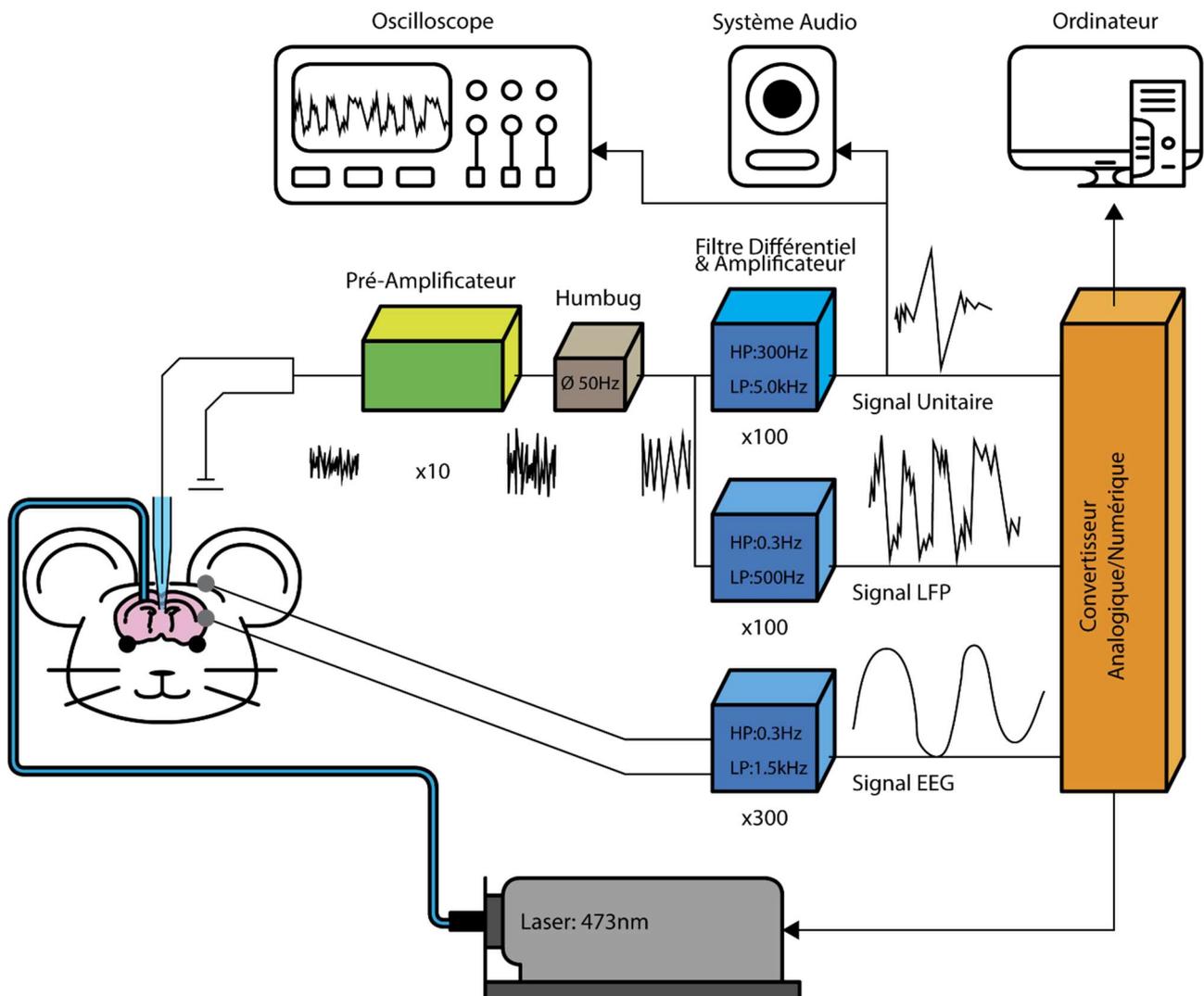
**A)** Pour enregistrer l'électroencéphalogramme (EEG), permettant le suivi de l'anesthésie, deux micro-vis sont placées dans le crâne, jusqu'au contact de la dure-mère, au-dessus du cortex (AP : +2,0 mm, ML : -2,0 mm) et du cervelet (AP : -7,0 mm, ML : -2,0 mm). Une craniectomie bilatérale au-dessus de la VTA est réalisée pour exposer le cerveau de l'animal (fenêtre de 3 mm centrée en AP : -3,3 et ML : ±0,4 mm). Une fibre optique (Ø : 200 µm) est descendue au-dessus de l'extrémité latérale de la VTA (AP : -3,3, ML : 0,9, DV : -4,0 mm ; angle de 5° latéralement) afin de réaliser des stimulations optogénétiques (optotagging). L'électrode d'enregistrement (borosilicate : Ø : 1-2 µm) est descendue rapidement au-dessus du centre de la VTA (AP : -3,3 mm, ML : +0,4 mm, DV : -4,0 mm) puis avec une vitesse de 1 µm/sec pour rechercher les neurones spontanément actifs. À la fin de la descente, l'électrode est ressortie du cerveau, déplacée de 200 µm et une nouvelle descente est réalisée. **B)** Photographie du placement des électrodes d'EEG et de la pipette d'enregistrement (sans la fibre optique).

Après induction de l'anesthésie, la souris est placée dans un cadre stéréotaxique. La température corporelle est maintenue entre 36 et 38°C grâce à un tapis chauffant contrôlé par une sonde rectale. Du gel oculaire (Ocrygel®) est placé sur les yeux pour les protéger de la déshydratation et une anesthésie locale (lidocaïne ; 2 mg/mL ; sc) est réalisée au niveau du crâne. Un nettoyage à l'alcool 70% et à la chlorhexidine est réalisé pour obtenir une asepsie, puis le crâne est exposé par incision de la peau au scalpel. L'horizontalité du crâne est vérifiée, puis une craniectomie bilatérale est réalisée au-dessus de la VTA (fenêtre d'environ 3 mm de côté autour des coordonnées par rapport au bregma : AP : -3,3 mm, ML : ±0,4 mm). Deux trous sont percés pour placer deux vis dans le crâne : une au-dessus du cortex préfrontal (AP : +2 mm, ML : -2 mm) et l'autre au-dessus du cervelet (AP : -7 mm, ML : -2 mm). Ces vis sont placées au contact du cerveau pour réaliser les enregistrements EEG permettant de suivre le niveau d'anesthésie de l'animal. Nous nous plaçons en anesthésie profonde caractérisée par une activité d'ondes lentes. Une électrode d'argent placée au niveau de la peau du cou de l'animal sert de référence à la terre (Ground). Une fibre optique (diamètre : 100 µm / Ouverture Numérique : 0,22) est ensuite placée juste au-dessus de la VTA (AP : -3,3 mm, ML : +1,0 mm avec 5° d'angle, DV : -4,0 mm) ce qui permet de réaliser des stimulations

optogénétiques des neurones dopaminergiques de la VTA exprimant la channelrhodopsine suite une injection de vecteurs viraux 4 semaines avant les enregistrements (voir chirurgie stéréotaxique). Enfin une micropipette (1-2  $\mu\text{m}$  de diamètre, 10-20  $\text{M}\Omega$ , Harvard apparatus, 30-0044 GC120F-10) remplie avec une solution de bleu de pontamine (2% pontamine skyblue, BDh Chemicals, dans de l'acétate de sodium 0,5 M) est descendue rapidement (5 $\mu\text{m}/\text{sec}$ ) dans le tissu cérébral jusqu'au-dessus de la VTA grâce à un micro-descendeur motorisé (LinLab, Scientifica). À partir de ce moment, la recherche d'activité unitaire commence. La micropipette est descendue lentement (1  $\mu\text{m}/\text{sec}$ ) au travers de la VTA (DV : -3,5 mm à -5,5 mm par rapport à la dure-mère) jusqu'à ce que la micropipette soit assez proche d'un neurone spontanément actif pour discriminer les potentiels d'action extracellulaires du bruit.

### 2.1.2. Enregistrement in vivo des neurones dopaminergiques de la VTA

Les variations de potentiels sont détectées par un fil d'argent chloruré placé dans la micropipette. Ce signal est amplifié 10 fois par un pré-amplificateur (Neurodata IR183A, Cygnus technology), passé dans un éliminateur de bruit non filtrant (50 Hz et harmonique correspondante, Humbug®, World Precision Instrument) puis réamplifié 100 fois et filtré (filtre passe-haut : 300 Hz, filtre passe-bas : 5,0 kHz) par un amplificateur différentiel (Brownlee modèle 440). Le signal EEG est directement amplifié et filtré par l'amplificateur différentiel (200x, filtre passe-haut : 0,30 Hz, filtre passe-bas : 1,5 kHz). Les signaux (signal direct du préamplificateur avant filtration, signal unitaire et signal EEG) sont finalement numérisés et envoyés à un ordinateur pour la collecte des données grâce à une interface CED et au logiciel Spike 2 qui lui est associé (CED 1401 ; Spike2 ; Cambridge Electronic Design). Seuls les neurones spontanément actifs sont enregistrés et analysés. Une première discrimination des neurones DA « potentiels » est réalisée en direct sur la base des caractéristiques électrophysiologiques suivantes : 1) un PA d'une durée totale  $\geq 2,5$  ms ; 2) une 1<sup>ère</sup> partie du PA (début du PA jusqu'au point de potentiel le plus négatif)  $\geq 1,1$  ms (Grace & Bunney, 1984b). Nous confirmons ensuite l'identité dopaminergique du neurone par optogénétique grâce à la méthode d'optotagging. Pour cela, nous réalisons des stimulations optogénétiques locales de la VTA (10 trains de 10 pulses de 5 ms à 30 Hz, chaque train séparé de 30 sec) à l'aide d'un laser (06-MLD 473 nm, Cobolt, puissance pulse : 15 mW, puissance maximum : 100 mW, longueur d'onde : 473 nm) tout en enregistrant la réponse du neurone à ces stimulations. Si le neurone émet un PA synchronisé à chaque pulse, alors il exprime la channelrhodopsine. Comme nous utilisons une channelrhodopsine CRE-dépendante combinée à des souris DAT-IRES-CRE, seuls les neurones exprimant le transporteur de la dopamine (donc dopaminergiques) exprimeront la channelrhodopsine. Ces neurones dopaminergiques sont enregistrés pendant 100 à 300 secondes pour établir leur activité de base avant la recherche d'un autre neurone. Une fois cette procédure réalisée, la descente de la pipette dans la VTA est reprise. Quatre à sept descentes sont réalisées dans chaque hémisphère du cerveau.



**Figure 7. Schéma de la configuration de l'équipement nécessaire aux enregistrements électrophysiologiques de neurones unitaires chez la souris anesthésiée.**

L'activité électrique du cerveau est détectée grâce à une électrode en verre contenant une solution ionique et un fil d'argent chloruré. Le signal est amplifié 10 fois par un préamplificateur puis le bruit électrique éliminé à 50 Hz (Humbug). Le signal est ensuite dupliqué en un signal « unitaire », permettant de visualiser les potentiels d'action, et un signal LFP (local field potential), représentant les mouvements ioniques de la population neuronale autour de l'électrode. Ces signaux sont amplifiés (x100) et filtrés. Ils sont ensuite numérisés à l'aide d'un convertisseur analogue/numérique commandé par un ordinateur. Pour avoir un retour visuel et auditif pendant les enregistrements, le signal unitaire est également couplé à un oscilloscope et à un système audio. Le signal enregistré par les électrodes d'EEG est directement amplifié (x300) et filtré avant d'être numérisé. Enfin le convertisseur analogue/numérique contrôle un laser (473 nm). Ce laser est connecté à une fibre optique placée au-dessus de la VTA et permettant la stimulation optogénétique de cette région.

### 2.1.3. Localisation anatomique des enregistrements

Afin d'identifier précisément la position anatomique de chaque neurone enregistré, un « point bleu » est réalisé dans la VTA en fin d'expérience. Le bleu de pontamine contenu dans la pipette est injecté par iontophorèse (courant pulsé de  $-8 \mu\text{A}$ , 7 sec on / 7 sec off, 15 min) au site d'enregistrement du dernier neurone dopaminergique identifié de la journée.

L'animal est ensuite anesthésié plus profondément (5 min, isoflurane 4%, 0,5 L/min air) puis est décapité afin de collecter le cerveau qui est immédiatement congelé dans de l'isopentane à  $-80^\circ\text{C}$  pendant 1 à 2 min puis conservé à  $-20^\circ\text{C}$ .

Des coupes frontales de  $40 \mu\text{m}$  contenant le « point bleu » sont réalisées au cryostat (Microm Microtech) et récupérées sur lames gélatinées. Ces lames sont ensuite dégraissées dans du Roti-Histol (2 bains, Roti®-Histol, Roth) puis dans des bains décroissants d'alcool (2 bains à  $100^\circ$ , 1 bain à  $90^\circ$ , 1 bain à  $70^\circ$ ). S'ensuit un bain dans l'eau distillée puis un bain dans du rouge neutre (C15H17CIN4, C.I 50040, Sigma-Aldrich) pour réaliser une contre-coloration. Les lames sont ensuite déshydratées en passant successivement par un bain dans l'eau, puis dans des bains d'alcool croissants ( $70^\circ$ ,  $90^\circ$  et 2 bains à  $100^\circ$ ) pour terminer dans 2 bains de Roti-Histol. Chaque bain dure 1 min. Les lames sont alors recouvertes d'une lamelle en utilisant un milieu de montage non aqueux Eukitt (Kindler).



**Figure 6. Microphotographie d'une coupe frontale montrant un dépôt de bleu de pontamine (point bleu) dans la VTA.**

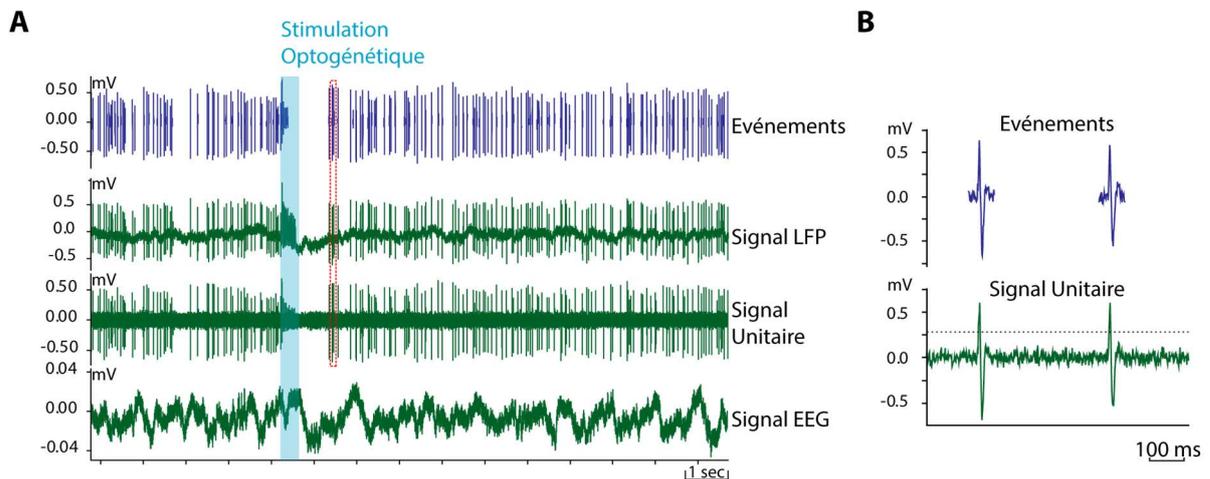
*A la fin des enregistrements, une injection iontophorétique de bleu de pontamine est réalisée pour localiser les neurones enregistrés durant la journée. Sur la base des coordonnées stéréotaxiques connues du point bleu, il devient possible de calculer la position anatomique de chaque neurone enregistré en utilisant leurs coordonnées relatives à ce point. Coupe de  $40 \mu\text{m}$  contre-colorée au rouge neutre.*

Les microphotographies des « points bleus » sont réalisées en lumière transmise avec un microscope (Nikon eclipse 80i, objectif X5) associé à une caméra digitale (cool Snap). Connaissant les coordonnées stéréotaxiques du point bleu de chaque neurone enregistré, ces derniers sont placés sur une carte de la VTA adaptée de l'atlas de Paxinos et Franklin (Franklin & Paxinos, 2013) et classés selon leur localisation dans la VTA (VTA antérieure vs postérieure ; VTA médiale vs latérale ; VTA contro vs ipsilatérale à la chirurgie du cuff).

## 2.2. Méthodes d'analyses

### 2.2.1. Détection des potentiels d'action

La première étape est d'isoler les PA du bruit électrique grâce au logiciel Spike 2 (Cambridge Electronics). Pour chaque neurone enregistré, nous plaçons visuellement un seuil de détection juste au-dessus du niveau du bruit (**Fig.8**). Lorsque le signal dépasse ce seuil, une image du signal est capturée (3 ms avant à 5 ms après). Cette image constitue un événement. Cette étape permet la détection de l'ensemble des PA émis par le neurone, mais peut également inclure des artéfacts (exemples : pic transitoire dans le bruit, artéfacts électriques...). Pour séparer les PA de ces artéfacts, nous réalisons une analyse en composantes principales à plusieurs dimensions. Cette technique permet d'isoler visuellement le cluster d'événements correspondant aux PA du neurone enregistré. Dans certains cas rares, deux neurones peuvent être enregistrés en même temps et l'analyse en composante principale permet de séparer les PA appartenant aux deux neurones pour les analyser séparément.

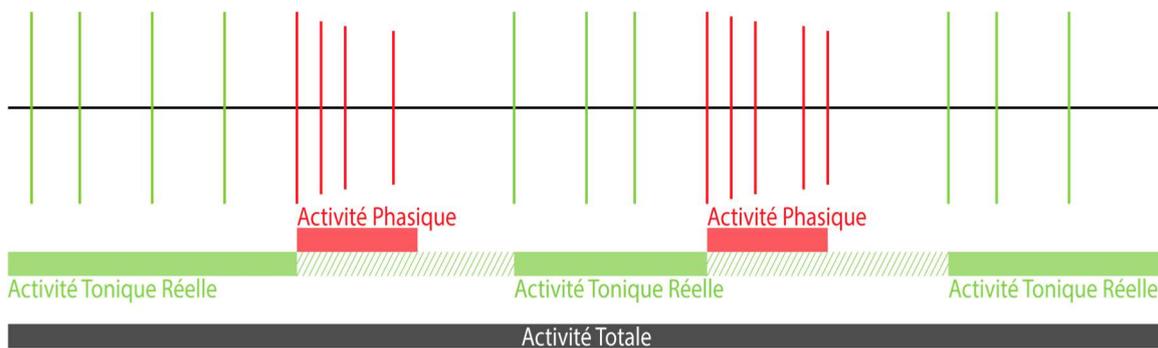


**Figure 8. Exemple de trace d'enregistrement électrophysiologique in vivo.**

**A)** Les événements sont les potentiels d'action (PA) isolés du bruit du signal unitaire. Le signal de champs local (Local Field Potential - LFP) présente des oscillations résultant de l'activité de la population neuronale à proximité de l'électrode d'enregistrement. Le signal unitaire correspond à l'activité électrophysiologique d'un neurone unique au travers de ses PA. Enfin le signal électroencéphalographique (EEG) est utilisé pour contrôler la profondeur de l'anesthésie de l'animal tout au long de l'enregistrement. Il est ici dit en onde lente. **B)** Zoom sur une portion de signal (en rouge sur la figure A).

### 2.2.2. Analyse de l'activité tonique et phasique des neurones DA de la VTA

Une analyse de la fréquence des PA est réalisée. L'activité totale est constituée de l'ensemble des PA émis par le neurone et est classiquement appelée activité tonique dans la littérature. Cette activité totale possède en fait 2 composantes. L'activité tonique dite « réelle », de type « pacemaker » avec une fréquence moyenne de 5 Hz, et l'activité phasique dite en « burst », composée de courts moments d'émission de PA à haute fréquence (Grace & Bunney, 1984a, 1984b). Les activités tonique et phasique alternent au sein de l'activité totale du neurone, ce qui permet d'identifier les PA appartenant à chacune de ces activités (**Fig.9**).

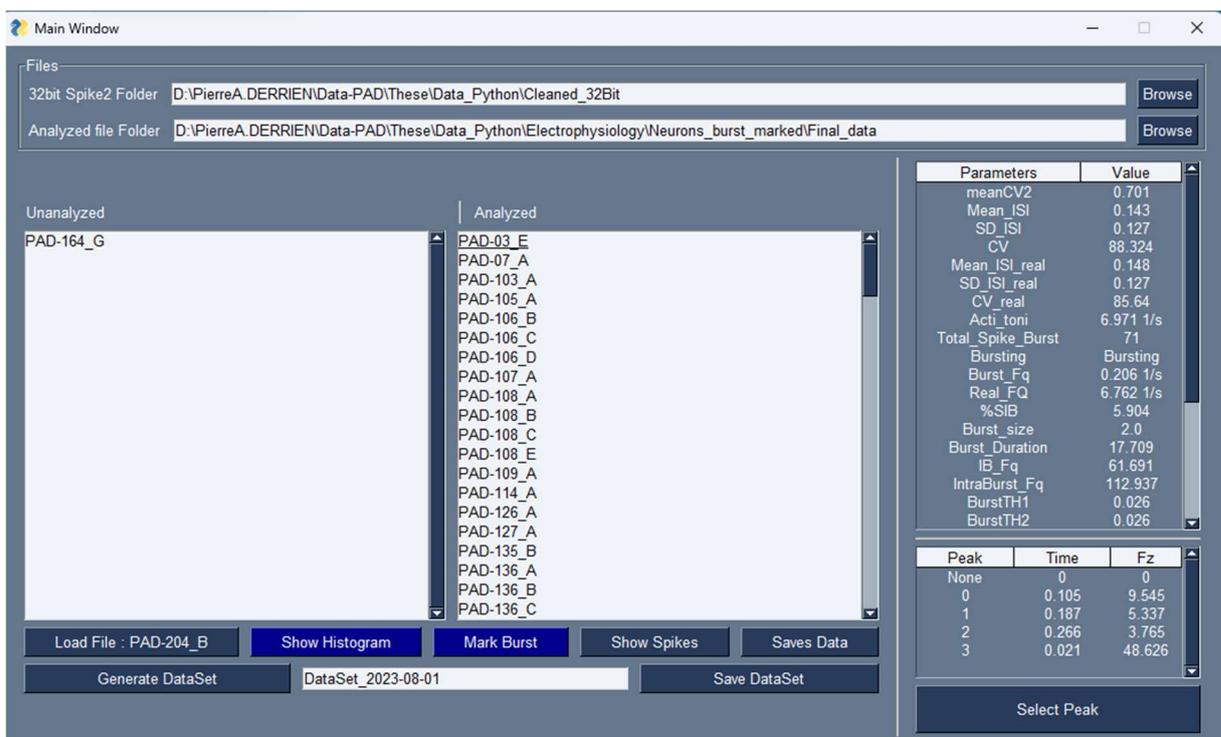


**Figure 9. Illustration de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA.**

*L'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA est composée de PA. L'activité dite « Totale » est constituée de deux schémas d'activité successifs. Le premier dit « Tonique Réelle » correspond à une activité régulière de type pacemaker et est commun à tous des neurones DA. Le second schéma d'activité, qui n'est observé que chez certains neurones, est l'activité phasique aussi dite en « burst ». Elle se caractérise par de bref moments d'émission de PA à haute fréquence, suivis d'une pause dans l'activité. Cette activité phasique débute toujours par un premier PA, qui appartient à l'activité tonique et phasique.*

Pour cela, nous analysons, pour chaque neurone, la distribution de l'histogramme du logarithme de la durée entre deux PA (ISI pour inter spike interval). Cette technique d'analyse prend en compte le fait que tous les neurones DA de VTA enregistrés sous anesthésie ne présentent pas une activité phasique. De plus, l'activité de ces neurones uniquement tonique suit une distribution normale de leurs ISI centrée autour de leur fréquence « pacemaker » (Grace & Bunney, 1984a). Les neurones ayant une activité phasique et tonique présenteront, quant à eux, une distribution bimodale de l'histogramme du LogISI. Dans ce cas, pour chaque neurone, la détermination d'un seuil de durée du log de l'ISI permet de distinguer les PA inclus dans l'activité tonique (avec un pic à basse fréquence, ISI long) de ceux inclus dans l'activité phasique (avec un pic à haute fréquence, ISI court). Le seuil de détection correspond à la valeur minimale séparant ces deux pics. Cette analyse est réalisée grâce à l'adaptation d'un script MATLAB (Pasquale et al., 2010) adapté en Python et modifié (disponible sur GitFront : <https://gitfront.io/r/PA-Derrien/93j7EoWBSSME/LogISI-analyser-scripts/>). Le détail de notre algorithme est décrit ci-dessous.

Pour comparer des ISI de valeurs très différentes allant de la milliseconde à plus de 100 secondes pour les neurones les plus lents, le logarithme de chaque ISI est calculé et un histogramme de la distribution de ces logISI est réalisé (100 points allant de  $10^{-3}$  à  $10^{+2}$  sec, distribués selon une échelle logarithmique). Une estimation de la distribution de cet histogramme est réalisée grâce une régression locale pondérée (LOWESS, pondération :  $1/10^e$  du signal par point) combinée à un filtre gaussien (écart-type du filtre : 0,5). Nous obtenons une matrice bidimensionnelle (100 points, y : le nombre de points attendus, x : la taille des ISI) sur lequel nous appliquons un algorithme de détection de pic (fonction : `scipy.signal.find_peaks`, paramètres : `threshold = 0,5`, `distance : 3`). Pour chaque neurone plusieurs cas sont possibles en fonction des résultats de cet algorithme :



**Figure 10. Capture d'écran du logiciel d'analyse de l'histogramme du logISI développé.**

Cette interface graphique, codée en Python, permet l'identification des PA en « burst » d'un enregistrement unitaire à partir d'un fichier du logiciel d'enregistrement de signaux électrophysiologiques Spike2. Les PA en « burst » sont identifiés par l'analyse de l'histogramme du logISI.

**A)** L'algorithme ne détecte qu'un seul pic (ou plusieurs pics, mais aucun avec une fréquence  $\geq 10$  Hz : ISI supérieur à 100 ms). Le neurone présente une distribution unimodale de ses logISI. Le pic correspond à l'activité tonique du neurone et celui-ci ne présente pas d'activité phasique. Ces neurones sont caractérisés comme non burstant (**Fig.11 A**).

**B)** L'algorithme détecte deux pics, dont au moins un pic avec une fréquence  $\geq 100$  ms. Nous calculons un paramètre qui quantifie si la séparation entre les deux pics est suffisante pour les considérer comme distincts (0 = pics non séparés / 1 = pics totalement séparés) dénommé *VOID* :

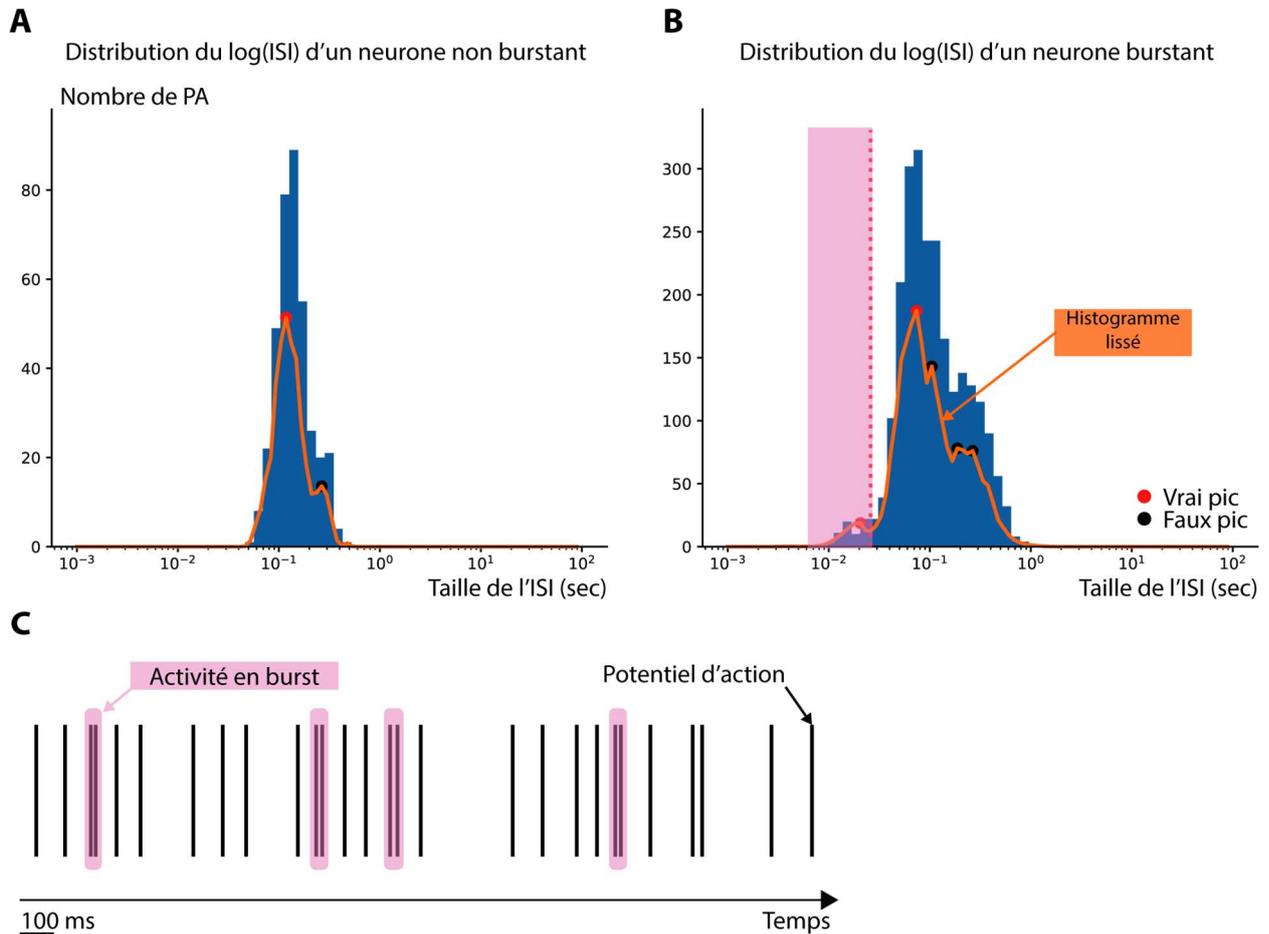
$$VOID = 1 - \frac{g(\text{valeur d'ISI au minimum des deux pics})}{\sqrt{g(\text{valeur d'ISI au pic principal})g(\text{valeur d'ISI au pic secondaire})}}$$

*avec  $g(x)$  = nombre d'ISI au point de la distribution  $x$*

Nous avons fixé un seuil  $VOID \geq 0,6$  pour définir que nos deux pics sont bien distincts. Dans ce cas, le neurone présente une distribution bimodale de ses logISI, et le pic correspondant aux ISI les plus courts comprend les ISI de l'activité phasique. Le second pic (comprenant les ISI plus longs) représente les ISI de l'activité tonique de ce neurone. Si le *VOID* est  $< 0,6$ , la distribution des ISI est unimodale et le neurone ne présente pas d'activité phasique et est classé comme non burstant (**Fig.11 B**).

**C)** L'algorithme détecte plus de deux pics, dont au moins un pic avec une fréquence  $\leq 100$  ms. Toutes les paires de pics comprenant un pic principal (c'est-à-dire le pic comprenant le nombre d'ISI le plus élevé) et un second pic (pic secondaire) sont identifiées. Au minimum un de ces pics doit représenter des ISI  $\leq 100$  ms. Nous commençons par calculer le *VOID* pour la paire de pics ayant la valeur de pic secondaire maximale. Si le *VOID* est  $\geq 0,6$ , alors le pic présentant les ISI les plus longs correspond au pic tonique et le pic correspondant aux ISI les plus courts au pic phasique. Si le *VOID* est  $< 0,6$ , cette paire de pics est exclue des pics potentiels et l'on passe à la paire de pics suivante jusqu'à avoir trouvé une paire de pics dont le *VOID* est  $\geq 0,6$  ou avoir testé toutes les paires de pics potentielles. Dans ce dernier cas, le neurone ne présente pas de 2<sup>nd</sup> vrai pic. Sa distribution est unimodale, il ne présente pas d'activité phasique et est classé comme non burstant.

Si des pics toniques et phasiques sont déterminés, nous calculons le point de la distribution minimum entre ces pics. Tous les ISI présentant une valeur inférieure à ce seuil sont alors définis comme appartenant à l'activité phasique, et nous définissons les ISI au-dessus comme appartenant à l'activité tonique. Nous identifions alors les neurones présentant une activité tonique et phasique, appelés neurones « burstant », regroupant les neurones présentant une distribution bimodale de leur ISI ainsi qu'un minimum de 2 périodes de burst détectés dans l'activité afin de s'affranchir des artéfacts possibles dans la détection (**Fig.11 C**).



**Figure 11. Exemple de distribution du log(ISI) et des potentiels d'action (PA) obtenu à l'aide du logiciel.**

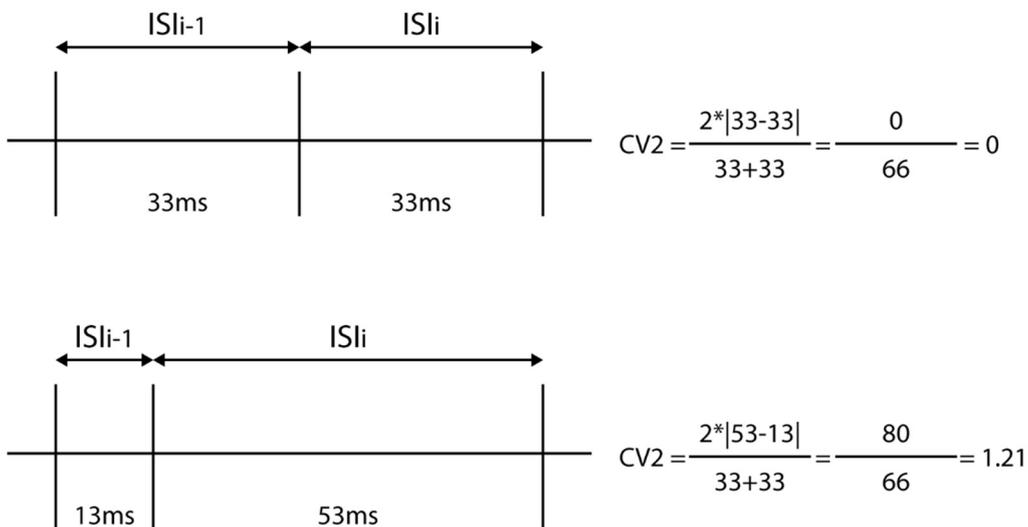
En A. est observable la distribution du logISI d'un neurone non burstant. On peut voir que l'algorithme détecte un second pic au-dessus de 100 ms avec un VOID < 0,6 (pic en noir) et ne place donc pas de seuil, ce neurone présentant une distribution unimodale. En B. est observable un exemple de distribution bimodale des PA d'un neurone présentant une activité phasique. Le seuil d'ISI afin de marquer les PA en burst est représenté par un trait en pointillé rouge, les pics présentant un VOID supérieur à 0,6 par rapport au pic principal sont marqués par un point rouge et les pics inférieurs par un point noir. La portion en rose correspond ainsi à l'ensemble des ISI correspondant aux PA en période de burst. Enfin en C., est un exemple des PA marqués comme étant en période de burst (Rose), basé sur la distribution et le seuil présenté en B.

Une fois les PA identifiés comme appartenant à l'activité tonique ou phasique, différents paramètres décrivant ces activités sont alors calculés. L'activité totale d'un neurone est la fréquence de décharge moyenne de tous les PA émis pendant l'enregistrement. La régularité de l'activité d'un neurone est caractérisée par le coefficient de variation (CV, valeur sans unité). Plus un neurone présente un CV faible, plus il a une fréquence de décharge régulière dans le temps. Le CV ne prenant pas en compte l'ordre d'apparition des PA, ce paramètre peut sembler inadapté pour les neurones burstant. En effet, un neurone présentant une activité en « burst » importante mais apparaissant de manière régulière va présenter un CV important (baisse de la moyenne des ISI et augmentation de l'écart-type). Afin d'étudier la régularité locale des neurones, un second paramètre nommé CV2 est donc utilisé. Ce paramètre est calculé pour chaque paire d'ISI et représente la moyenne de la division de l'écart absolue entre deux ISI consécutifs et la somme de ceux-ci. Cela va ainsi mesurer la symétrie de la durée entre le PA précédent et le PA suivant pour chaque PA et le CV2 va représenter la moyenne de cette symétrie.

$$CV = \frac{\text{Ecart-type ISI}}{\text{Moyenne ISI}} \quad CV2 = \sum_{i=k}^{k-1} \frac{2|ISI_i - ISI_{i+1}|}{ISI_i + ISI_{i+1}}$$

avec  $ISI_i = \text{intervalles entre } PA_{i-1} \text{ et le } PA_i$

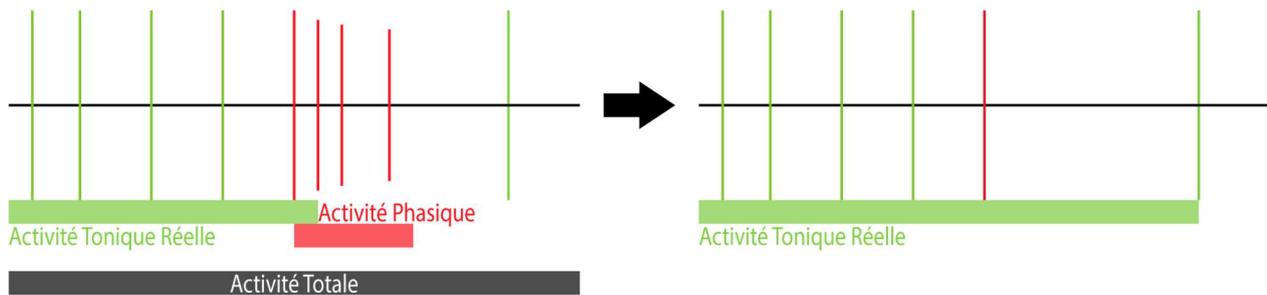
$k = \text{nombre totale d'ISI}$



**Figure 12. Exemple du calcul du CV2 en fonction de la symétrie des potentiels d'action (PA).**

Le CV2 d'un ISI est une représentation mathématique qui indique si la durée entre les PA qui composent l'ISI est proche de la durée de l'ISI précédent. Ainsi, si les durées sont identiques, le CV2 sera nul et le premier PA de l'ISI sera centré par rapport aux PA précédents et suivants. Plus le premier PA de l'ISI est proche du PA précédent ou du PA suivant, plus le CV2 augmentera, ce qui représente une émission de PA non régulière, comme dans un burst.

De nombreux neurones DA de la VTA possèdent une activité mixte phasique et tonique. L'analyse de l'activité totale ne représente donc pas la complexité de l'activité de ces neurones. Pour affiner l'analyse, une fréquence de décharge tonique réelle, ainsi qu'un CV réel et un CV2 réel sont calculés, en utilisant les mêmes formules que précédemment, mais en excluant les PA compris dans les burst (le premier PA de chaque burst est conservé). Pour les neurones ne présentant pas d'activité phasique, l'activité totale et tonique réelle est identique.



**Figure 13. Définition de l'activité tonique réelle.**

*L'activité totale d'un neurone comprend l'ensemble des PA qu'il émet. Classiquement, la littérature décrit cette activité comme l'activité tonique du neurone, alors qu'en pratique elle est constituée de phases d'activité tonique « pacemaker » et d'activité phasique en « burst » du neurone. Nous définissons donc une activité tonique "réelle" qui correspond uniquement à l'activité pacemaker du neurone. Elle comprend tous les PA émis en dehors des périodes de burst, ainsi que le premier PA de chaque période de burst, un PA tonique étant nécessaire à l'initiation d'une période de burst.*

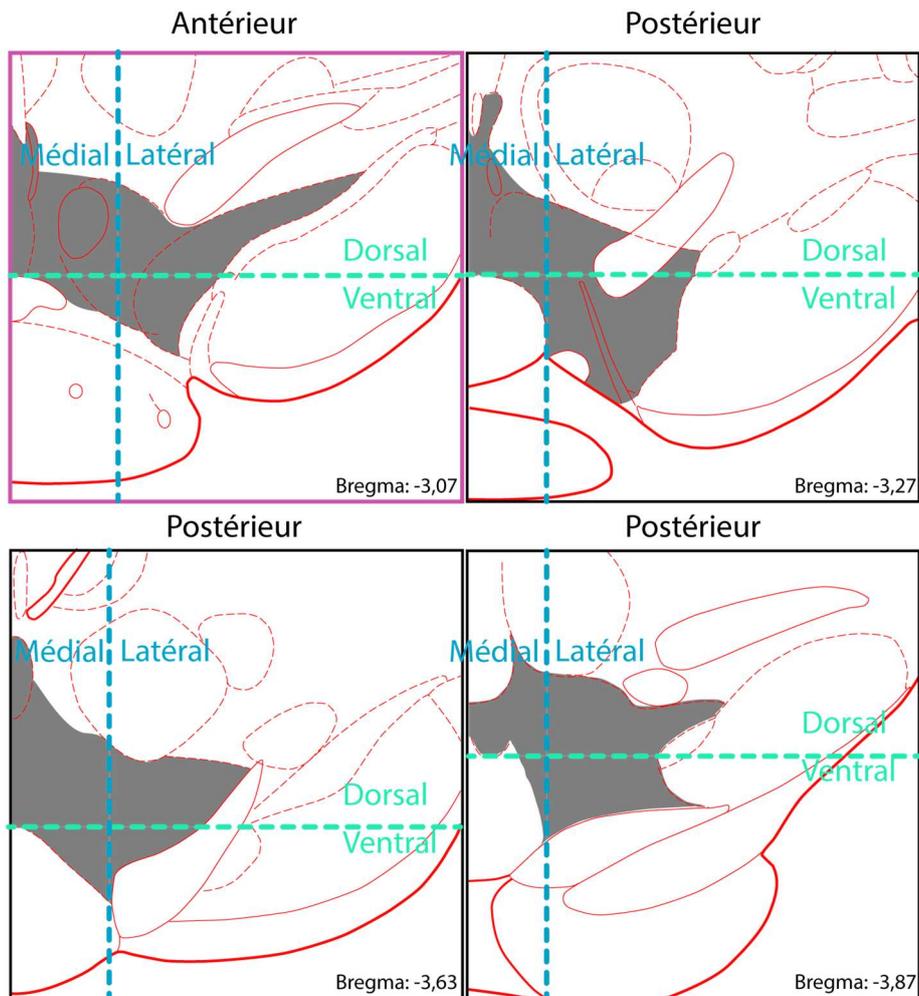
Enfin, 6 paramètres supplémentaires caractérisant l'activité phasique des neurones burstant sont calculés. Il s'agit : a) de la fréquence des burst (nombre de burst / durée de l'enregistrement, en Hz), b) du pourcentage de PA en burst (%SIB pour PA en burst ; nombre de PA en burst / nombre total de PA), c) de la taille des bouffées (nombre de PA / burst) et d) de la durée des burst (en ms). En plus de ces quatre paramètres classiques, deux paramètres supplémentaires intrinsèquement liés sont calculés : e) la fréquence intra-burst (nombre de PA en burst / durée totale de l'ensemble des burst) et f) la fréquence instantanée des burst ( $1/ISI$  pour chaque ISI en burst), tous les deux en Hz.

### 2.2.3. Mise en évidence de sous-populations de neurones DA de la VTA

La VTA est une région hétérogène, où différentes sous-populations de neurones DA diffèrent notamment par leur forme (Phillipson, 1979a-c), leur activité (Kauffling & Aston-Jones, 2015) ou leur site de projection en fonction de leur localisation au sein de la VTA (Lammel et al., 2012). Nos enregistrements s'étendant sur l'ensemble de la structure et présentant des distributions non normales, cela suggère la présence de sous-populations. Nous avons donc utilisé différentes méthodes pour identifier d'éventuelles sous-populations de neurones DA entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».

### 2.2.3.1. Sous-populations en fonction de la présence d'une activité phasique

Le premier type de sous-population étudié se base sur la présence ou non d'une d'activité phasique des neurones DA enregistrés. Les neurones sont séparés en neurones « burstant » et « non burstant » (voir paragraphe 2.2.2 pour les critères de sélections). Les paramètres d'activité totale et tonique réelle de ces sous-populations sont comparés entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».



**Figure 13. Axes anatomiques de discrimination.**

3 axes anatomiques ont été utilisés pour identifier des sous-populations de neurones DA enregistrés en fonction de leur localisation dans la VTA : un axe antéro-postérieur, un axe latéro-médial et un axe dorso-ventral. Les neurones antérieurs de la VTA sont définis comme tous les neurones situés avant une AP d moins de -3,17 mm (premier quadrant), et les neurones postérieurs comme ceux situés dans les 3 quadrants suivants. Les neurones dorsaux de la VTA sont définis comme ceux situés au-dessus de la limite supérieure du noyau interpedonculaire (IP) et les neurones ventraux comme ceux situés en dessous. Enfin, les neurones latéraux sont définis comme ceux situés latéralement à l'IP et les neurones médians comme ceux situés avant cette limite.

### 2.2.3.2. Sous-populations en fonction de la localisation anatomique

Le deuxième type de sous population étudié se base sur la localisation anatomique des neurones DA enregistrés dans la VTA. 4 axes différents sont utilisés :

- Un axe antéro-postérieur sépare les neurones DA de la VTA en neurones antérieurs, localisés avant l'apparition du noyau interpedunculaire (IP) (AP = -3,17 mm par rapport au Bregma), des neurones postérieurs localisés après l'apparition de l'IP.
- Un axe médio-latéral (L = 0,3 à 0,5 mm par rapport au Bregma) sépare les neurones médiaux et latéraux. C'est la limite latérale de l'IP qui définit précisément cette séparation.
- Un axe dorso-ventral (DV = -4,2 à -4,3 mm par rapport au Bregma) sépare les neurones en neurones dorsaux et ventraux. C'est la limite dorsale de l'IP qui définit précisément cette séparation.
- Un axe ipsi / controlatéral sépare les neurones enregistrés du même côté ou du côté opposé à la patte opérée lors de la chirurgie du cuff.

### 2.2.3.3. Sous-populations en fonction des paramètres électrophysiologiques : analyse en composante principale

Une approche de réduction de dimensions a aussi été utilisée pour identifier des sous-populations de neurones présentant des paramètres électrophysiologiques communs. Pour cela, une analyse en composante principale (PCA) à 3 dimensions est réalisée à partir des paramètres électrophysiologiques suivants : activité totale, activité réelle, moyenne des ISI de l'activité totale et réelle, écart-type des ISI de l'activité totale et réelle, CV de l'activité totale et réelle, CV2 de l'activité totale et réelle, fréquence des burst, pourcentage de PA en burst, durée des burst, taille des burst, fréquence intra-burst, fréquence instantanée des burst.

Un algorithme de partitionnement en k-moyennes (K-means) est ensuite réalisé pour identifier les groupes de neurones. Cette méthode de catégorisation va minimiser la distance euclidienne entre chaque point de données et le centroïde le plus proche (représentant le centre d'un groupe ou « cluster » de neurones). À chaque itération, les centroïdes vont être déplacés jusqu'à ce que la somme des distances euclidienne ne change plus. Cette méthode de catégorisation présente 2 paramètres d'initialisation, le nombre de centroïdes et la méthode d'initialisation de la position des centroïdes.

Le nombre optimal de centroïdes est déterminé par la méthode "Elbow" qui consiste à calculer la variance de l'algorithme pour différents nombres de centroïdes (de 1 au nombre total de points de données) et à tracer une courbe. Le point d'inflexion sur cette courbe permet d'identifier visuellement le nombre de clusters qui explique le mieux la variance des données sans sur-ajuster le modèle (par exemple, à  $n =$  nombre de points total, la variance sera à zéro car chaque centroïde représentera un neurone, mais cela ne permettra pas de distinguer de sous-populations). Dans notre cas, le

nombre de centroïdes n optimal est de 3. Pour rendre l'algorithme déterministe, une méthode d'initialisation des centroïdes par la méthode du K-means++ est ensuite utilisée. Les centroïdes initiaux sont définis afin de recouvrir le maximum d'espace de données tout en étant les plus séparés possible. À la fin de cette analyse, nous obtenons un label ( $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ ) pour chaque neurone.

$$\text{Distance euclidienne}_{ab} : \sqrt{(x_a - x_b)^2 + (y_a - y_b)^2 + (z_a - z_b)^2}$$

avec  $(x_a, y_a, z_a) = \text{coordonnées du point } a$

$(x_b, y_b, z_b) = \text{coordonnées du point } b$

Les 3 sous-populations ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) sont ensuite caractérisées selon 3 nouveaux paramètres : leur taille (en % de neurones / nombre total de neurones), la proportion de neurones « burstant » et non « bustant » et la proportion de neurones appartenant au groupe « Sham » ou « Cuff ». Les paramètres électrophysiologiques (activité tonique, paramètres des burst, etc.) des sous-populations sont ensuite définis comme décrit précédemment.

#### 2.2.3.4. Sous-populations en fonction des paramètres électrophysiologiques : analyse par régression non linéaire

Les sous-populations obtenues par l'analyse précédente n'ayant pas permis d'identifier des sous-populations différentes entre les neurones DA enregistrés chez les animaux "Sham" et "Cuff", une autre analyse a été réalisée pour identifier la présence de deux populations sur la base d'un même paramètre électrophysiologique. Cette analyse est basée sur le principe que s'il n'y a qu'une seule population de neurones dans un échantillon, alors la distribution du paramètre étudié suivra une distribution normale  $N(\mu, \sigma)$ . Lorsque que deux populations de neurones sont présentes, la distribution du paramètre étudié suivra la somme de deux distributions normales  $N(\mu_1, \sigma_1)$  et  $N(\mu_2, \sigma_2)$ . Un deuxième principe sur lequel repose cette analyse est le fait que la probabilité cumulative d'une distribution normale est facilement modélisée par la formule suivante :

$$\text{CumProb}_{1pop}(x) = 0.5 * \left( 1 + \text{erf} \left( \frac{x - \mu}{\frac{\sigma}{\sqrt{2}}} \right) \right)$$

avec  $\mu = \text{moyenne de la distribution } N(\mu, \sigma)$

$\sigma = \text{écart - type de la distribution } N(\mu, \sigma)$

$\text{erf} = \text{fonction erreur}$

Si le paramètre étudié est composé de 2 populations neuronales, alors la probabilité cumulée de la distribution de la somme de deux distributions gaussiennes peut être modélisée par la fonction suivante :

$$CumProb_{2pop}(x) = 0.5 * \left( (P * Mod\grave{e}le_{pop1}(x)) + ((1 - P) * Mod\grave{e}le_{pop2}(x)) \right)$$

$$avec Mod\grave{e}le_{pop1} = 1 + erf\left(\frac{\frac{x - \mu_1}{\sigma_1}}{\sqrt{2}}\right) \& Mod\grave{e}le_{pop2} = 1 + erf\left(\frac{\frac{x - \mu_2}{\sigma_2}}{\sqrt{2}}\right)$$

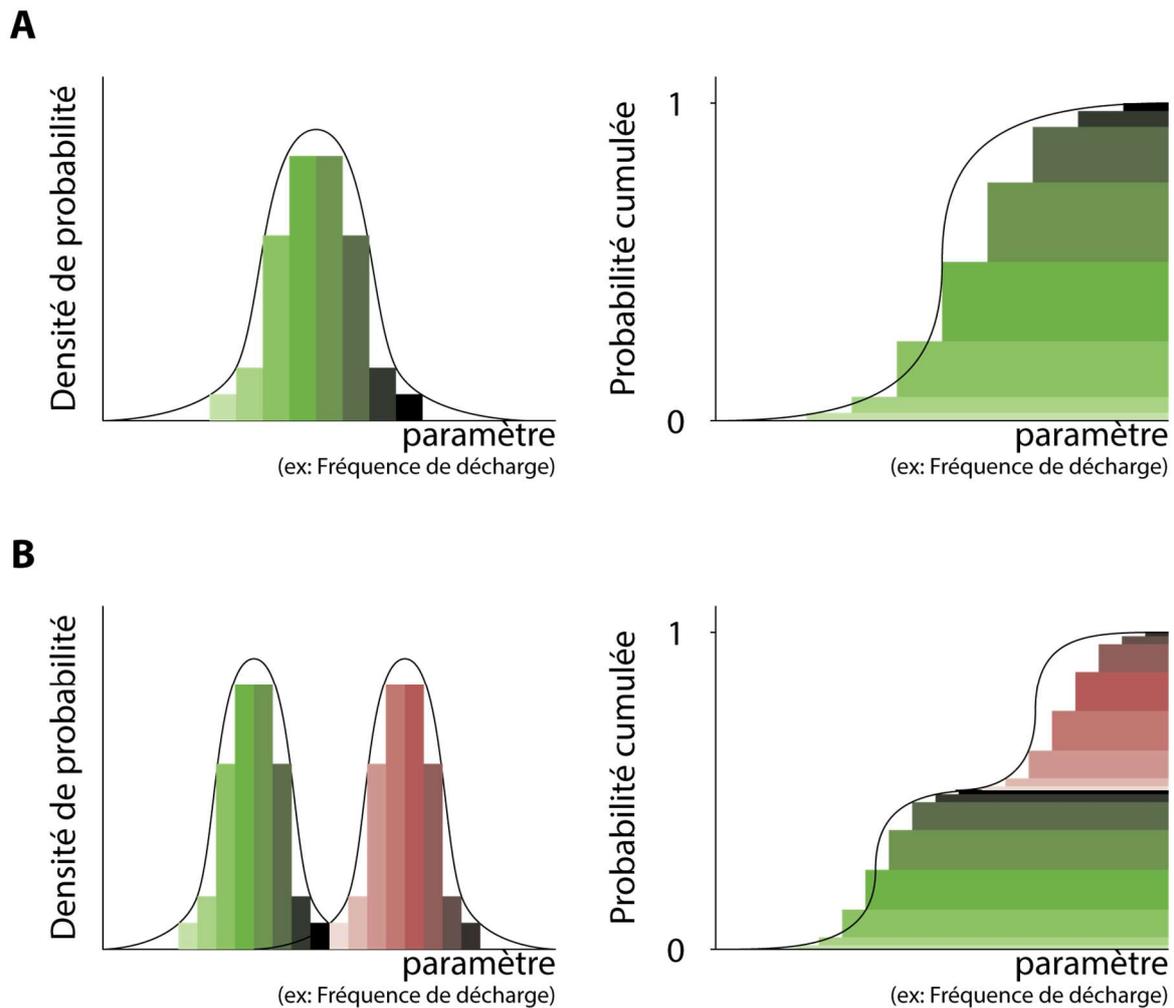
$P$  = Pourcentage de contribution du Mod\grave{e}le<sub>pop1</sub>

$\mu_1, \sigma_1$  = moyenne et \u00e9cart - type de la distribution  $N(\mu_1, \sigma_1)$

$\mu_2, \sigma_2$  = moyenne et \u00e9cart - type de la distribution  $N(\mu_2, \sigma_2)$

*erf* = fonction erreur

Sur la base de ces propri\u00e9t\u00e9s, pour un param\u00e8tre \u00e9lectrophysiologique donn\u00e9, nous calculons la valeur de probabilit\u00e9 cumul\u00e9e pour chacun des points. Pour chaque mod\u00e8le (mod\u00e8le \u00e0 une population et mod\u00e8le \u00e0 deux populations), la m\u00e9thode des moindres carr\u00e9s est utilis\u00e9e pour calculer les meilleures valeurs mod\u00e9lisant la probabilit\u00e9 cumul\u00e9e d'un param\u00e8tre (pour le mod\u00e8le \u00e0 1 population :  $\mu, \sigma$  ; et pour le mod\u00e8le \u00e0 2 populations :  $P, \mu_1, \sigma_1, \mu_2, \sigma_2$ ). Nous obtenons alors deux mod\u00e8les, le premier \u00e0 une population et le second \u00e0 deux populations, permettant de d\u00e9crire la distribution de chaque param\u00e8tre. Pour d\u00e9finir le meilleur mod\u00e8le, la somme des r\u00e9sidus aux carr\u00e9s (rSS) entre un mod\u00e8le et notre jeu de donn\u00e9es est calcul\u00e9, et un test de Fisher est effectu\u00e9 pour d\u00e9terminer si la diff\u00e9rence entre les rSS de nos mod\u00e8les \u00e0 1 ou 2 populations sont significativement diff\u00e9rentes. Comme cette m\u00e9thode est extr\u00eamement sensible, nous avons fix\u00e9 le seuil  $\alpha < 0,0001$ . Ainsi si le test est significatif, les deux rSS sont significativement diff\u00e9rents et nous s\u00e9lectionnons le mod\u00e8le ayant le rSS le plus faible comme mod\u00e8le d\u00e9crivant notre jeu de donn\u00e9es. Dans le cas contraire, le crit\u00e8re de parcimonie indique que le mod\u00e8le qui d\u00e9crit le mieux notre jeu de donn\u00e9es est le mod\u00e8le le plus simple, c'est-\u00e0-dire celui qui comporte le moins d'assomptions, et repr\u00e9sente alors forc\u00e9ment le mod\u00e8le \u00e0 une population. Pour r\u00e9sumer, \u00e0 la fin de cette analyse nous savons si un jeu de donn\u00e9es est mieux d\u00e9crit par une distribution normale ou par la somme de deux distributions normales.



**Figure 14. Recherche de sous-populations neuronales : analyse par régression non-linéaire.**

**A)** Un échantillon présentant une population unique suit une distribution normale  $N(\mu, \sigma)$  dont la densité de probabilité suit une fonction gaussienne. La transformation de cette densité de probabilité en une probabilité cumulée est représentée par une fonction d'erreur ( $\text{erf}(x)$ ). **B)** Un échantillon composé de deux populations suivra donc la somme de deux distributions normales différentes  $N1(\mu1, \sigma1)$  et  $N2(\mu2, \sigma2)$  dont la densité de probabilité suivra la somme des deux fonctions gaussiennes associées.

La transformation de cette somme gaussienne en une probabilité cumulative suivra alors la somme des fonctions d'erreur, chacune modélisant l'une des fonctions gaussiennes. L'avantage de transformer la densité de probabilité en une probabilité cumulée est de pouvoir estimer la distribution d'un échantillon (en utilisant une valeur continue), tout en évitant la perte d'informations associée à la production d'un histogramme (en utilisant une valeur discrète).

Cette méthode d'analyse a été utilisée séparément sur les neurones du groupe « Sham » et du groupe « Cuff » pour identifier si ces groupes suivaient indépendamment un modèle à une population ou à deux populations pour chaque paramètre. Pour ne pas définir des paramètres biologiquement aberrants, plusieurs contraintes ont été fixées. Les moyennes doivent être supérieures à zéro, afin d'éviter que le modèle ne soit sur-ajusté en créant par exemple une population de neurones ayant une fréquence de décharge ou une durée des burst négative. La contribution relative des populations, dans le modèle à deux populations, doit être comprise entre 10% et 90%, afin d'éviter qu'une population représente 1 neurone sur 1000 et que l'autre décrive les 99,9% de neurones restants. Pour les paramètres qui présentent une distribution sur une échelle logarithmique (le CV, le CV2, et l'écart-type des ISI (SD ISI)) afin de réaliser l'analyse sans changer radicalement le modèle de population, une transformation par le calcul du logarithme du paramètre est effectuée ( $\text{Log}(CV_{\text{totale}})$ ,  $\text{Log}(CV2_{\text{totale}})$ ,  $\text{Log}(SD\text{ ISI}_{\text{totale}})$ ,  $\text{Log}(CV_{\text{réelle}})$ ,  $\text{Log}(CV2_{\text{réelle}})$ ,  $\text{Log}(SD\text{ ISI}_{\text{réelle}})$ ) avant de réaliser la détection de populations. Le résumé de cette analyse décrivant les paramètres possédant 1 ou 2 populations est disponible dans la **Table.1** de la section résultats.

À partir de ces résultats, les paramètres décrits par 2 populations sont les suivants : l'activité totale, l'activité tonique réelle,  $\text{Log}(CV_{\text{totale}})$ ,  $\text{Log}(CV2_{\text{totale}})$ ,  $\text{Log}(SD\text{ ISI}_{\text{totale}})$ ,  $\text{Log}(CV_{\text{réelle}})$ , et  $\text{Log}(SD\text{ ISI}_{\text{réelle}})$ , la moyenne des ISI totaux et la moyenne des ISI réels. Seul le  $\text{Log}(CV2_{\text{réelle}})$  va présenter 2 populations dans un groupe (« Cuff ») et une seule dans l'autre (« Sham »). De plus, la moyenne des ISI (qu'ils soient réels ou totaux) n'a pas été analysable de façon concluante par cette méthode, les modèles présentant des formes aberrantes par rapport aux données, ce qui ne fut pas résolu par l'application de différentes contraintes. Nous avons donc dû exclure ces paramètres du reste de l'analyse.

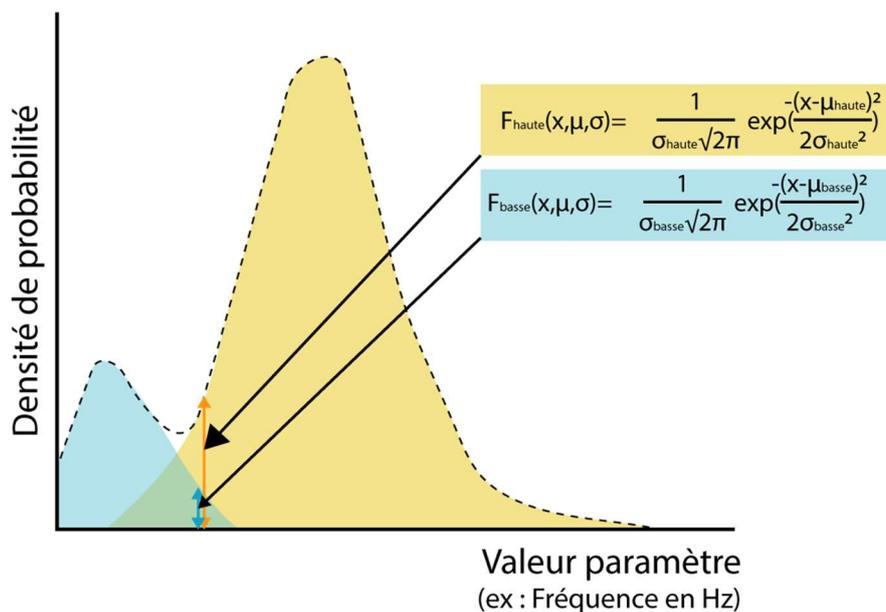
Nous savons ainsi que de nombreux paramètres des neurones dans les groupes « Sham » et « Cuff » présentent plusieurs populations significativement différentes (2 pour chaque groupe). Pour chacun de ces paramètres, nous avons alors défini 4 populations en fonction de la valeur faible ou élevée ( $Basse_{\text{Sham}}$ ,  $Haute_{\text{Sham}}$ ,  $Basse_{\text{Cuff}}$ ,  $Haute_{\text{Cuff}}$ ).

L'objectif a ensuite été de déterminer si les populations de neurones avec des valeurs basses pour un paramètre l'étaient aussi pour d'autres paramètres (par exemple : les neurones de la population avec une activité tonique élevée sont-ils ceux appartenant à la population avec un CV2 élevé, etc.). Pour cela, la chance d'appartenance à la population basse ( $C_{\text{pop basse}}$ ) pour chaque neurone a été calculée pour chaque paramètre. Cette donnée est le rapport entre la valeur de la distribution en population basse pour un neurone divisée par la somme de la valeur de la distribution en populations basse et haute. Les paramètres des modèles de populations de l'étape précédente sont utilisés et la formule suivante est implémentée :

$$C_{pop\ basse}(x) = \frac{f(x, \mu_{basse}, \sigma_{basse})}{f(x, \mu_{basse}, \sigma_{basse}) + f(x, \mu_{haute}, \sigma_{haute})}$$

$$avec\ f(x, \mu, \sigma) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(x - \mu)^2}{2\sigma^2}\right)$$

Nous obtenons ainsi pour chaque neurone une valeur entre 0 et 1 qui va indiquer la chance qu'un neurone appartienne à la population haute ou basse (1 = le neurone a 100% de chance d'être dans la population basse, et 0 = le neurone a 100% de chance d'appartenir à la population haute). Une PCA à 3 dimensions a ensuite été réalisée (procédure identique à la PCA sur les paramètres d'électrophysiologie décrite plus haut) en utilisant les chances d'appartenir à la Population<sub>basse</sub> pour l'activité totale, l'activité tonique réelle, Log(CV<sub>total</sub>), Log(CV2<sub>total</sub>), Log(SD ISI<sub>total</sub>), Log(CV<sub>réel</sub>), Log(CV2<sub>réel</sub>) et Log(SD ISI<sub>réel</sub>). Comme pour la première analyse par PCA, un K-mean est ensuite réalisé pour identifier les sous-populations de neurones. Les mêmes paramètres d'initialisation sont utilisés, sauf pour le nombre de centroïdes qui est ici de 4. Nous obtenons donc un label (A, B, C ou D) pour chaque neurone. La même caractérisation des sous-populations de neurones identifiés par l'algorithme de K-mean est enfin réalisée.



**Figure 15. Illustration du calcul de la valeur de la chance d'appartenir à la population basse.** En utilisant les paramètres calculés par les modèles à deux populations, nous calculons pour chaque neurone la valeur de la densité de probabilité correspondante pour les distributions de populations basse et haute. Pour cela, nous utilisons une fonction gaussienne pour les populations haute et basse. La chance d'appartenir à la population basse correspond alors à la densité de probabilité obtenue pour la population basse au point correspondant à ce neurone, divisée par la somme des valeurs obtenues pour les distributions haute et basse.

### 3. Méthodes relatives à l'expérience 2 : Evaluation des concentrations de dopamine dans la VTA et le NAc.

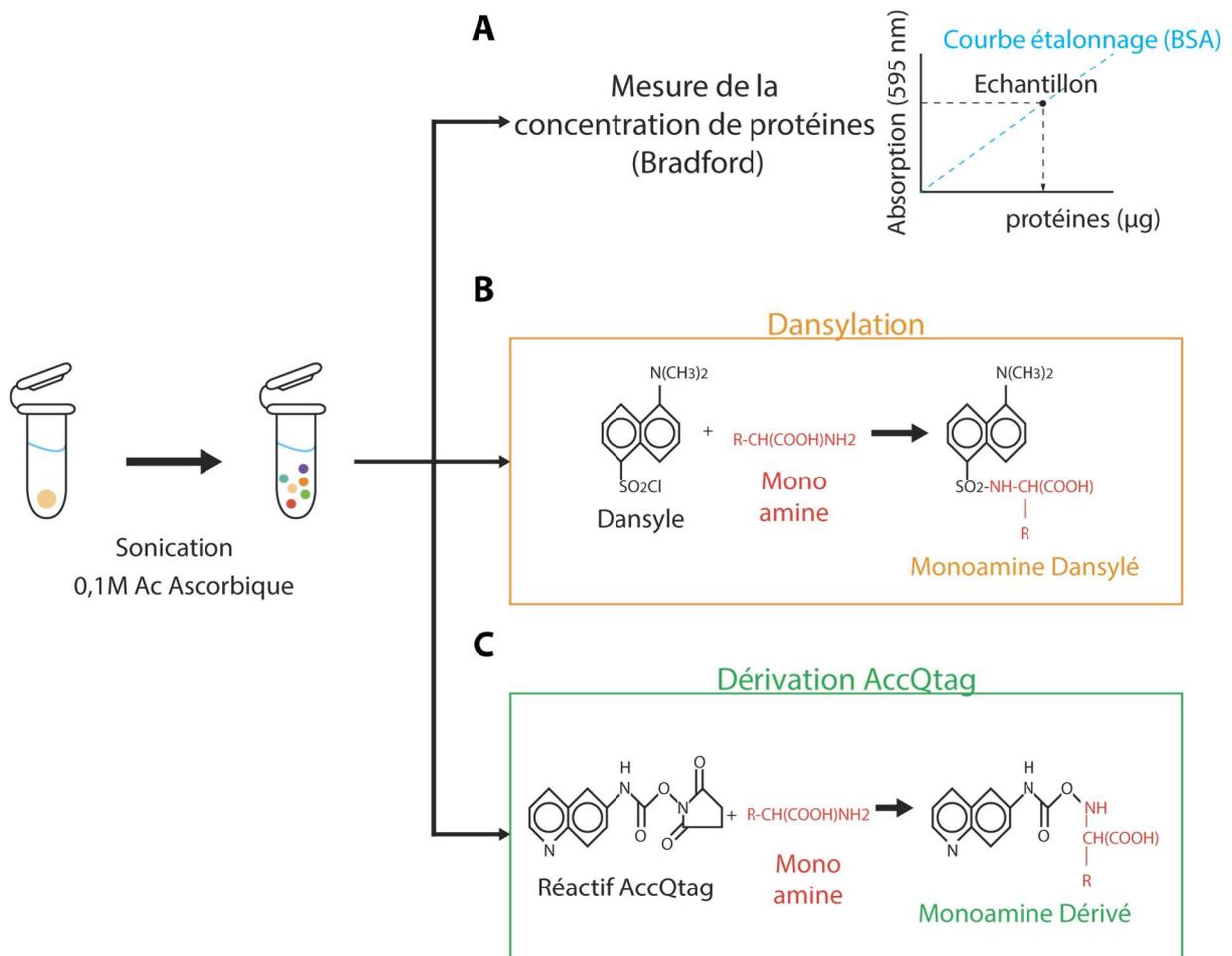
#### 3.1. Préparation et extraction des échantillons

Huit semaines après la chirurgie du cuff, les animaux sont mis à mort par décapitation. Les cerveaux sont alors collectés sur glace. À l'aide d'une matrice (EM-69022, Electron Microscopy Sciences Rodent Brain Matrix Mouse, 30g, Coronal) nous réalisons des sections de 1 mm sur lesquelles des punches (500 µm, bilatéral) de la VTA et du NAc sont immédiatement réalisés et stockés dans des tubes Eppendorf stériles placés dans la carboglace. Les échantillons sont ensuite conservés à -80°C.

Au moment de l'analyse, les échantillons sont décongelés, soniqués (5 sec On/5 sec Off, 100 W 10 sec), puis pour chaque échantillon 100 µL d'acide ascorbique est ajouté (acide oxo-3-gulofuranolactone, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>) afin d'éviter l'oxydation des amines pendant l'extraction. Les échantillons sont centrifugés (30 min, 10 000 rpm, Eppendorf modèle 5810R) et le surnageant est récupéré et séparé en 3 lots. Le premier lot servira au dosage des protéines, par la méthode de Bradford. Afin d'augmenter la sensibilité de la méthode de détection, nous utilisons une technique de dérivation différente pour chacun des deux lots restants avant de réaliser le dosage par spectrométrie de masse : la dansylation (permettant d'identifier la dopamine, l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC), et l'acide homovanillique (HVA)) et l'ACCQ-Tag (permettant d'identifier la dopamine). Pour réaliser une quantification absolue des neurotransmetteurs, nous utilisons une technique de dilution isotopique en ajoutant des standards internes (ISTD) à nos échantillons.

#### 3.2. Dosage des protéines par la méthode de Bradford

Pour étalonner nos mesures, nous réalisons une gamme de 9 échantillons (volume final : 1 mL, concentration finale = 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15, 20 mg/mL de solution d'albumine de sérum bovin) comprenant un volume croissant de solution d'albumine de sérum bovin (solution mère à 25 µg/mL), 200 µL de réactifs de test protéique (Bio-rad Protein Assay dye - ref 5000006) et complété par de l'eau distillée. Pour chaque échantillon, nous mélangeons 1 µL de celui-ci à 800 µL d'eau Milli-Q® et 200 µL de réactif de test protéique (Bio-Rad) en triplicata. Après agitation nous mesurons ensuite la densité optique (DO) à 600 nm à l'aide d'un spectromètre (Thermo Scientific Multiscan FC).



**Figure 16. Traitements des échantillons avant dosage par spectrométrie de masse.**

Après sonication dans l'acide ascorbique (0,1 M), les échantillons sont séparés en 3 lots. **A)** Le premier lot d'échantillons est utilisé pour mesurer la concentration de protéines à l'aide de la méthode de Bradford. Cette méthode compare la densité optique d'un échantillon à celle d'une gamme standardisée d'albumine de sérum bovin (BSA) pour déterminer la concentration de l'échantillon. Cela permet de normaliser les concentrations mesurées de neurotransmetteur en fonction de la quantité de tissus prélevée. **B)** Le deuxième lot subit une étape de dansylation avant la mesure de la concentration des neurotransmetteurs. Cette étape va ajouter un groupement dansyle aux acides aminés des protéines et ainsi augmenter la sensibilité de la détection. **C)** Le troisième lot subit une étape de dérivation par AccQTag. Cette méthode ajoute un groupement spécifique aux acides aminés des protéines afin d'augmenter aussi la sensibilité de la détection. Les lots d'échantillons B et C sont ensuite quantifiés par spectrométrie de masse.

### 3.3. Dérivation par la méthode de Dansylation

Pour chaque échantillon, nous mélangeons 15 µL de surnageant à 5 µL de contrôle interne deutéré (ISTD ; D4-Dopamine, C135-02 Dopa, HVA 13CD3-D3 à 1 µM), 40 µL de bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub>) et 40 µL de chlorure de dansyle (chlorure de 5-naphtalène-1-sulfonyl, 0,85 mg/mL d'acétone). L'échantillon est alors placé à 60°C et à l'abri de la lumière pendant 10 min. L'échantillon est ensuite vortexé puis mis sur glace pendant 5 min. On ajoute ensuite 400 µL d'acétonitrile (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N) à 98,8% avec 0,2% d'acide formique (CH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Après centrifugation de l'échantillon (20 000 rpm, 30 min, 4°C), on récupère et sèche le surnageant. Pour finir, on ajoute 20 µL d'une solution composée de 10 mM d'ammonium et de 0,2% d'acide formique dans du méthanol à 50%. Comme contrôle, nous utilisons 3 solutions témoins : a) le témoin sans molécule ISTD (15 µL, de surnageant, 5 µL d'acide ascorbique à 0,1 M, 40 µL de bicarbonate de sodium et 40 µL de dansyl), b) le témoin BBB, correspondant au standard sans échantillon (15 µL d'acide ascorbique, 5 µL d'ISTD, 40 µL de bicarbonate de sodium, 40 µL de dansyl) et c) le témoin tampon de réaction (20 µL d'acide ascorbique, 40 µL de bicarbonate de sodium et 40 µL de dansyl).

### 3.4. Dérivation par la méthode ACCq-Tag

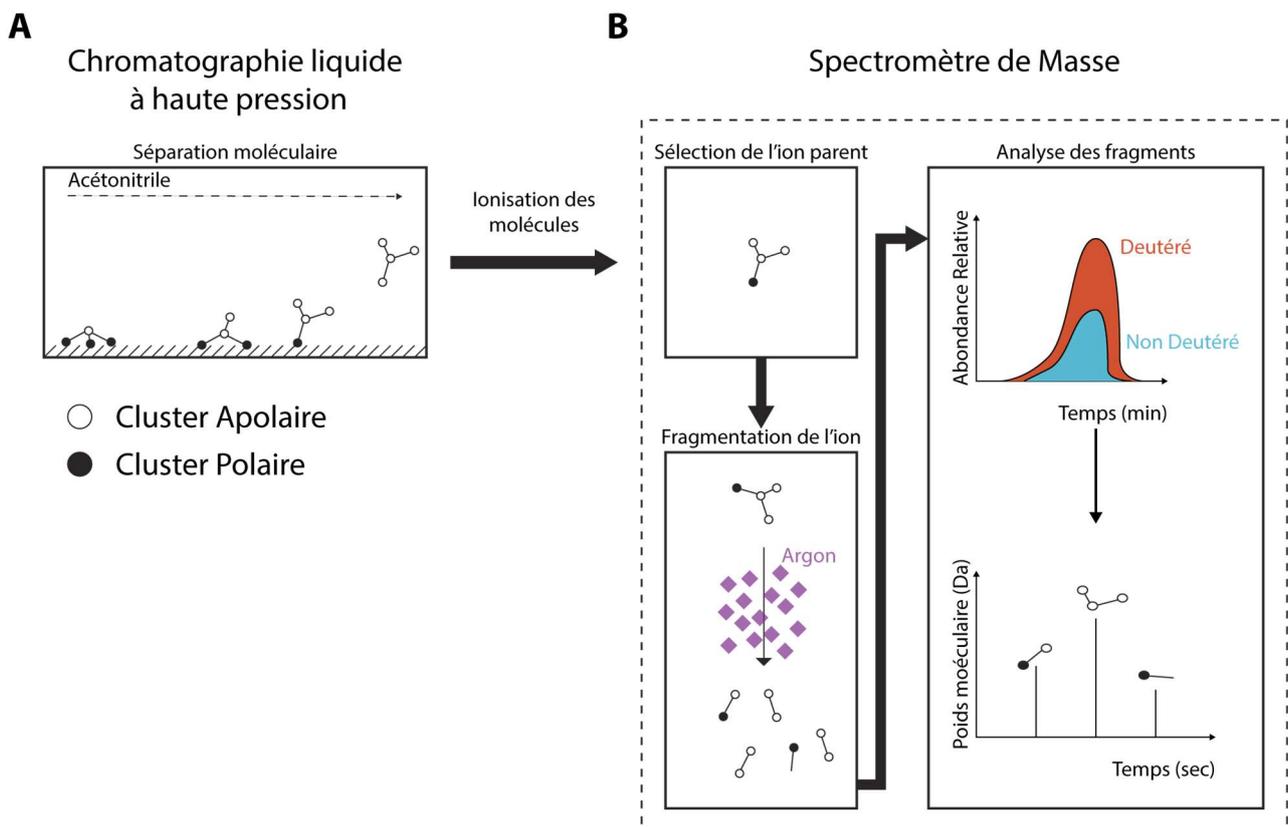
Pour cette procédure nous utilisons le kit Waters, AccQ-Tag Ultra Derivatization Kit (ref 186003836). Pour chaque échantillon, 10 µL ont été mélangés avec 30 µL de tampon borate et 10 µL d'étalons internes (80 pmol de D4-dopamine, 80 pmol de D4-sérotonine, 80 pmol de D6-noradrénaline, 100 pmol de D6-GABA et 360 pmol de D5-glutamate ; Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France). Ensuite, 10 µL de réactif AccQtag Ultra ont été ajoutés et le mélange a été incubé pendant 10 min à 55°C sous agitation (500 rpm). Après l'incubation, 200 µL d'acétonitrile 100% ont été ajoutés, les échantillons ont été agités, centrifugés (20 000 g, 4°C, 5 min) et séchés sous vide. Les échantillons ont été remis en suspension dans 20 µL de H<sub>2</sub>O/0,1% d'acide formique (v/v) et 5 µL ont été analysés par chromatographie liquide-spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

### 3.5. Analyse des échantillons par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide haute pression(HPLC)

Les analyses ont été réalisées avec un système Dionex Ultimate 3000 HPLC (Thermo Electron, Villebon-Sur-Yvette, France) couplé à un spectromètre de masse Endura triple quadripôle (Thermo Electron). Le logiciel Xcalibur v4.0 (RRID : SCR\_014593 ; Thermo Electron) a été utilisé pour contrôler le système. Les échantillons ont été chargés sur une colonne ZORBAX SB-C18 (150 x 1 mm, 3,5 µm, débit de 90 µL/min ; Agilent, Les Ulis, France) chauffée à 40°C. Les conditions LC et MS/MS utilisées sont détaillées dans les tableaux ci-dessous (**Table.1 A et B**).

L'identification des composés a été basée sur les ions précurseurs, les ions fragments sélectifs et les temps de rétention obtenus pour la contrepartie lourde présente dans l'ISTD. La sélection des transitions contrôlées et l'optimisation de l'énergie de collision et des paramètres de la lentille à radio

fréquence (RF) ont été déterminées manuellement (pour plus de détails, voir la **Table.1 C**). La qualification et la quantification ont été effectuées en utilisant le mode de surveillance des réactions multiples (MRM) selon la méthode de dilution isotopique.



**Figure 17. Schéma du système de spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide haute pression.**

**A)** Après dansylation ou dérivation, les échantillons sont placés dans une colonne de chromatographie liquide haute pression. Un flux d'acétonitrile va entraîner les molécules présentes dans l'échantillon en fonction de leur polarité, les clusters polaires étant retenus par la colonne ZORBAX. **B)** À la sortie de la colonne de chromatographie, les molécules sont ionisées par électro-nébulisation puis sont sélectionnées par le spectromètre de masse. L'ion sélectionné est ensuite fragmenté par électro-nébulisation d'argon. Les fragments de neurotransmetteur obtenus sont ensuite analysés au travers de l'abondance relative avec un neurotransmetteur deutéré ainsi que par leur temps de rétention et poids moléculaire.

**A**

	Phase Mobile		
	Acétonitrile	H2O	Acide Formique
Phase Mobile A	1%	98,9%	0,1%
Phase Mobile B	99,9%	0	0,1%

Gradient HPLC							
Temps (min)	0	2,5	9	11	12	12,5	18
% de la phase mobile B	0	0	20	98	98	0	0

**B**

Paramètres de Spectrométrie de Masse	
Mode	Positif
Voltage	3500V
Gaz de Nebulisation	Nitrogène
Gaz de la gaine de désolvatation (azote)	18Arb
Gaz Auxiliaire	7Arb
T° tube de transfère des ions	297°C
T° de vaporisation	131°C
Résolution Q1 et Q3	0,7 FWHM
Pression du gaz de collision (CID, argon)	2 mTorr

**C**

Paramètres de Spectrométrie de Masse						
Composé	Polarité	Précurseur (m/z)	Produit (m/z)	Type d'ion produit	Energie de collision (V)	RF Lens (V)
Dopamine	Positive	324,14	116,11	Quantification	54,24	206
Dopamine	Positive	324,14	145,11	Qualification	33,36	206
Dopamine	Positive	324,14	171,06	Qualification	23,90	206
D4-Dopamine	Positive	328,14	122,11	Quantification	35,00	206

**Table 1. Tableau des paramètres de spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide haute pression.**

## 4. Méthodes relatives à l'expérience 3 : Evaluation de la dynamique de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations de la VTA.

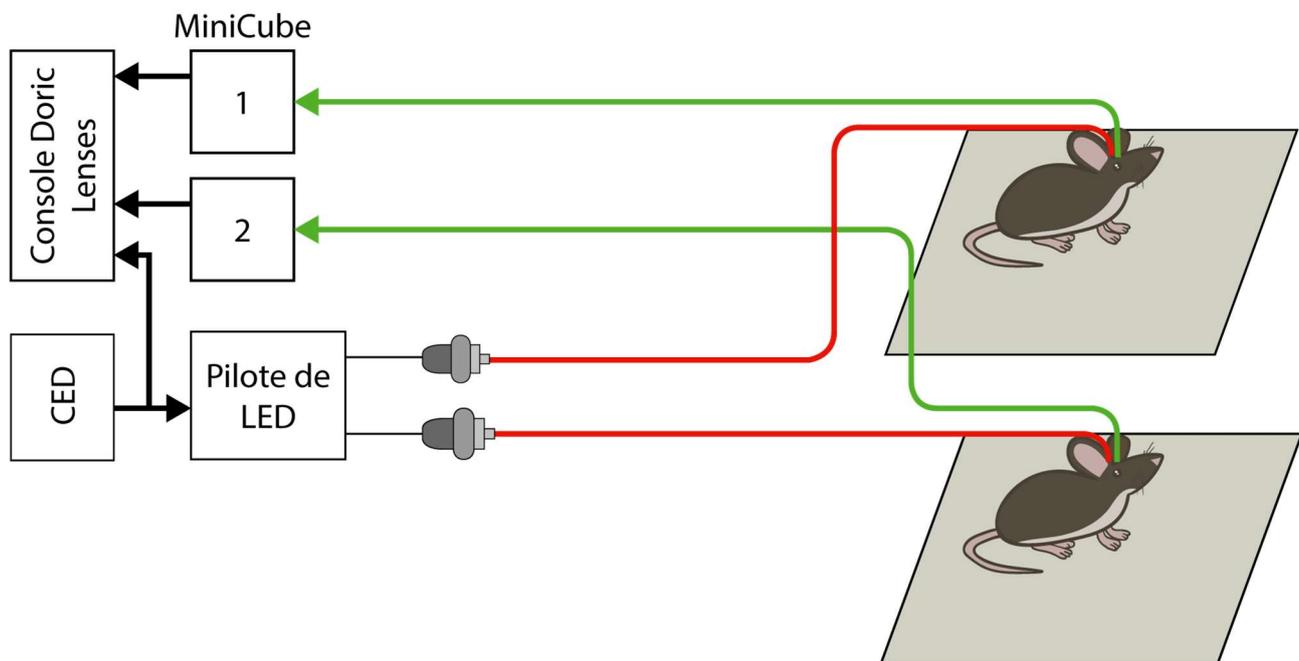
### 4.1. Enregistrement par photométrie de fibre de la dynamique de libération de DA dans le NAc chez l'animal éveillé

Nous réalisons des enregistrements de la dynamique de libération de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations optogénétiques des neurones DA de la VTA chez la souris éveillée.

Une channelrhodopsine décalée vers le rouge a été sélectivement exprimée dans les neurones DA de la VTA (voir chirurgie stéréotaxique), et pour la stimuler nous utilisons une source LED rouge (625 nm, LEDFRJ\_625, Doric Lenses ; Puissance max : 14 mW) connectée à un pilote de LED contrôlable par des signaux externes. À l'aide d'un CED (CED 1401 ; Spike2 ; Cambridge Electronic Design) et du séquenceur de signaux TTL du logiciel Spike2, nous réalisons plusieurs protocoles de stimulation optogénétique de la VTA. Dans un premier temps, nous utilisons des protocoles de stimulation tonique dite « pacemaker ». Ces stimulations consistent en 100 pulses de lumière de 5 ms à différentes fréquences (1 ; 2,5 ; 5 ; 7,5 ; 10 ; 12,5 et 15 Hz). Dans un second temps, nous utilisons des protocoles de stimulations phasiques dites « en burst ». Ces stimulations consistent en 10 trains de 10 pulses de lumière de 5 ms à différentes fréquences (10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 et 60 Hz), les 10 trains de pulses étant séparés de 20 secondes chacun.

L'enregistrement des variations de la libération de DA dans le NAc est réalisé grâce à un système de photométrie de fibre Doric Lenses, permettant de mesurer de la fluorescence émise par le capteur de la dopamine DLight. Deux longueurs d'excitation de 465 nm (signal dépendant du DLight) et de 405 nm (point isobestique) sont émises par des LEDs (465 nm : LEDC1-B\_FC, 405 nm : LEDC1-405\_FC ; Doric Lenses) contrôlées par une console programmable de LED bi-canal (LEDD\_4, Doric Lenses). Les faisceaux lumineux sont canalisés dans une fibre optique multimode de 400  $\mu\text{m}$  pré-photoblanche (MFP\_400-430/1100 ; ouverture numérique : 0,57, longueur : 1,2 m) à l'aide d'un Mini cube (FMC2, Doric Lenses). L'intensité de la lumière à la pointe de la fibre a été maintenue entre 10 et 30  $\mu\text{W}$  pour toutes les sessions. La fluorescence du DLight et celle du point isobestique sont mesurées (12 kHz) via la même fibre optique, en utilisant un photorécepteur (DFD\_FOA\_FC, Doric Lenses) à l'aide du logiciel Doric Neuroscience Studio (v :6.1.1.1, Doric Lenses). La console de photométrie reçoit aussi en parallèle un signal TTL permettant d'enregistrer les différents stimulus en temps réel.

Les stimulations sont réparties sur 2 jours consécutifs, les stimulations toniques étant réalisées le premier jour et les stimulations phasiques le second. Les stimulations ont lieu une première fois une semaine avant la chirurgie du Cuff, puis toutes les 2 semaines jusqu'à la semaine 10 post-chirurgie. Les expériences sont réalisées avec des câbles (MFP\_400/430, NA : 0,57, Ø : 400 µm, Longueur : 1,2 m, Doric Lenses) connectés aux canules placées sur la tête des animaux et les animaux sont habitués aux câbles lors de 2 séances de 20 min (1 séance par jour) avant la première séance enregistrement. L'habituation et les enregistrements sont réalisés dans un champ ouvert transparent (longueur 61,2 cm ; largeur 43,5 cm; hauteur 21,6 cm) donc le sol est recouvert de sciure (2 cm). Les séances de stimulation durent environ 20 min / jour.



**Figure 18. Schéma de l'enregistrement des réponses aux stimulations optogénétiques de la VTA.**

Au moins 3 semaines avant les premiers enregistrements, des AAV codant pour une ChR Cre-dépendante dans la VTA et pour le DLight dans le NAc sont injectés. Pendant les enregistrements en photométrie, les souris sont connectées au dispositif via deux fibres optiques respectivement reliées à la canule de la VTA et du NAc. La canule dans la VTA est connectée à une LED rouge (625 nm) pour les stimulations optogénétiques. Cette LED est contrôlée par TTL via un convertisseur analogique/numérique (CED). Le CED envoie également un signal TTL à la console de contrôle des minicubes (Console Doric Lenses) pour synchroniser les stimulations et les enregistrements photométriques. Les minicubes sont des LED contrôlées par la console de photométrie, associées à un photorécepteur pour enregistrer la fluorescence du biosenseur. Ce système permet d'enregistrer deux souris en parallèle (une par minicube).

Après la dernière séance d'enregistrement (12<sup>ème</sup> semaine), les animaux sont anesthésiés profondément à l'aide d'un mélange de kétamine (Kétamine 1000®, Virbac, 100 mg/kg) et de xylazine (Paxman®, Virbac, 20 mg/kg). Nous réalisons alors une perfusion intracardiaque de PFA 4% (paraformaldéhyde) dans un tampon phosphate (PB, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,016 M + Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,065 M,

concentration finale : 0,1 M, pH : 7,2) pendant 15 min afin de fixer les tissus. Nous collectons le cerveau et le plaçons pendant 24 heures dans du PFA 4% puis dans du tampon phosphate-saline (PBS, PBS X10 Euromedex, 10% dans eau distillé, pH : 7,0). Nous réalisons alors des coupes de 40 µm de la VTA et du NAc au vibratome (Leica, VT 1000s).

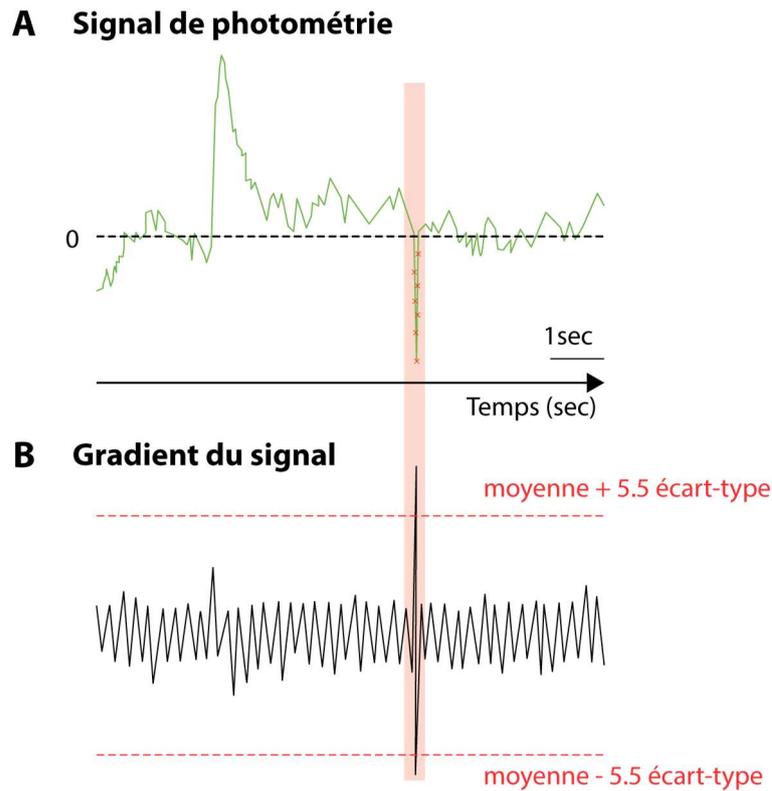
Pour observer la fluorescence du biosenseur DLight, nous réalisons une immunohistochimie contre la green-fluorescent-protein (GFP) de ce biosenseur. Pour cela, nous réalisons 3 rinçages des coupes (5 min) au PBS, puis une saturation des sites aspécifiques par l'application d'un mélange composé de 5% de sérum de chèvre (GS) et de PBS associé à 0,1% de Triton (Triton™ X-100, Sigma®) (PBS-T). Nous incubons ensuite avec un anticorps primaire monoclonal de rat anti-GFP (1/1500, Anti-GFP rat, IgG2, GF090R, Nacalai Tesque Inc) pendant 12 heures dans un mélange 1% GS et de PBS-T sous agitation légère. Après 3 rinçages au PBS (5 min / rinçage), nous incubons avec l'anticorps secondaire couplé à un chromophore photo-excitable (1/500, Goat anti-Rat IgG, Invitrogen, FITC488) pendant 3 heures dans un mélange 1% GS et de PBS-T sous agitation légère. Nous réalisons ensuite 3 rinçages au PBS (5 min) et appliquons un mélange de DAPI (1/100<sup>e</sup>, DAPI MBD0015, Roche®) dans du PBS. Les coupes sont enfin montées sur lame adhésive (Epredia™, SuperFrost Plus™) avant de les protéger par une lamelle associée à du Fluoromount-G™.

Afin de confirmer la bonne localisation des injections virales et des canules, des photographies sont réalisées grâce à un scanneur de lame automatisé (NanoZoomer® S60 Digital slide scanner C13210-01, Hamamatsu, objectif X20). Nous imageons la fluorescence à 580 nm afin d'observer la eGFP (excitation : 480 nm) fusionnée au DLight dans le NAc. Pour observer la fluorescence de la Chrimson, couplée à une tdTomato, nous imageons à 581 nm (excitation : 554 nm) dans la VTA.

#### 4.2. Méthodes d'analyses

Une fois les enregistrements en photométrie de fibre effectués grâce au logiciel Doric Neuroscience Studio, les signaux obtenus sont traités et analysés à l'aide du langage de programmation Python. Chaque enregistrement présente un type de stimulations, tonique ou phasique, pour une fréquence spécifique.

Pour chaque enregistrement, l'analyse débute par la vérification que les photomètres ne sont pas saturés et par la détection d'éventuels artéfacts à l'aide d'un algorithme de gradient du signal (**Fig.19**). Le gradient mathématique d'un signal correspond à la dérivée de ce signal par rapport à la variable indépendante représentant la variation instantanée du signal en fonction de cette variable, dans notre cas le temps. Si en un point donné, la valeur du gradient dépasse de 5,5 fois l'écart-type du gradient, nous considérons cette partie du signal comme un artéfact et l'éliminons de nos analyses. Cette valeur a été définie arbitrairement par observation visuelle des signaux.



**Figure 19. Illustration de la détection d'artéfacts par le gradient du signal.**

**A)** Exemple d'un signal photométrique présentant un artéfact.

**B)** Gradient du signal observé en A. On peut voir que seul l'artéfact (portion en rouge) entraîne une variation importante du gradient.

À partir du signal mesuré et du point isobestique, nous calculons le signal  $\Delta F/F$  qui permet de corriger l'effet du photoblanchiment du signal au cours du temps. Cette permet aussi de limiter les artéfacts de signal provoqués par les mouvements de l'animal. Ce signal  $\Delta F/F$  est défini par la formule suivante :

$$\frac{\Delta F}{F} = \frac{y_i - y_i}{x_i}$$

avec:  $y_i \in$  Signal photométrique mesuré

$x_i \in$  Signal isobestique mesuré

$$y_i = \bar{\alpha} x_i - \bar{b}$$

$$(\bar{\alpha}, \bar{b}) = \underset{(\alpha, \beta)}{\operatorname{argmin}} \sum_i (y_i - \beta x_i - \alpha)^2$$

= régression linéaire par la méthode des moindres carrés

À partir de ce signal  $\Delta F/F$ , nous analysons de façon indépendante chaque essai comme suit.

Pour les stimulations toniques, un essai correspond à un train 100 pulses de lumière de 5 ms réalisés à des fréquences de 1, 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 ou 15 Hz. Un essai par fréquence est réalisé par animal, et nous analysons le signal entre 5 sec avant le début et 30 sec après chaque essai.

Pour les stimulations phasiques, un essai correspond à un train de 10 pulses de lumières de 5 ms réalisés à des fréquences de 10, 20, 30, 40, 50 ou 60 Hz. 10 essais séparés de 30 secondes sont réalisés par animal, et nous analysons le signal entre 5 secondes avant et 20 secondes après chaque essai.

Les signaux  $\Delta F/F$  étant dépendants de variations interindividuelles liées à l'expression du DLight et à la position anatomique des canules, ils ne sont pas directement comparables entre les animaux. Pour remédier à ce problème, les signaux sont normalisés pour chaque essai en utilisant les 5 secondes précédant la première impulsion lumineuse. Des valeurs de Z-Score sont ainsi obtenues, représentant la magnitude de la dynamique de libération de DA en réponse aux stimulations de la VTA.

$$ZScore_{x_i} = \frac{df_i - \gamma}{\varphi}$$

$$\text{avec } df_i = \frac{\Delta f}{f}(x_i); \gamma = \frac{1}{n} \sum_{i \in [k,l]} df_i; \varphi = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i \in [k,l]} (df_i - \gamma)^2}; n = \text{Card}([k, l]);$$

$k = \text{temps début ZScore} (-5 \text{ sec ici}), \text{ et } l = \text{temps fin Zscore} (0 \text{ sec ici})$

Pour les stimulations toniques, nous mesurons l'aire sous la courbe (AUC) pendant l'ensemble de la période de stimulations.

Pour les stimulations phasiques, les réponses obtenues sont des pics transitoires du signal. Nous avons réalisé 10 essais par animal (10 trains de 10 pulses de lumière), mais les essais sont analysés de façon indépendante. Le but de l'analyse est de définir, pour chaque essai, si le pic obtenu est suffisamment différent des variations naturelles du signal pour être qualifié de « réponse ».

L'analyse commence par la modélisation de la courbe de réponse pour chaque essai. Un sous-échantillonnage (1 point sur 550 contre plus de 300 000 points avant sous-échantillonnage) permet de réduire le temps de calcul du modèle sans perdre d'information. Nous utilisons ensuite un algorithme de Savitsky-Golay (fenêtre du filtre : 12% des points, polynôme : 6). Cette méthode de lissage permet de réduire le bruit tout en conservant les tendances et caractéristiques importantes du signal. Nous mesurons alors la moyenne ( $\mu$ ) et l'écart-type ( $\sigma$ ) de l'amplitude du ZScore sur les 5 secondes précédant le début des stimulations optogénétiques pour définir un seuil de réponse correspondant à une variation de  $\mu+2\sigma$ .

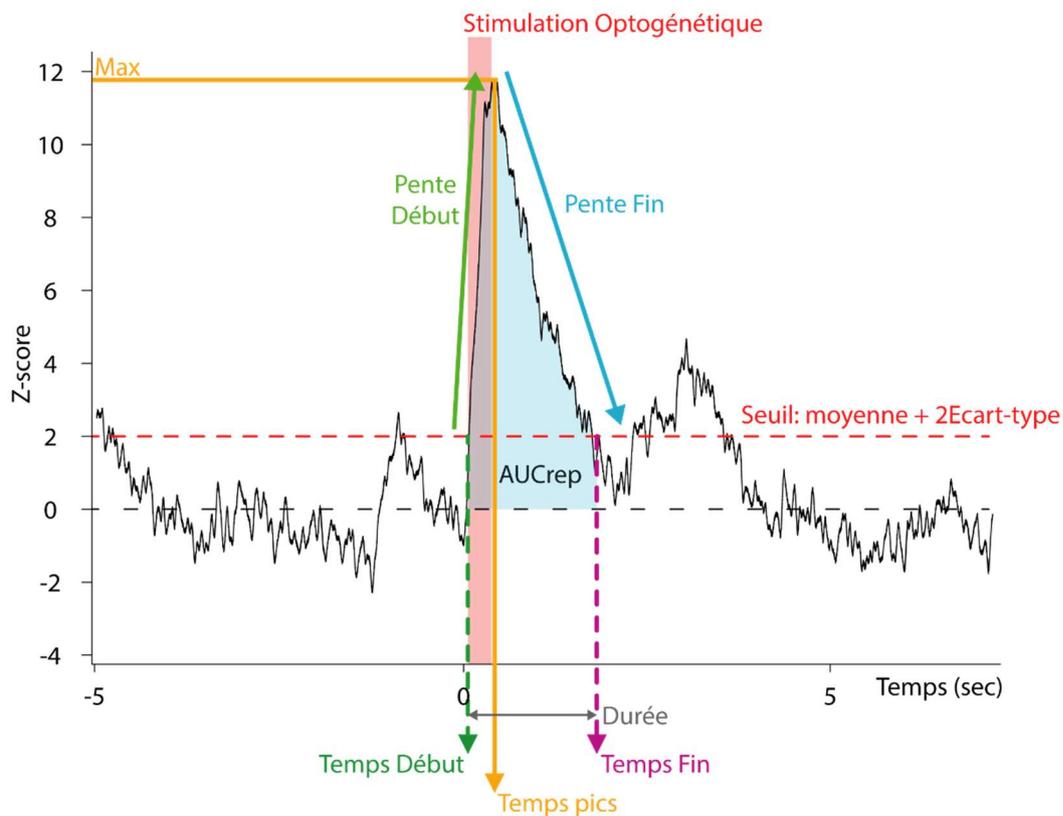
Si lors de l'essai, aucun point du signal lissé ne dépasse ce seuil après le début de la stimulation, l'essai est considéré comme un échec.

Si le signal lissé dépasse le seuil, nous détectons le premier point après la stimulation au-dessus de ce seuil, puis le premier point où il repasse en dessous. Nous reportons ensuite ces points sur le signal non lissé et sélectionnons comme début et fin de la réponse les points du signal non lissé à la plus petite distance euclidienne du signal lissé. Le temps écoulé entre ces deux points correspond à la durée de la réponse.

En observant la distribution des durées de réponse et les signaux bruts, nous avons pu déterminer que si la durée de la réponse était inférieure à 350 ms, le pic observé n'était pas dû à la stimulation optogénétique mais à des variations naturelles du signal. Par conséquent, seuls les essais dont le temps de réponse est supérieur à 350 ms sont considérés comme répondant. Plusieurs paramètres de ces réponses sont ensuite analysés (**Fig.20**) : le temps de début et de fin de la réponse ainsi que la durée de la réponse, la valeur du pic maximum obtenu pour la réponse (Maximum en Z-Score) ainsi que le temps nécessaire pour atteindre ce maximum (Temps Maximum, en sec), la cinétique de la réponse caractérisée par 4 pentes : celle de la courbe entre le début de la stimulation et le début de la réponse ( $Pente_{0-Rep}$ ), celle entre le début de la réponse et le maximum du pic ( $Pente_{Rep-Max}$ ), celle entre le début de la stimulation et le maximum du pic ( $Pente_{0-Max}$ ) et celle entre le maximum du pic et la fin de la réponse ( $Pente_{Max-Fin}$ ). Pour estimer la quantité relative de dopamine libérée en réponse à la stimulation de la VTA, des aires sous la courbe (AUCs) de différentes portions du signal sont mesurées : l'AUC entre le début et la fin de réponse ( $AUC_{Rep}$ ), l'AUC entre le début de la stimulation et le début de la réponse ( $AUC_{0-Début}$ ), l'AUC entre le début de la stimulation et le pic maximum ( $AUC_{0-Max}$ ), l'AUC entre le pic maximum et la fin de la réponse ( $AUC_{Max-Fin}$ ), l'AUC entre le début de la stimulation et la fin de la réponse ( $AUC_{0-Fin}$ ), l'AUC entre le début de la stimulation et la fin de la zone analysée (20 sec après la stimulation) ( $AUC_{All}$ ).

Sur l'ensemble des paramètres calculés, l' $AUC_{Rep}$ , le Maximum, le Temps pour maximum, le temps de Début, le temps de Fin et enfin la Durée sont les 5 paramètres présentant les altérations les plus significatives. Ces paramètres seront ceux détaillés dans les résultats.

Pour comparer les groupes d'animaux « Cuff » et « Sham », nous considérons chaque essai comme un événement indépendant. Les paramètres ne pouvant être identifiés sur des échecs de réponse, le même nombre d'essais de réponse positive par animal est utilisé afin de ne pas biaiser les analyses statistiques. Nous déterminons donc pour chaque semaine d'expérience un nombre minimum de réponses communes (n) à chaque fréquence de stimulation (n entre 6 et 8), excluons les animaux qui ne présentent pas assez de réponses, et conservons les n premières réponses pour chacun des animaux sélectionnés (ex : n = 8, nous conservons les 8 premiers essais marqués comme répondant).



**Figure 20. Illustration des paramètres des courbes de réponse aux stimulations de la VTA.**

Pour chaque train de stimulation optogénétique de la VTA, nous identifions si le signal présente une réponse significative lorsque comparée aux variations naturelles du signal. Une réponse significative est définie comme une augmentation du signal au-dessus d'un seuil (moyenne + 2 écarts-types de la zone avant la stimulation, ligne pointillée rouge) pendant un minimum de 350 ms. Le point de Début (point de croisement du signal et du seuil, en ms, en vert) et le point de Fin (point de croisement du seuil et du signal, en ms, en mauve) sont alors définis. La Durée va correspondre au temps entre ces deux points. Le maximum du pic entre ces deux points et le temps pour y arriver sont alors définis (Max et Temps pics en Jaune). Les paramètres de cinétique sont ensuite calculés : la pente Début (flèche verte) correspond à la pente entre Début et Max et la pente de Fin (flèche bleue) correspond à la pente entre Max et Fin. L'AUCrep correspond à l'AUC entre la fin de la stimulation et la Fin de la réponse.

## 5. Statistiques

Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  l'erreur standard à la moyenne (SEM). Les statistiques sont réalisées grâce au logiciel Statistica (Statsoft, Tulsa, USA ; version 7.1) ou aux bibliothèques Python SciPy (version : 1.10.1) et Pingouin (version : 0.4.0) en fonction des besoins. Les graphiques sont réalisés à l'aide de la combinaison des bibliothèques Seaborn (version : 0.11.2) et Matplotlib (version : 3.5.2).

Les valeurs obtenues pour chaque point temporel lors de la mesure du seuil de sensibilité mécanique des pattes des animaux de chaque groupe sont analysées comme des variables dépendantes, car évaluées chez le même animal. Des analyses de la variance (ANOVA) à mesures répétées sont utilisées pour ces données, suivies d'un test post-hoc de comparaison multiple (Duncan). Les valeurs obtenues pour les tests du Splash et du FST étant considérées comme des valeurs indépendantes entre groupes et présentant des distributions ne suivant pas une loi normale, le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (test de mwu) est utilisé pour les comparaisons deux à deux.

Les valeurs obtenues pour les données électrophysiologiques étant considérées comme des valeurs indépendantes entre groupes et présentant des distributions ne suivant pas une loi normale, le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney (test de mwu) est utilisé pour les comparaisons deux à deux. Pour les comparaisons multiples sur les paramètres d'électrophysiologie, une analyse de la variance à 1 ou 2 voies est utilisée en fonction des besoins (ANOVA), suivis d'un test post-hoc de comparaison multiple (1 voie : Games-Howell, 2 voies : Duncan).

Les valeurs obtenues pour les données de spectrométrie de masse étant considérées comme des valeurs indépendantes entre groupes, nous réalisons des tests de comparaison indépendants de Student (test de  $t$ ) ou des tests de mwu en fonction de la normalité de l'échantillon de données.

Les valeurs obtenues en photométrie de fibre sont considérées comme indépendantes entre les groupes, les semaines et les fréquences car nous analysons séparément chaque essai. Ces données ne présentant pas d'égalité de leur variance, le test  $t$  de Welch (Welch) est utilisé.

Les résultats sont considérés comme statistiquement significatifs quand  $p < 0,05$ . Dans le cas spécifique de l'évaluation des modèles de distributions des paramètres électrophysiologiques, nous utilisons un test de Fischer d'égalité des variances (test de F) pour évaluer la différence significative de nos jeux de données. Les distributions sont dans ce cas considérées comme significativement différentes statistiquement lorsque  $p < 0,0001$ .

## Résultats

### 1. **Expérience 1** : Identification des altérations de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression.

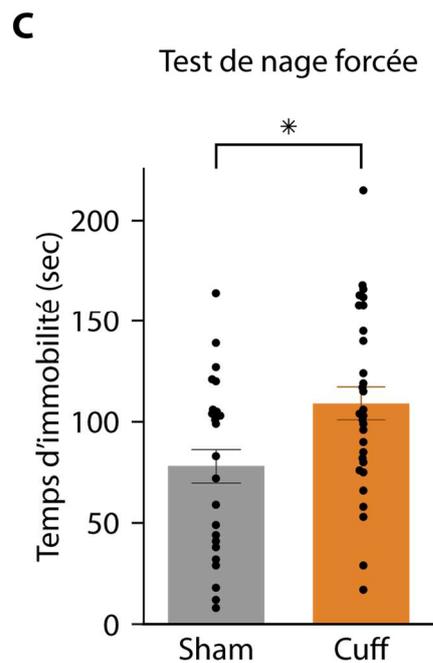
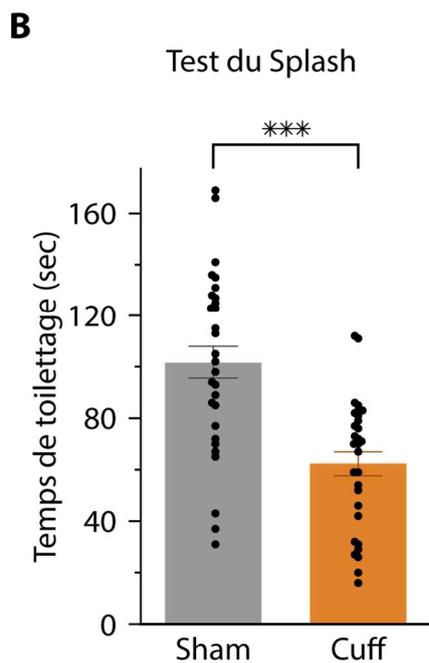
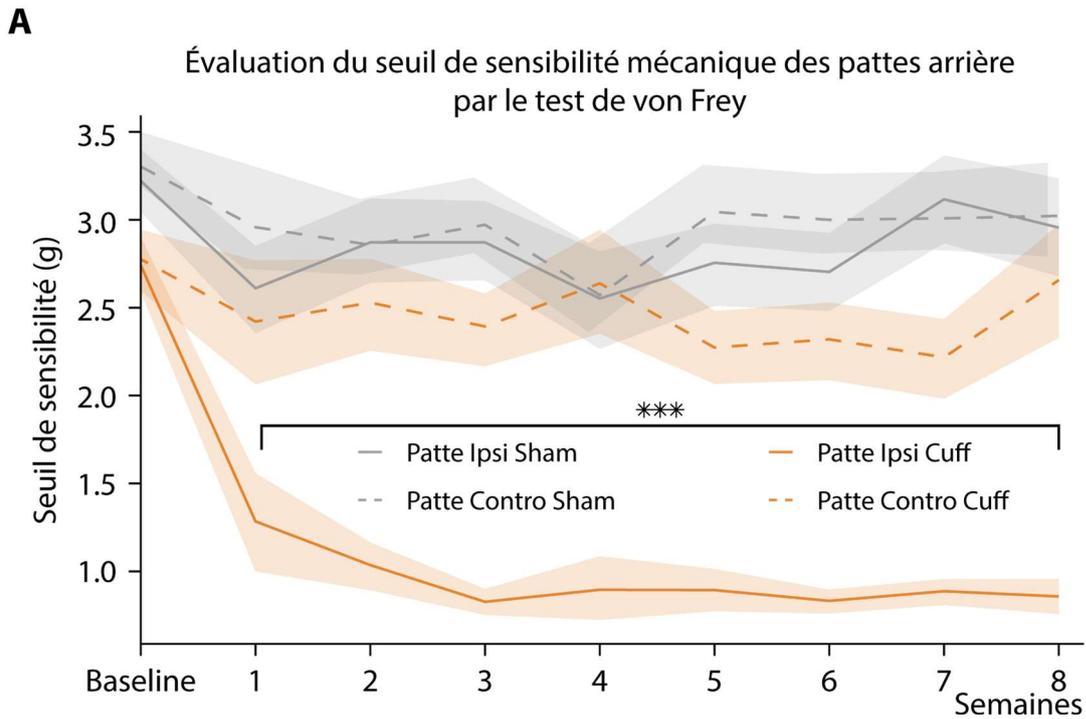
#### 1.1. Évaluation comportementale de la comorbidité douleur-dépression

##### 1.1.1. Évaluation de l'évolution du seuil de sensibilité mécanique

Le seuil de sensibilité mécanique des pattes arrière des animaux a été suivi à l'aide du test de von Frey. Une ligne de base (baseline) est réalisée dans la semaine avant la chirurgie puis, après une semaine de repos post-chirurgie, les animaux ont été testés une fois par semaine durant les 8 semaines de l'expérience. L'implantation du manchon diminue le seuil de sensibilité mécanique de la patte ipsilatérale à la chirurgie chez les animaux du groupe « Cuff » (*patte ipsilatérale à la chirurgie*  $1,17 \pm 0,06$  g) (ANOVA à mesures répétées, interaction patte x chirurgie  $F_{(2, 843)} = 35.83$ ,  $pval < 1e^{-5}$ , post-hoc test de Duncan  $< 0,05$  pour la patte ipsilatérale à la chirurgie de la semaine 1 à 8), mais pas celui de la patte controlatérale à la chirurgie ( $2,46 \pm 0,08$  g). La pseudo-opération, effectuée chez les animaux du groupe « Sham », n'altère pas le seuil de sensibilité mécanique de leurs pattes arrière (*patte ipsilatérale à la chirurgie* :  $2,86 \pm 0,08$  g, *patte controlatérale* :  $2,98 \pm 0,07$  g) (**Fig.1 A**).

##### 1.1.2. Évaluation des comportements de types dépressifs

Les tests sont réalisés la semaine précédant les enregistrements électrophysiologiques. Le test de pulvérisation d'eau sucrée (test du Splash) révèle un temps de toilettage plus bas chez les animaux du groupe « Cuff » que chez ceux du groupe « Sham » (*Sham* :  $101,5 \pm 6,5$  sec ; *Cuff* :  $62,3 \pm 4,6$  sec,  $mwu = 158$ ,  $p = 2,7e^{-05}$ ) (**Fig.1 B**). 48 heures après, un test de nage forcée est réalisé. On observe une augmentation du temps d'immobilité chez les animaux du groupe « Cuff » comparé à ceux du groupe « Sham » (*Sham* :  $78,2 \pm 8,9$  sec, *Cuff* :  $109 \pm 8,2$  sec,  $mwu = 477,5$ ,  $p = 0,041$ ) (**Fig.1 C**). Ces résultats illustrent respectivement, chez les animaux du groupe Cuff, un manque d'intérêt dans leurs soins personnels ainsi qu'un comportement de résignation. Ces comportements caractérisent un phénotype de type dépressif 7 semaines après l'induction de la douleur neuropathique. Les animaux du groupe « Cuff » expriment donc une comorbidité douleur-dépression.



**Figure 1. Évaluation comportementale des animaux des procédures d'électrophysiologie in vivo.**

**A)** Représentation graphique du seuil de sensibilité mécanique des pattes arrière des animaux des groupes Sham et Cuff estimé par le test des filaments de von Frey. Une diminution du seuil de sensibilité mécanique est observée, de la 1<sup>ère</sup> à la 8<sup>ème</sup> semaine post chirurgie, chez les animaux du groupe « Cuff » pour la patte ipsilatérale à la chirurgie par rapport à celle controlatérale et par rapport aux deux pattes arrière des animaux du groupe « Sham ».

**B)** Histogramme du temps de toilettage lors du test de pulvérisation d'eau sucrée 7 semaines après la chirurgie chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». Une diminution du temps de toilettage illustre un phénotype de type dépressif chez les animaux du groupe « Cuff ». **C)** Histogramme du temps d'immobilité lors du test de la nage forcée 7 semaines après la chirurgie chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». Une augmentation du temps d'immobilité illustre un phénotype de type dépressif chez les animaux du groupe Cuff. (\*)  $p < 0,05$  ; (\*\*)  $p < 0,01$  ; (\*\*\*)  $p < 0,001$

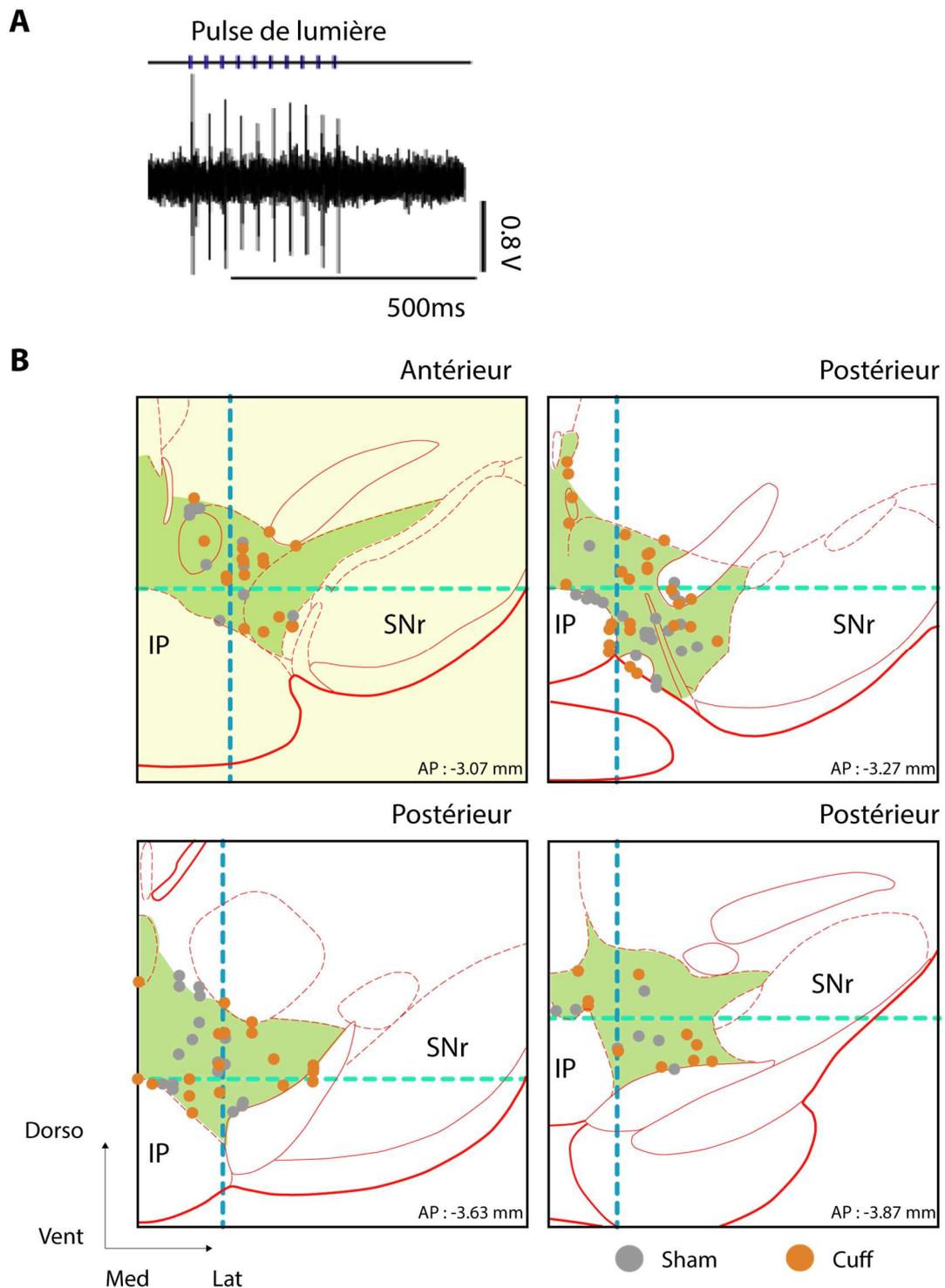
## 1.2. Évaluation de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA

### 1.2.1. Activité totale et tonique réelle

Les enregistrements de l'activité électrophysiologique *in vivo* des neurones DA de la VTA chez la souris anesthésiée ont été réalisés entre la 8<sup>ème</sup> et la 9<sup>ème</sup> semaine post-chirurgie. Seuls les animaux « Cuff » exprimant une comorbidité douleur-dépression et les animaux « Sham » ont été utilisés, et seuls les neurones identifiés optogénétiquement comme DA (optotaggés), c'est-à-dire ceux émettant un PA à latence fixe à chaque pulse de lumière, ont été analysés (**Fig.2 A**). Chaque neurone enregistré a été localisé dans la VTA grâce à l'injection de bleu de pontamine en fin d'expérience (**Fig.2 B**). Les neurones DA localisés en dehors de la VTA, notamment ceux dans la substance noire compacte (SNC), sont exclus. Les neurones analysés sont enregistrés pendant 1 à 5 min, ou pendant une période permettant l'émission d'au moins 250 PA. Au final, un total de 60 neurones dans le groupe « Sham » (29 animaux) et 73 neurones dans le groupe « Cuff » (30 animaux) a été utilisé pour les analyses.

Nous avons d'abord analysé les paramètres liés à l'activité totale des neurones, c'est-à-dire à l'ensemble des PA qu'ils émettent. La fréquence des PA et le CV2, une mesure de la régularité du patron d'émission des PA, sont similaires entre les neurones des animaux des groupes « Sham » (*fréquence des PA :  $5,98 \pm 0,34$  Hz ; CV2 :  $0,53 \pm 0,03$* ) et « Cuff » (*fréquence des PA :  $6,13 \pm 0,31$  Hz ; CV2 :  $0,57 \pm 0,03$* ) (**Fig.3 A.1 ; A.2**) et sont en accord avec les données de la littérature (Grace & Bunney, 1984a ; Kaufling et al., 2017). Ainsi, lorsque l'on examine l'activité totale des neurones DA de la VTA, on n'observe pas de différence entre les neurones des animaux sains et ceux présentant une comorbidité douleur-dépression.

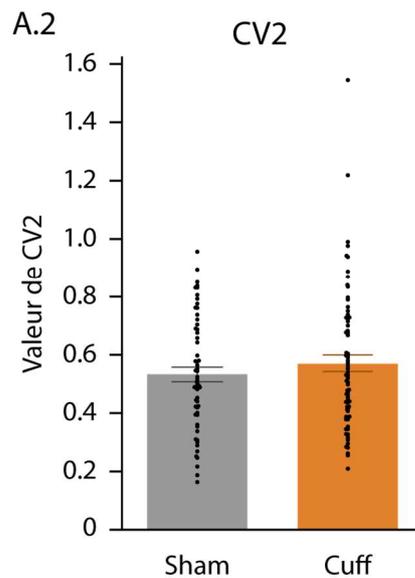
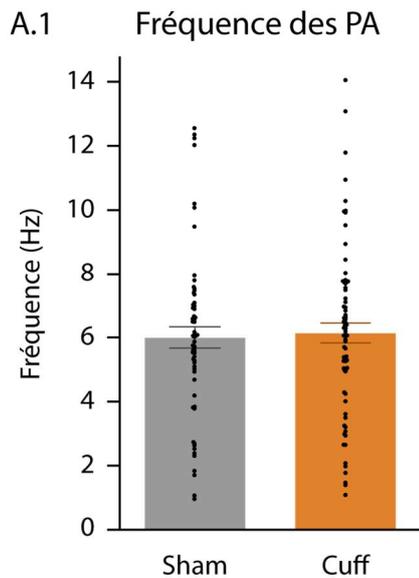
L'activité des neurones DA de la VTA est composée d'une activité tonique dite pacemaker à laquelle peut s'ajouter, ou non, une activité phasique dite en burst (Grace & Bunney, 1984b). L'activité totale comprenant à la fois l'activité tonique et phasique, nous avons défini une activité tonique « réelle », dont sont exclus les PA en burst à l'exception du premier PA de chaque burst. Cette activité tonique « réelle » va alors caractériser l'activité tonique « pacemaker » des neurones au travers de la fréquence des PA ainsi que du paramètre de régularité CV2. Nous n'observons là encore pas de différence dans la fréquence des PA « réelle » des neurones des animaux des groupes « Cuff » ( *$6,02 \pm 0,31$  Hz*) et « Sham » ( *$5,91 \pm 0,34$  Hz*) (**Fig.3 B.1**) ou dans les valeurs de CV2 (*Sham :  $0,51 \pm 0,02$ , Cuff :  $0,54 \pm 0,02$* ) (**Fig.3 B.2**). La présence de la comorbidité douleur-dépression ne semble donc pas modifier l'activité tonique réelle, c'est-à-dire « pacemaker », des neurones DA de la VTA.



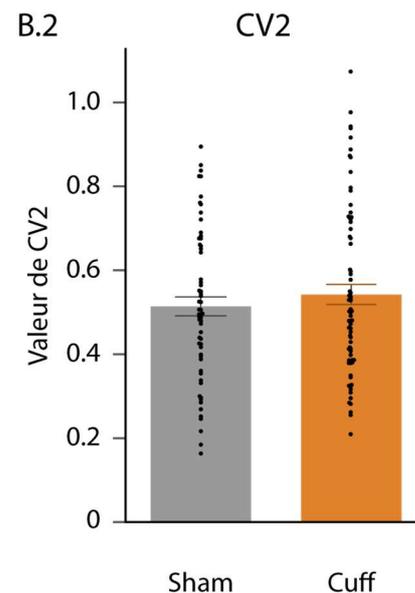
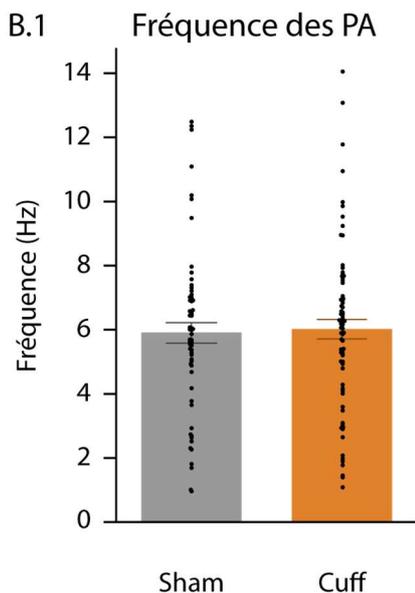
**Figure 2. Optotagging et localisation anatomique des neurones DA de la VTA enregistrés.**

**A)** Exemple de signal électrophysiologique unitaire lors de l'identification optogénétique (optotagging) d'un neurone DA. Le neurone émet un PA à chaque pulse de lumière. **B)** Représentation graphique de la localisation des neurones DA enregistrés dans la VTA (en vert) chez les animaux des groupes « Sham » (points gris) et « Cuff » (points orange). Le cadran en haut à gauche représente les neurones dans la VTA antérieure et les 3 suivants ceux localisés dans la VTA postérieure. Le trait pointillé horizontal illustre la distinction dorso-ventrale et la ligne pointillée verticale la distinction médo-latérale. Représentation à partir de coupes frontales de l'atlas de souris de Paxinos et Franklin (Franklin & Paxinos, 2013.).

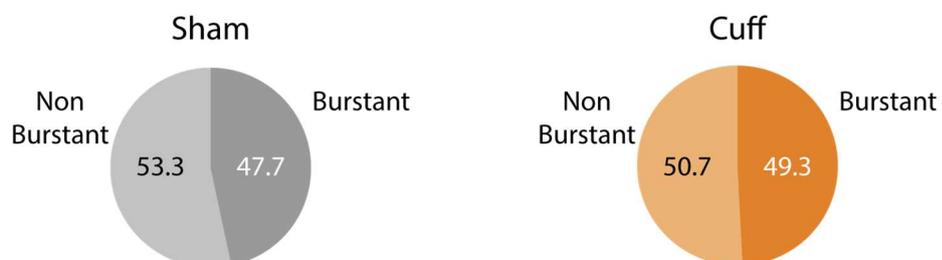
## A Activité Totale



## B Activité Tonique Réelle



## C Proportion de neurones burstant



**Figure 3. Analyse de l'activité totale et tonique réelle des neurones dopaminergique (DA) de la VTA.** A, B) Aucune différence significative n'est observée entre les neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » concernant la fréquence des PA et le CV2 de l'activité totale (A) et de l'activité tonique réelle (B). C) La proportion de neurones présentant une activité en burst (« Burstant ») ou n'en présentant pas (« Non Burstant ») est similaire entre les neurones DA des animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».

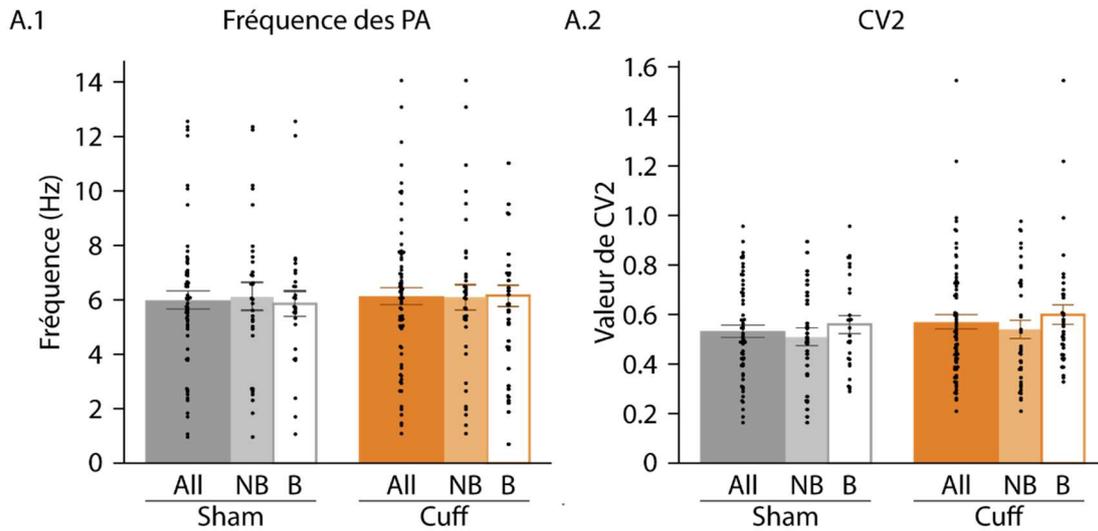
Tous les neurones DA ne présentant pas une activité en burst, nous avons mesuré la proportion de ceux exprimant cette activité par rapport à ceux ne présentant qu'une activité tonique. Les neurones « burstant » sont définis comme présentant une distribution bimodale du logarithme des ISI ainsi que plus de 2 événements de burst. On n'observe pas de différence dans la proportion de neurones « burstant » et « non burstant » entre les groupes « Sham » (*burstant : n = 28 neurones 46,7% ; non burstant : n = 32 neurones, 53,3%*) et « Cuff » (*burstant : n = 36 neurones, 49,3% ; non burstant : n = 37 neurones, 50,7%*) (**Fig.3 C**).

Les neurones DA de la VTA ont ensuite été séparés en 2 sous-populations sur la base de la présence ou non d'activité en burst, et l'activité totale et tonique réelle ont été analysées (**Fig.4**). La fréquence des PA pour l'activité totale (**Fig.4 A.1**) ou l'activité tonique réelle (**Fig.4 B.1**) est similaire entre les neurones « burstant » des animaux du groupe « Cuff » (*fréquence des PA de l'activité totale :  $6,16 \pm 0,39$  Hz ; fréquence des PA de l'activité tonique réelle :  $5,94 \pm 0,39$  Hz*) et ceux du groupe « Sham » (*fréquence des PA de l'activité totale :  $5,85 \pm 0,47$  Hz ; fréquence des PA de l'activité tonique réelle :  $5,7 \pm 0,46$  Hz*). La fréquence des PA de l'activité totale et de l'activité tonique réelle sont également identiques pour les neurones « non burstant » entre les animaux du groupe « Cuff » ( *$6,09 \pm 0,48$  Hz*) et « Sham » ( *$6,11 \pm 0,51$  Hz*). Les valeurs de CV2 ont ensuite été comparées. Ces valeurs pour l'activité totale (**Fig.4 A.2**) et tonique réelle (**Fig.4 B.2**) sont similaires entre les neurones « burstant » (*activité totale :  $0,54 \pm 0,03$  ; activité tonique réelle :  $0,6 \pm 0,04$* ) et « non burstant » ( *$0,54 \pm 0,04$* ) des animaux « Cuff » et ceux « burstant » (*activité totale :  $0,56 \pm 0,04$  ; activité tonique réelle :  $0,52 \pm 0,03$* ) et « non burstant » ( *$0,51 \pm 0,03$* ) des animaux « Sham ». La présence de la comorbidité douleur dépression ne semble donc pas modifier l'activité totale et tonique réelle dite « pacemaker » des neurones DA burstant et non burstant de la VTA.

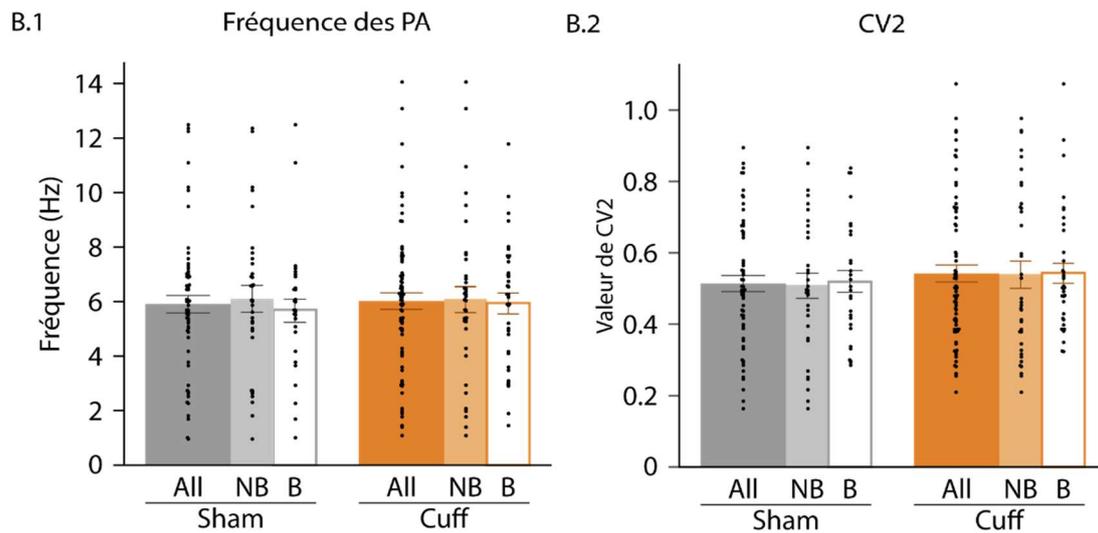
### 1.2.2. Activité phasique

L'activité phasique des neurones DA de la VTA burstant a ensuite été analysée (**Fig.5**) à travers 6 paramètres. La fréquence des burst, correspondant au nombre moyen de burst émis par seconde, ne présente pas de différence significative entre les neurones DA de la VTA des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » (*Sham :  $0,12 \pm 0,03$  Hz, Cuff :  $0,20 \pm 0,05$  Hz*) (**Fig.5 A**). Statistiquement, aucune différence n'est non plus présente pour le pourcentage de PA en burst entre les neurones des animaux des groupes « Cuff » et « Sham » (*Sham :  $5,16 \pm 1,45\%$ , Cuff :  $7,2 \pm 1,89\%$* ) (**Fig.5 B**). La taille des burst, c'est-à-dire le nombre des PA observés en moyenne dans chaque burst, et la durée moyenne des burst, sont deux paramètres directement liés. Pour ces deux paramètres on n'observe pas de différence entre les neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » (*taille des burst : Sham :  $2,14 \pm 0,06$  PA/burst, Cuff :  $2,09 \pm 0,03$  PA/burst ; durée des burst : Sham :  $40,69 \pm 5,02$  ms, Cuff :  $34,76 \pm 4,09$  ms*) (**Fig.5 C,D**). Enfin, nous avons mesuré la fréquence intra-burst correspondant au nombre total de PA en burst divisé par la durée

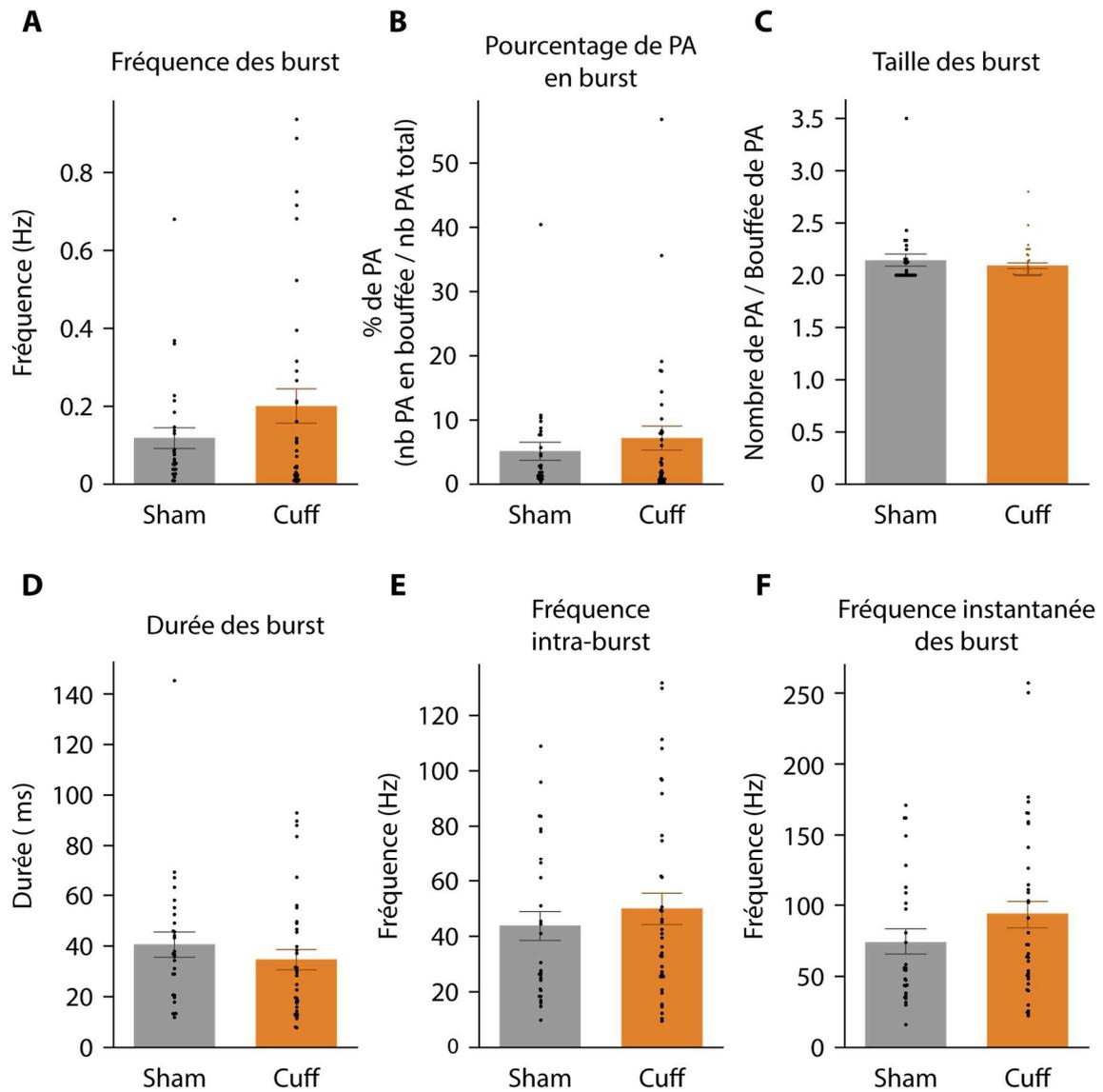
## A Activité Totale



## B Activité Tonique Réelle



**Figure 4. Activité totale et tonique réelle des neurones DA de la VTA avec et sans activité phasique.** **A, B)** Aucune différence significative n'est observée entre les neurones avec ou sans une activité en burst chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff » concernant la fréquence des PA et le CV2 de l'activité totale (**A**) et de l'activité tonique réelle (**B**). (All = tous les neurones ; B = neurones burstant, NB = neurones non burstant).



**Figure 5. Paramètres de l'activité phasique des neurones DA de la VTA.**

**A, B, C, D, E** Aucune différence significative n'est observée entre les neurones DA des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » concernant les paramètres suivants de leur activité phasique : la fréquence des burst (**A**), le pourcentage de PA en burst (**B**), la taille des burst (**C**), la durée des burst (**D**), la fréquence intra-burst (**E**) et la fréquence instantanée des burst (**F**).

de l'ensemble des burst. Cette activité représente la fréquence moyenne de l'activité en burst du neurone. De manière intrinsèquement liée, nous avons aussi quantifié la fréquence instantanée des burst, qui va correspondre à la fréquence moyenne observée entre deux PA à l'intérieur d'un burst. Pour ces deux paramètres, aucune différence entre les neurones DA de la VTA des animaux des groupes « Cuff » et « Sham » n'est observée (*fréquence intra-burst : Sham : 43,91 ± 5,38 Hz, Cuff : 50,04 ± 5,73 Hz ; fréquence instantanée des burst : Sham : 74,02 ± 8.62 Hz, Cuff : 94,07 ± 10,28 Hz*) (**Fig.5 E, F**). La présence de la comorbidité douleur-dépression ne semble donc pas altérer les paramètres de l'activité phasique des neurones burstant.

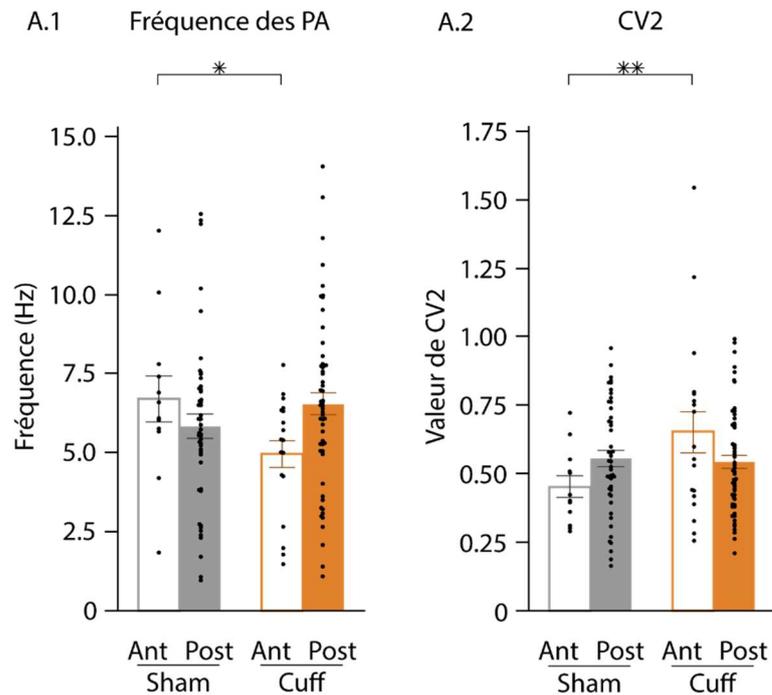
### 1.2.3. Activité des neurones DA de la VTA en fonction de leur localisation anatomique dans la VTA

Selon la littérature, le connectome d'un neurone DA varie en fonction de la localisation de son corps cellulaire au sein de la VTA (Lammel et al., 2012). Par exemple, plus un neurone est situé latéralement dans la VTA plus ses projections axonales vont être orientées vers la coquille latérale du NAc alors que les neurones localisés médialement vont quant à eux projeter de manière préférentielle au mPFC. Ces neurones latéraux et médiaux seront respectivement impliqués dans le traitement des informations récompensantes et aversives (Lammel et al., 2012). Ces connexions différentielles suggèrent que les neurones DA de la VTA traitent des informations différentes en fonction de leur localisation anatomique, et pourraient donc être affectés différemment dans différents types de pathologies, y compris lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Nous avons ainsi séparé les neurones DA enregistrés dans la VTA des animaux des groupes « Cuff » et « Sham » selon 4 axes anatomiques : un axe antéro-postérieur, un axe dorso-ventral, un axe latéro-médial et un axe contro-ipsilatéral à la patte opérée dans la chirurgie du Cuff. La division médio-latérale confirme les données de la littérature et montre que les neurones situés dans la partie médiale de la VTA sont plus silencieux que ceux situés dans la VTA latérale, mais seule la division antéro-postérieure révèle des différences dans l'activité des neurones des animaux du groupe « Sham » par rapport à ceux du groupe « Cuff ».

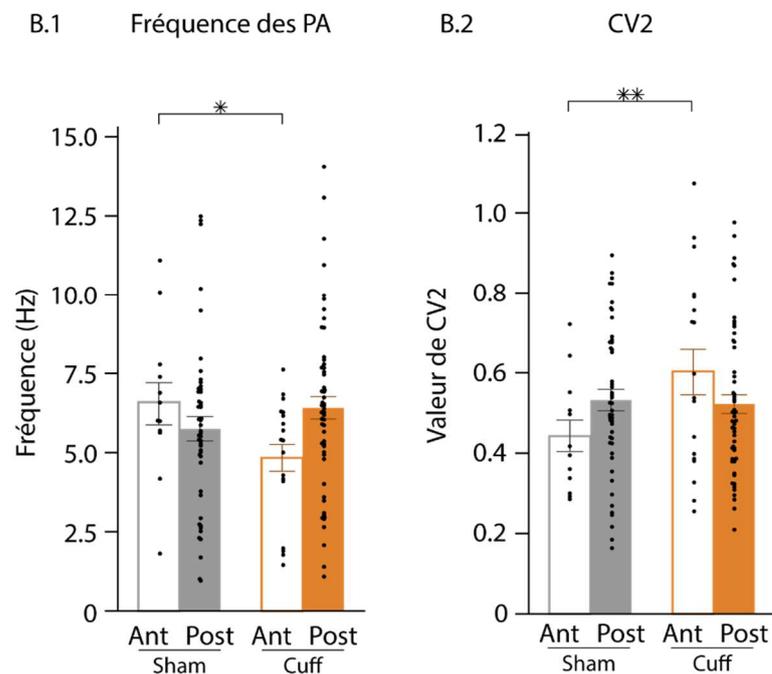
#### 1.2.3.1. Activité totale et tonique réelle des neurones antérieurs et postérieurs de la VTA

L'analyse de la fréquence des PA de l'activité totale suggère la présence de différences entre les groupes « Sham » et « Cuff » selon la localisation anatomique des neurones (*ANOVA 2 voies ; localisation x groupes :  $F_{(1, 129)} = 4,88, p = 0,029$* ) (**Fig.6 A.1**). Les neurones antérieurs des animaux du groupe « Cuff » ont une fréquence moyenne des PA (*4,95 ± 0,44 Hz*) significativement plus basse que celle des neurones antérieurs des animaux du groupe « Sham » (*6,69 ± 0,75 Hz ; post-hoc < 0,05*). Chez les animaux du groupe « Cuff », les neurones antérieurs ont ainsi tendance à avoir une fréquence des PA plus basse que celle des neurones postérieurs (*6,51 ± 0,37 Hz ; post-*

## A. Activité Totale



## B. Activité Tonique Réelle



**Figure 6. Activité électrophysiologique des neurones DA localisés dans la partie antérieure vs postérieure de la VTA.**

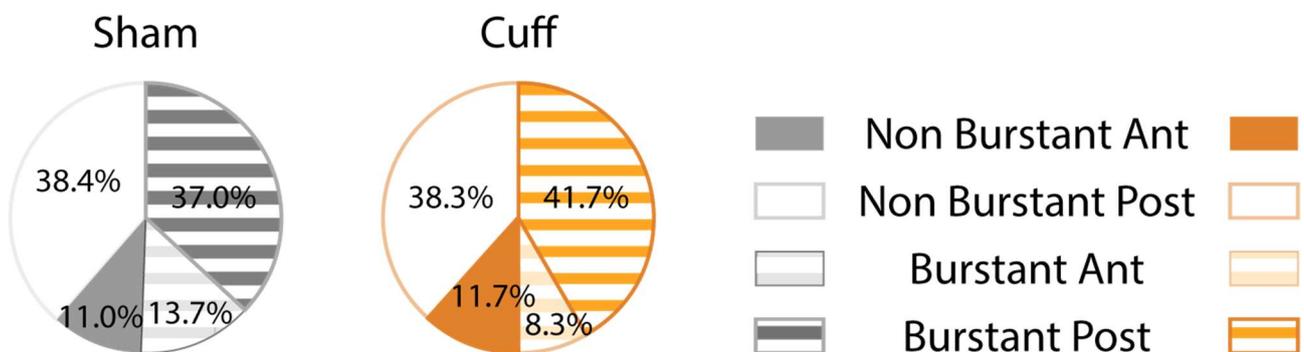
**A.1)** Concernant leur activité totale, les neurones de la VTA antérieure (Ant) des animaux du groupe « Sham » ont une fréquence des PA plus élevée que ceux de la VTA antérieure des animaux du groupe « Cuff ». **A.2)** Concernant le CV2 de l'activité totale, ou plus la valeur est élevée plus le patron d'activité du neurone est irrégulier, on observe des variations similaires, mais inversées par rapport aux fréquences des PA. **B.1)** Concernant la fréquence des PA de l'activité tonique réelle, les neurones de la VTA Ant des animaux du groupe « Sham » présentent une fréquence des PA plus élevée que les neurones de la VTA Ant des animaux du groupe « Cuff ». **B.2)** Concernant le CV2 de l'activité totale, les neurones de la VTA Ant des animaux du groupe « Sham » présentent un CV2 significativement plus faible que celui des neurones de la VTA Ant des animaux du groupe « Cuff ». (\*)  $p < 0,05$ ; (\*\*)  $p < 0,01$ ; (\*\*\*)  $p < 0,001$

$hoc = 0,057$ ), alors que cette tendance est opposée chez les animaux du groupes « Sham » (*VTA postérieure* :  $5,81 \pm 0,38$  Hz).

La régularité de l'activité totale, reflétée par la valeur de CV2, montre aussi des différences antéro-postérieures entre les groupes (*ANOVA 2 voies : interaction localisation anatomique x groupes* :  $F_{(1, 129)} = 5,54, p = 0,02$ ) (**Fig.6 A.2.**), les neurones DA antérieurs ayant un CV2 plus important chez les animaux du groupe « Cuff » ( $0,65 \pm 0,08$ ) que chez ceux du groupe « Sham » ( $0,45 \pm 0,04$  ; *post-hoc* < 0,01) alors que les CV2 sont semblables en postérieur (*Sham* :  $0,55 \pm 0,03$  ; *Cuff* :  $0,54 \pm 0,03$ ).

L'analyse de la fréquence des PA de l'activité tonique réelle, c'est-à-dire dépourvue de l'activité phasique des neurones burstant, montre des résultats globalement similaires à ceux de l'activité totale. On retrouve des différences « Sham » / « Cuff » en fonction de la localisation anatomique des neurones DA de la VTA (*ANOVA 2 voies : localisation anatomique x groupes* :  $F_{(1, 129)} = 4,94, p = 0,028$ ) (**Fig.6 B.1**). La fréquence moyenne des PA de l'activité tonique réelle est plus faible dans les neurones antérieurs des animaux du groupe « Cuff » ( $4,83 \pm 0,45$  Hz) que dans ceux du groupe « Sham » ( $6,59 \pm 0,70$  Hz, *post-hoc* < 0,05). La fréquence moyenne des PA de l'activité tonique réelle des neurones antérieurs montre aussi une tendance à être plus basse en antérieur qu'en postérieur ( $6,41 \pm 0,37$  Hz ; *post-hoc* = 0,052) chez les animaux du groupe « Cuff », alors que la tendance est opposée chez les animaux du groupe « Sham » (*VTA postérieure* :  $5,74 \pm 0,38$  Hz).

Finalement, la régularité des PA de l'activité tonique réelle, reflétée par la valeur de CV2 de cette activité, présente aussi une interaction entre localisation et groupe expérimental (*ANOVA 2 voies : localisation anatomique x groupes*  $F_{(1, 129)} = 4,47, p = 0,036$ ) (**Fig.6 B.2**). Les neurones antérieurs des animaux du groupe « Cuff » ont en effet un CV2 de l'activité tonique réelle plus élevé ( $0,60 \pm 0,06$ ) que ceux du groupe « Sham » ( $0,44 \pm 0,04$  ; *post-hoc* < 0,01), différence qui ne se retrouve pas en postérieur (*Sham* :  $0,53 \pm 0,03$  ; *Cuff* :  $0,52 \pm 0,02$ ).



**Figure 7. Proportion de neurones de la VTA antérieure et postérieure présentant une activité phasique.**

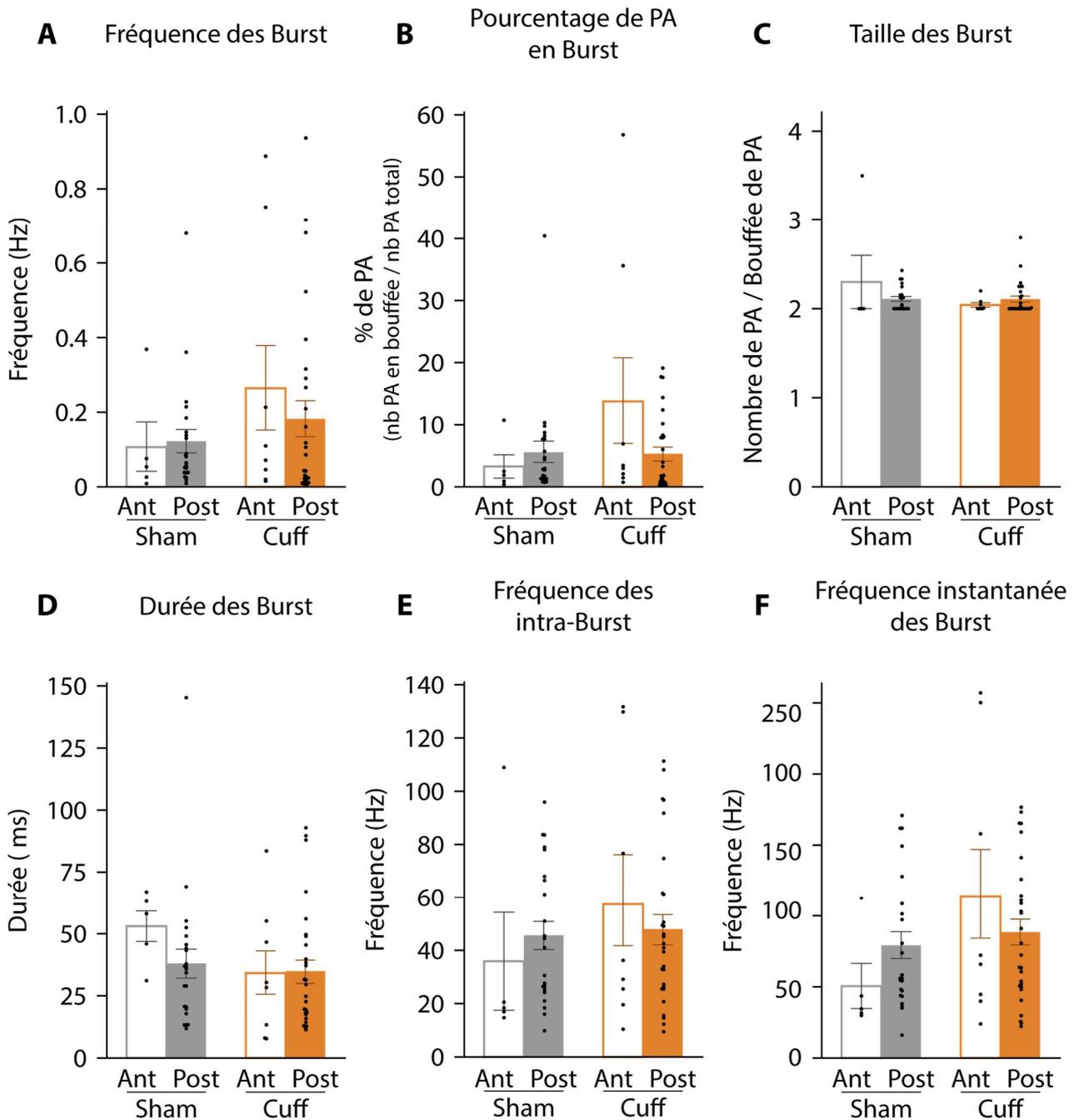
Aucune différence entre la proportion de neurones DA localisés dans la VTA antérieure (Ant) ou postérieure (Post), présentant ou non (burstant ou non burstant) une activité phasique n'est observée entre les animaux des groupes

En résumé, en conditions basales, les neurones DA de la VTA ne présentent pas de différence globale dans l'activité totale et tonique réelle entre animaux des groupes « Sham » et « Cuff », mais l'expression de la comorbidité douleur-dépression diminue les fréquences moyenne de décharge spécifiquement dans les neurones DA localisés dans la VTA antérieure, ce qui est associé à une perte de la régularité du patron d'activité (CV2 plus élevée).

Au vu de ces résultats, nous avons émis l'hypothèse que la perte de régularité des neurones DA de la VTA antérieure chez les animaux « Cuff » pourrait être due à un changement de la proportion de neurones présentant une activité en burst, mais il n'en est rien (**Fig.7**). En effet, on n'observe pas de différence dans les proportions de neurones « burstant » antérieurs (*Sham : 13,7% n = 5 ; Cuff : 8,3% n = 8*) ou postérieurs (*Sham : 37% n = 23 ; Cuff : 41,7% n = 28*), ni dans celles des neurones « non burstants » antérieurs (*Sham : 11,0% n = 7 ; Cuff : 11,7% n = 10*) ou postérieurs (*Sham : 38,4% n = 25 ; Cuff : 38,3% n = 27*).

#### 1.2.3.2. Activité phasique des neurones antérieurs et postérieurs de la VTA

Nous avons ensuite comparé les caractéristiques des « burst » entre les neurones antérieurs et postérieurs des deux groupes d'animaux, « Sham » et « Cuff » (**Fig.8**). On n'observe pas de différence de fréquence de burst entre les neurones antérieurs et postérieurs du groupe « Sham » (*antérieur :  $0,11 \pm 0,07$  Hz ; postérieur :  $0,12 \pm 0,03$  Hz*) et du groupe « Cuff » (*antérieur :  $0,26 \pm 0,12$  Hz ; postérieur :  $0,18 \pm 0,05$  Hz*) (**Fig.8 A**). De la même façon, aucune différence significative n'apparaît pour les autres paramètres des burst, c'est-à-dire pour le % de PA en « burst » (*Sham : antérieur :  $3,28 \pm 1,89\%$ , postérieur :  $5,57 \pm 1,72\%$  ; Cuff : antérieur  $13,75 \pm 7,39\%$ , postérieur  $5,32 \pm 1,15\%$ ) (**Fig.8 B**), pour la taille moyenne des burst (*Sham : antérieur :  $2,3 \pm 0,30$  PA/Burst, postérieur :  $2,11 \pm 0,03$  PA/Burst ; Cuff : antérieur :  $2,04 \pm 0,24$  PA/Burst, postérieur :  $2,11 \pm 0,03$  PA/Burst*) (**Fig.8 C**), pour la durée moyenne des burst (*Sham : antérieur :  $53,03 \pm 6,53$  ms, postérieur :  $38,00 \pm 5,84$  ms ; Cuff : antérieur :  $34,14 \pm 9,35$  ms, postérieur :  $34,94 \pm 4,63$  ms*) (**Fig.8 D**), pour la fréquence intra-burst (*Sham : antérieur :  $35,90 \pm 18,29$  Hz, postérieur :  $45,66 \pm 5,41$  Hz ; Cuff : antérieur :  $57,37 \pm 17,45$  Hz, postérieur :  $47,95 \pm 5,61$  Hz*) (**Fig.8 E**), et pour la fréquence instantanée des burst (*Sham : antérieur :  $50,42 \pm 15,70$  Hz, postérieur :  $79,15 \pm 9,72$  Hz ; Cuff : antérieur :  $113,97 \pm 33,65$  Hz, postérieur :  $88,39 \pm 9,31$  Hz*) (**Fig.8 F**). Les neurones DA antérieurs et postérieurs de la VTA présentent donc des paramètres de burst similaires en conditions basales et ne sont pas altérés pendant l'expression de la comorbidité douleur-dépression.*



**Figure 8. Paramètres de l'activité phasique des neurones DA de la VTA antérieure et postérieure.**  
**A, B, C, D, E** Aucune différence significative n'est observée entre les neurones DA, localisés dans la VTA antérieure (Ant) et postérieure (Post), des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » concernant les paramètres suivants de leur activité phasique : la fréquence des burst (**A**), le pourcentage de PA en burst (**B**), la taille des burst (**C**), la durée des burst (**D**), la fréquence intra-burst (**E**) et la fréquence instantanée des burst (**F**).

#### 1.2.4. Clustérisations des neurones DA de la VTA en fonction de leurs paramètres électrophysiologiques (Analyse en composante principale 1 PCA1)

Nous avons aussi cherché à identifier des sous-populations de neurones DA de la VTA sur la base de leurs paramètres électrophysiologiques, pour déterminer si l'une ou l'autre de ces sous-populations était spécifiquement altérée lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Pour cela, nous avons réalisé une analyse en composante principale (PCA) à trois dimensions pour définir des groupes de neurones (appelés clusters) qui partagent des paramètres électrophysiologiques similaires. Les paramètres sont ceux liés à l'activité totale, à l'activité tonique réelle et à l'activité en burst des neurones DA de la VTA, sans distinction de leur appartenance aux animaux des groupes « Sham » ou « Cuff ».

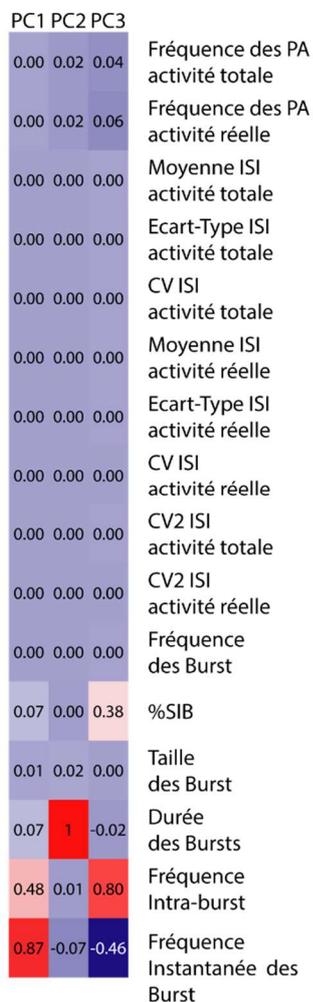
L'analyse des contributions aux axes de la PCA montre que 4 paramètres et 2 axes de la PCA (PC1 et PC3) contribuent majoritairement à l'identification de 3 clusters (**Fig.9 A.1**). Ces paramètres sont la fréquence instantanée des burst (*contribution PC1 : 0,87 ; PC3 : -0,46*), la fréquence intra-burst (*contribution PC1 : 0,48 ; PC3 : 0,80*), la durée des burst (*contribution PC2 : 1*) et le pourcentage de PA en burst (*contribution PC3 : 0,38*). Les vecteurs de contributions de ces 4 paramètres en fonction des 3 axes de la PCA sont représentés sur un graphique en 3D (**Fig.9 B.1**).

Dans la représentation 3D de la position de chaque neurone DA enregistré en fonction des 3 axes de PCA (**Fig.9 B.2**), les neurones en rouge, bleu et rose représentent respectivement les clusters de neurones  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  détectés par l'algorithme de K-means. Pour visualiser plus clairement ces clusters, 3 représentations en 2D de la position des neurones selon deux axes de la PCA sont aussi présentées (**Fig.9 C**). Dans ces représentations, les clusters de neurones  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  sont identifiables grâce à la combinaison des axes PC1 et PC2 (**Fig.9 C.1**), les neurones du cluster  $\gamma$  se distinguent de ceux du cluster  $\beta$  grâce au plan PC2-PC3 mais le cluster  $\alpha$  ne peut être séparé des deux autres (**Fig.9 C.2**), et les positions selon les axes PC1 et PC3 permettant aussi d'identifier les clusters de neurones  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  (**Fig.9 C.3**).

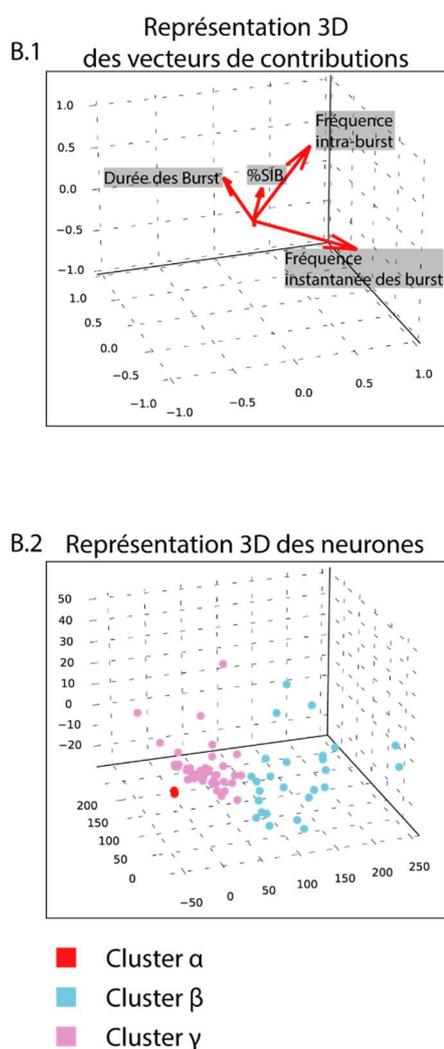
Concernant la proportion de neurones contribuant à chaque cluster, le cluster  $\alpha$  comprend quasiment la moitié des neurones (*n = 64/133 neurones, 48,1%*), les clusters  $\beta$  et  $\gamma$  se partageant l'autre moitié avec une légère prévalence pour le cluster  $\gamma$  (*cluster  $\beta$  : n = 27/133 neurones, 20,3%* ; *cluster  $\gamma$  : n = 42/133 neurones, 31,6%*) (**Fig.10 A**).

Les neurones non burstant sont présents dans les 3 clusters (**Fig.10 B**). Ils sont les seuls du cluster  $\alpha$ , où ils sont pour 58% (*n = 37*) issus des animaux du groupe « Cuff » et 42% (*n = 27*) du groupe « Sham ». Ils sont en proportions identiques dans les clusters  $\beta$  et  $\gamma$ , où ils ne représentent que 7% des neurones et sont issus uniquement d'animaux du groupe « Sham » ( *$\beta$  : n = 2 ;  $\gamma$  : n = 3*).

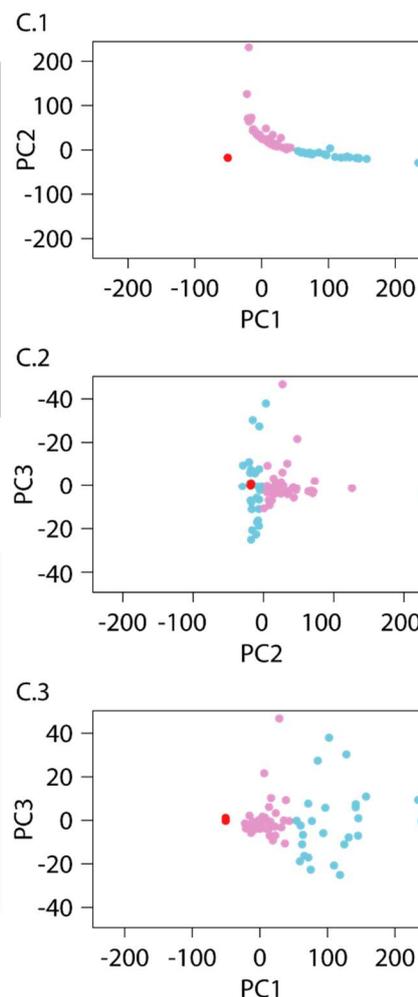
### A Contribution aux axes



### B Représentation 3D



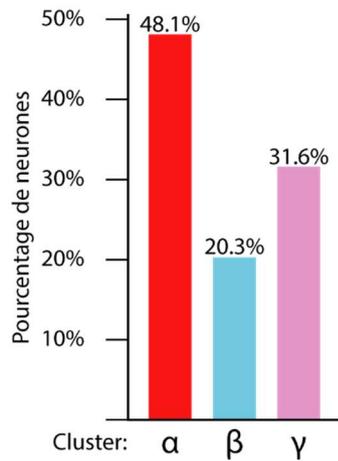
### C Représentation 2D



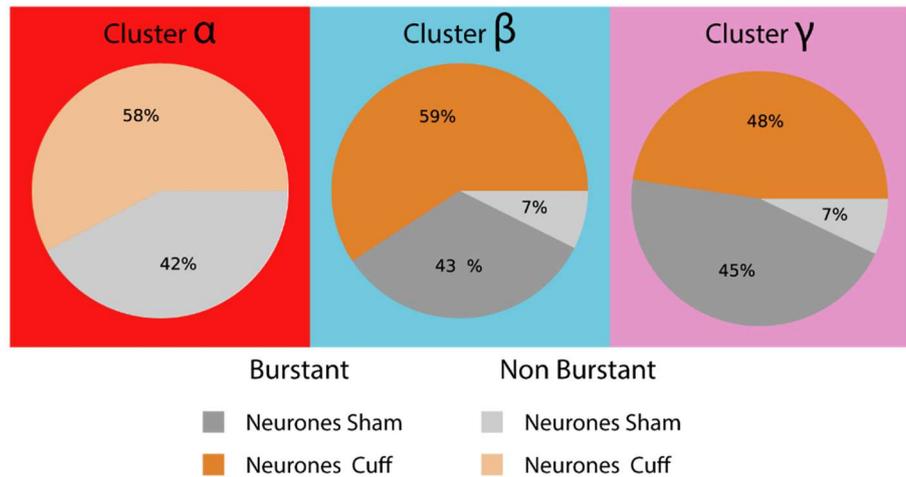
**Figure 9. Résumé de l'analyse en composante principale (PCA1) à partir des paramètres électrophysiologiques.**

**A)** Représentation des valeurs de contribution de chaque paramètre électrophysiologique à chaque axe de PCA. On observe que les paramètres décrivant l'activité tonique n'ont qu'une faible contribution par rapport à la contribution majeure des paramètres décrivant l'activité phasique. **B)** Représentation en 3D des vecteurs de contribution des principaux paramètres contribuant à la PCA (**B.1**) et des neurones regroupés en 3 clusters de neurones  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  représentés respectivement par des points rouges, bleus et roses (**B.2**). **C)** Représentations en 2D des neurones composant les 3 clusters : axes PC1-PC2 (**C.1**), PC2-PC3 (**C.2**) et PC3-PC1 (**C.3**).

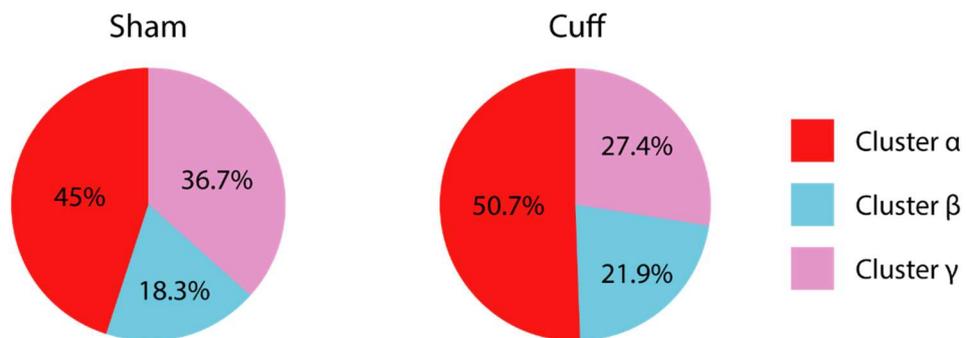
### A Proportion des clusters



### B Proportion de neurones des clusters



### C Proportion des clusters par groupe



**Figure 10. Analyse de la composition des clusters de neurones de la PCA1.**

**A)** Histogramme de la proportion de neurones dans chaque cluster. Le cluster α est majoritaire, suivi du cluster γ puis β. **B)** Représentation des proportions de neurones Burstant et Non Burstant chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff » dans chaque cluster. **C)** Représentation des proportions de chaque cluster chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff »

Aucune différence significative n'est observée. Cependant on constate que le cluster α est composé uniquement de neurones non Burstant, alors que les clusters β et γ sont majoritairement composés de neurones Burstant.

En revanche, les neurones burstant représentent plus de 90% des neurones des clusters β ( $n = 25/27$  neurones, 92%) et γ ( $n = 39/42$  neurones, 93%), où ils sont repartis de façon similaire entre les neurones issus des animaux des groupes « Sham » (cluster β :  $n = 9/27$  neurones, 33% ; cluster γ :  $n = 19/42$  neurones, 45%) et « Cuff » (cluster β :  $n = 16/27$  neurones, 59% ; cluster γ :  $n = 20/42$  neurones, 48%). La proportion des neurones issus des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » est donc similaire dans les 3 clusters (**Fig.10 B**), et cette analyse ne permet pas d'identifier un sous-groupe de neurones spécifique à la condition contrôle ou pathologique. Cependant, cette PCA identifie deux sous-populations distinctes de neurones DA de la VTA avec une activité phasique, l'une avec une activité tonique faible et régulière et l'autre avec une activité tonique plus rapide et irrégulière. Elle révèle également une population de neurones sans activité

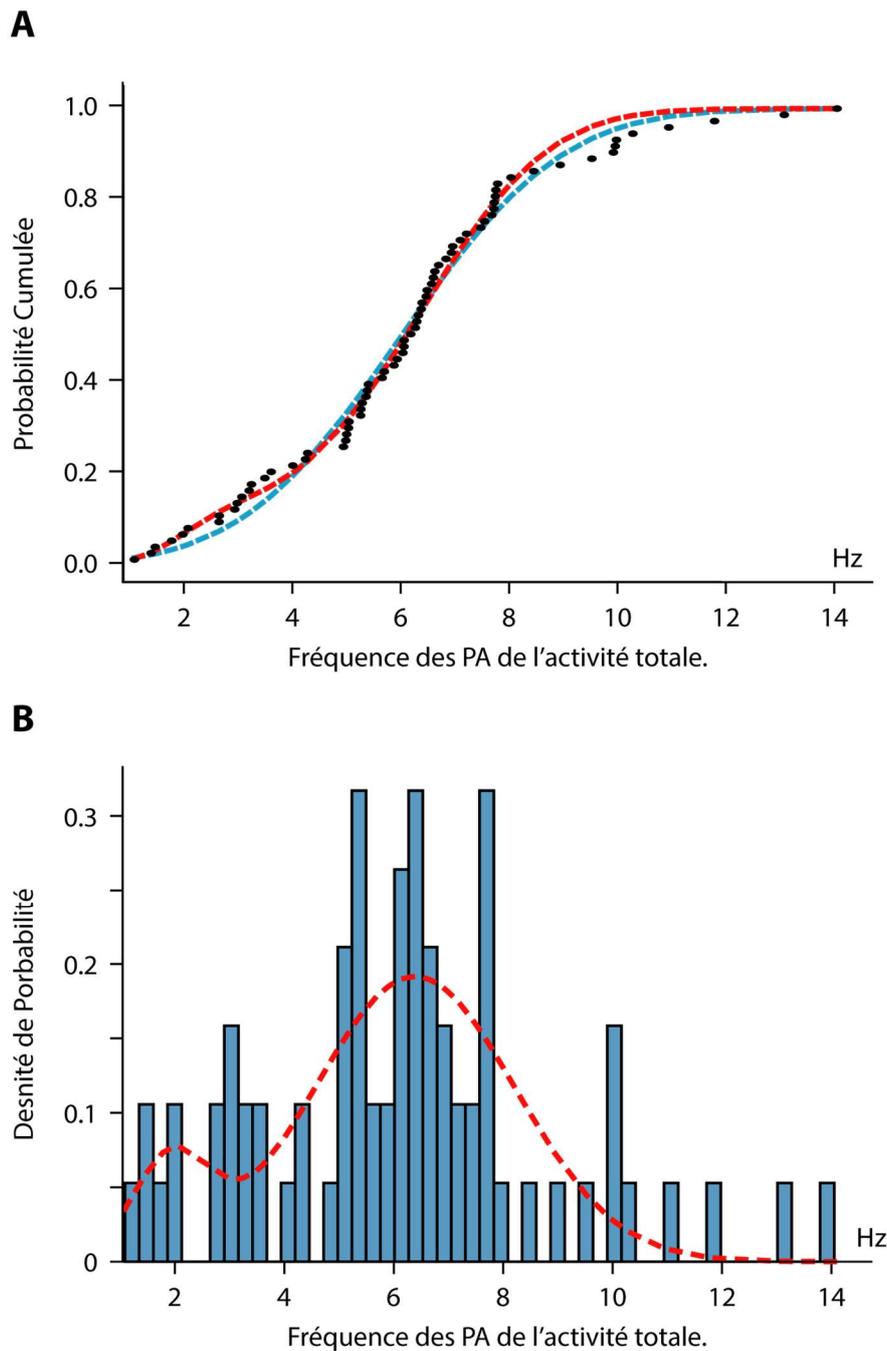
phasique. La caractérisation détaillée des paramètres électrophysiologiques de ces 3 sous-populations est présentée en **Annexes**.

### 1.3. Identification de sous-populations de neurones DA de la VTA en fonction de leurs paramètres électrophysiologiques (Modèle de régression)

Toujours dans le but d'identifier une ou plusieurs sous-populations de neurones DA de la VTA altérées ou émergentes lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression, nous avons ensuite utilisé une méthode d'évaluation de la distribution des paramètres électrophysiologiques. Nous avons comparé la régression d'une modélisation à une population neuronale avec celle d'une modélisation à deux populations neuronales, sur la probabilité cumulée de chaque paramètre électrophysiologique (activité tonique et phasique), et cela séparément pour les neurones des animaux des groupes « Cuff » et « Sham ». Un exemple de modélisation pour le paramètre de fréquence des PA de l'activité totale des neurones du groupe « Cuff » est illustré **Fig.11**. Le modèle à deux populations (**Fig.11 A** : pointillés rouges), décrit significativement mieux la distribution des neurones que le modèle à une population (**Fig.11 A** : ligne pointillée noire) pour ce paramètre. La distribution à deux populations est également illustrée par la densité de probabilité (ligne pointillée rouge) superposée à l'histogramme de la distribution des valeurs de ce paramètre (**Fig.11 B**).

La comparaison entre les neurones des groupes « Sham » et « Cuff » dans l'hypothèse d'une distribution à une population n'est pas reprise ci-dessous car elle correspond en fait aux analyses classiques déjà faites dans les sections 1.2.1 et 1.2.2 précédentes. Seuls les paramètres suivant un modèle à deux populations pour les deux groupes d'animaux sont détaillés ci-après, ce qui est le cas d'une majorité des paramètres de l'activité tonique : fréquence des PA, écart-type des intervalles entre PA (ISI), coefficient de variation (CV) et CV2 pour l'activité totale ; et fréquence des PA, écart-type des ISI et du CV pour l'activité tonique réelle. Pour chacun de ces paramètres, on identifie une population de neurones avec des valeurs « basses » ( $Pop_{basse}$ ) et une avec des valeurs « hautes » ( $Pop_{haute}$ ). Ces populations suivent des distributions gaussiennes et les moyennes, écarts-types et contributions relatives de chacune de ces populations sont présentées dans la **Table.1**.

Pour chacun des paramètres nous avons testé si les distributions des neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » étaient significativement mieux modélisées par l'utilisation d'un modèle à deux populations pour chacun des groupes ou par l'utilisation d'un modèle à deux populations unique pour décrire à la fois les neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». Ces analyses sont présentées dans la **Table.2**. Les sous-populations de neurones détectées par nos modèles sont ainsi différentes entre les animaux contrôles et ceux exprimant la comorbidité douleur-dépression.



**Figure 11. Exemple d'un paramètre suivant une distribution à deux populations : la fréquence des PA de l'activité totale des neurones des animaux du groupe « Sham ».**

**A)** Représentation de la probabilité cumulée des valeurs de la fréquence des PA de l'activité totale. Les points noirs représentent les valeurs pour chaque neurone, la courbe en pointillés bleus la probabilité cumulée estimée par le modèle à une population et la courbe en pointillés rouges la probabilité cumulée estimée par le modèle à deux populations. C'est le modèle à deux populations qui décrit significativement mieux la distribution des valeurs. **B)** Histogramme de la distribution des valeurs de la fréquence des PA de l'activité totale. La courbe rouge correspond à l'estimation de la distribution en 2 populations pour ce paramètre.

## A Résultats de l'évaluation des populations chez les Cuff

Paramètre	Nombre de populations détectées	Moyenne Pop Haute	Ecar-Type Pop Haute	Moyenne Pop Basse	Ecart-Type Pop Basse	Contribution Pop Haute-Basse	Nombre de neurones	pval
Fréquence des PA activité totale	2	6,277	1,452	1,957	0,690	0,850	60	4,06412E-06
Fréquence des PA activité réelle	2	6,256	1,402	2,026	0,667	0,837	60	2,01214E-06
log Ecart-type ISI activité totale	2	-2,503	0,664	-0,676	0,176	0,897	60	2,03828E-06
log CV activité totale	2	-1,540	0,264	-0,433	0,411	0,152	60	1,19526E-06
log Ecart-type ISI activité réelle	2	-2,503	0,666	-0,675	0,159	0,900	60	2,25403E-06
log CV activité réelle	2	-0,475	0,428	-1,576	0,226	0,867	60	4,56925E-06
CV2 activité totale	2	0,703	0,207	0,395	0,159	0,549	60	1,37671E-05
CV2 activité réel	1	0,503	0,191			1,000	60	0,006955714

Paramètre	Nombre de populations détectées	Moyenne Pop Unique	Ecar-Type Pop Unique	Nombre de neurones	pval
log Fréquence des Burst	1	-2,745	1,027	28	0,023835901
log %SIB	1	0,912	1,176	28	0,999999995
Taille des Bursts	1	2,072	0,132	28	0,516145374
Durée des bursts	1	36,400	19,818	28	0,059074034
log Fréquence intraburst	1	3,514	0,772	28	0,001862581
log fréquence instantanée des burst	1	4,063	0,647	28	0,002052717

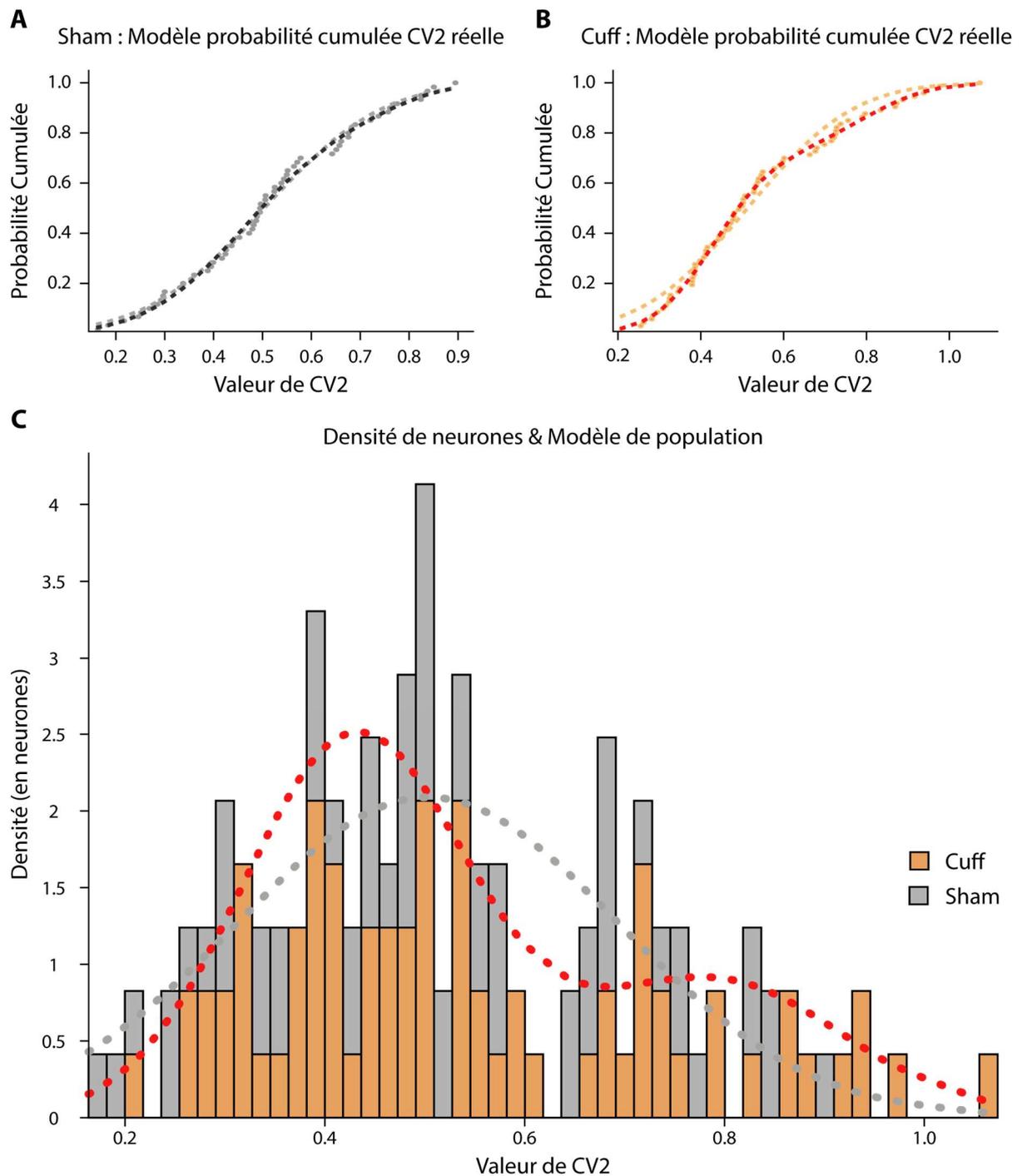
## B Résultats de l'évaluation des populations chez les Cuff

Paramètre	Nombre de populations détectées	Moyenne Pop Haute	Ecar-Type Pop Haute	Moyenne Pop Basse	Ecart-Type Pop Basse	Contribution Pop Haute-Basse	Nombre de neurones	pval
Fréquence des PA activité totale	2	6,388	1,839	1,932	0,705	0,882	73	6,23092E-05
Fréquence des PA activité réelle	2	6,364	1,736	1,933	0,699	0,864	73	3,43584E-06
log Ecart-type ISI activité totale	2	-2,924	0,367	-1,921	0,813	0,380	73	5,43387E-09
log CV activité totale	2	-1,092	0,120	-0,503	0,528	0,100	73	3,88027E-06
log Ecart-type ISI activité réelle	2	-2,954	0,339	-1,953	0,815	0,354	73	3,55978E-09
log CV activité réelle	2	-1,114	0,100	-0,527	0,513	0,101	73	2,05769E-06
CV2 activité totale	2	0,682	0,199	0,409	0,103	0,535	73	6,56847E-10
CV2 activité réel	2	0,431	0,113	0,789	0,129	0,709	73	8,29437E-10

Paramètre	Nombre de population détectée	Moyenne Pop Unique	Ecar-Type Pop Unique	Nombre de neurones	pval
log Fréquence des Burst	1	-2,781	1,824	36	0,000174255
log %SIB	1	0,884	1,724	36	0,001233155
Taille des Bursts	1	2,051	0,111	36	0,628521988
Durée des bursts	1	29,323	21,076	36	0,000148055
log Fréquence intraburst	1	3,654	0,737	36	0,199529964
log fréquence instantanée des burst	1	4,308	0,741	36	0,00827812

**Table 1. Résultats de l'évaluation de populations pour les paramètres électrophysiologiques des neurones des animaux du groupe Sham et du groupe Cuff.**

Ces tableaux représentent le nombre de populations identifiées à l'aide des modèles pour chaque paramètre électrophysiologique. Les valeurs respectives des paramètres de ces modèles sont présentées dans les colonnes suivantes : moyenne et écart-type de chaque population, ainsi que contribution relative. Le nombre de neurones présents dans chaque modèle est disponible dans l'avant-dernière colonne. Enfin, la valeur du test de F entre le modèle à une population et le modèle à deux populations est disponible dans la dernière colonne et les tests significatifs sont identifiés en vert (seuil : 0,0001).



**Figure 12. Le cas particulier de la modélisation du CV2 de l'activité tonique réelle entre les neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».**

**A)** Représentation de la probabilité cumulée des valeurs de CV2 réelle des neurones des animaux du groupe « Sham ». Il n'y a pas de différence significative entre la courbe du modèle à une population (ligne pointillée gris clair) et celle du modèle à deux populations (ligne pointillée gris foncé). C'est donc le modèle à une population qui représente le mieux les valeurs. **B)** Représentation de la probabilité cumulée des valeurs de CV2 réelle des neurones des animaux du groupe « Cuff ». La courbe du modèle à deux populations (ligne pointillée rouge) décrit significativement mieux la probabilité cumulée du CV2 que celle du modèle à une population (ligne pointillée orange). **C)** Représentation des distributions obtenues à l'aide du modèle à une population pour les neurones du groupe « Sham » (ligne pointillée grise) et du modèle à deux populations pour les neurones du groupe « Cuff » (ligne pointillée grise) sur l'histogramme cumulé de la distribution des valeurs de CV2 des animaux des groupes « Sham » (histogramme gris) et « Cuff » (histogramme orange).

Il est important de détailler ici le cas particulier du paramètre CV2 de l'activité tonique réelle, car c'est le seul pour lequel les deux groupes d'animaux suivent des modèles différents. Les valeurs pour les neurones des animaux du groupe « Sham » sont en effet mieux représentées par une seule population (**Fig.12 A** : ligne pointillée grise, histogramme gris), tandis que le modèle à deux populations, l'une ayant une activité tonique plus régulière que l'autre, est plus adapté aux neurones des animaux du groupe « Cuff » (**Fig.12 B** : ligne pointillée rouge, histogramme orange). La régularité de l'activité tonique réelle des neurones DA de la VTA est ainsi différemment distribuée pour les neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » (**Fig.12 C**). Malheureusement, nos méthodes d'analyses ne permettent pas de comparer plus avant ces sous-populations, notamment en raison d'un nombre insuffisant de valeurs.

Paramètre	pval de la comparaison "Cuff" / "Sham"
Fréquence des PA activité totale	1,16E-06
Fréquence des PA activité réelle	3,91E-06
log Ecart-type ISI activité totale	1,1E-07
log CV activité totale	5,2E-12
log Ecart-type ISI activité réelle	5,7E-09
log CV activité réelle	3,5E-11
CV2 activité totale	3,6E-07

**Table 2. Résultats de la comparaison des modèles entre les groupes.**

Résultats des comparaisons de la présence de distributions significativement différentes concernant les neurones des animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».

### 1.3.1. Clustérisation des sous-populations des neurones DA de la VTA en fonction des modèles de régression (Analyse en composante principale 2 PCA2)

L'étape suivante dans l'analyse des modèles à deux populations a été de réaliser une PCA à partir de la chance qu'à chaque neurone d'appartenir à la population basse des divers paramètres. On définit ainsi les «  $C(\text{paramètre})$  », qui représentent la chance de chaque neurone d'appartenir à  $\text{Pop}_{\text{basse}}$  du paramètre considéré et dont les moyennes et écarts types sont détaillés dans la **Table 3**.

La **Fig.13** présente les résultats de cette PCA. L'analyse des contributions aux axes de la PCA montre que les 7 paramètres utilisés et les 3 axes de la PCA contribuent à l'identification de 4 clusters (**Fig.13 A**). Les  $C(\text{Acti Totale})$  et  $C(\text{Acti Réelle})$  contribuent négativement aux trois axes ( $PC1 : -0,32$  et  $-0,35$  ;  $PC2 : -0,42$  et  $-0,45$  ;  $PC3 : -0,34$  et  $-0,35$  respectivement). Les  $C(\log(\text{SD ISI total}))$  et  $C(\log(\text{SD ISI réel}))$  contribuent principalement à l'axe PC1 et très peu à l'axe PC3 ( $PC1 : 0,60$  et  $0,61$  ;  $PC2 : -0,25$  et  $-0,29$  ;  $PC3 : -0,05$  et  $-0,06$  respectivement). Les  $C(\log(\text{CV total}))$  et  $C(\log(\text{CV réel}))$  contribuent principalement et de manière négative à l'axe PC3 et mineurairement aux deux autres axes ( $PC1 : 0,15$  et  $0,14$  ;  $PC2 : 0,06$  et  $0,07$  ;  $PC3 : -0,55$  et  $-0,55$  respectivement). Enfin, la  $C(\log(\text{CV2}))$  participe principalement à l'axe PC2 et de manière négative à l'axe PC3 ( $PC1 : 0,01$  ;  $PC2 : 0,68$  ;  $PC3 : -0,38$ ). En **Fig.13 B.1** sont représentés les vecteurs de contribution de chacun des paramètres. Comme attendu, les paramètres décrivant l'activité totale et l'activité tonique réelle sont proches spatialement. Cela indique que la chance d'appartenir à la population basse pour un paramètre de l'activité totale prédit fortement celle d'appartenir à la population basse pour le paramètre correspondant de l'activité tonique réelle et vice versa.

La distribution des neurones dans l'espace 3D de la PCA est illustrée **Fig.13 B.2**. Nous identifions 4 clusters de neurones A, B, C et D représentés respectivement par des points roses, verts, oranges et bleus. Pour visualiser plus clairement ces clusters, 3 représentations en 2D de la position des neurones selon deux axes de la PCA sont présentées **Fig.13 C**. Le plan PC1-PC2 permet de visualiser facilement le cluster C et un sous-ensemble composé des clusters B et D (**Fig.13 C.1**). Le plan PC2-PC3 ne permet pas de différencier les clusters (**Fig.13 C.2**), par contre le plan PC1-PC3 permet d'identifier les clusters A, B et D (**Fig.13 C.3**).

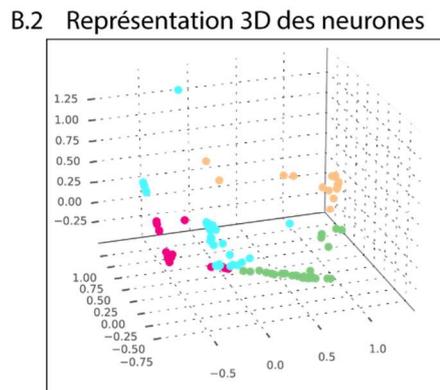
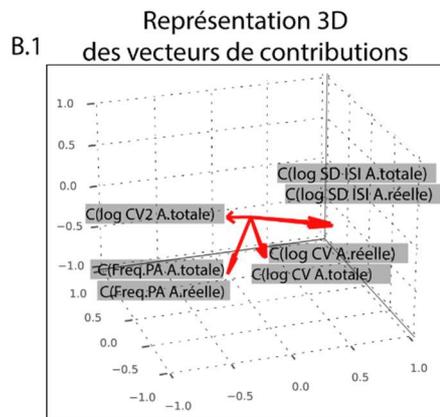
Nous avons ensuite évalué la proportion de neurones dans chaque cluster (**Fig.14 A**). Le cluster A est majoritaire avec 36,1% des neurones ( $n = 48/133$  neurones), suivi des clusters B et D de taille similaire avec 24,8% ( $n = 33/133$  neurones) et 26,3% ( $n = 35/133$  neurones) des neurones respectivement, et enfin le cluster C avec 12,8% ( $n = 17/133$  neurones) des neurones.

### A Contribution au axe

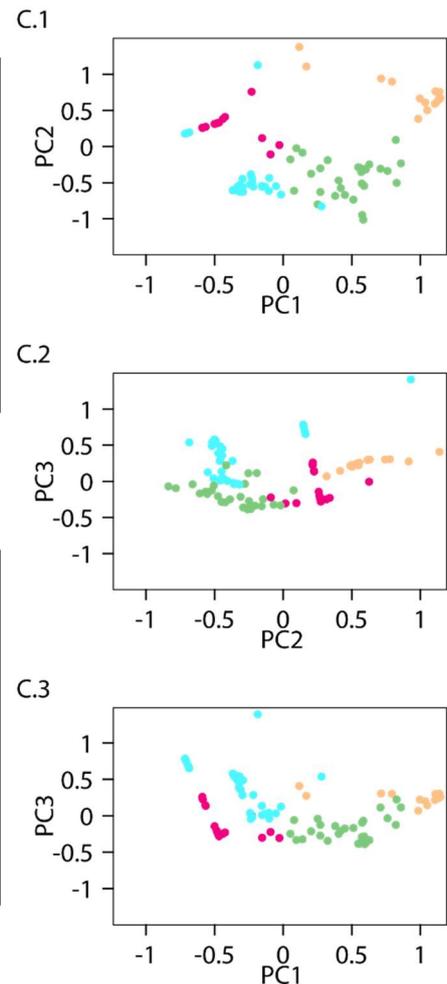
	PC1	PC2	PC3	
	-0.32	-0.42	-0.34	C(Fréq.PA A.totale)
	-0.35	-0.45	-0.35	C(Fréq.PA A.Réelle)
	0.60	-0.25	-0.05	C(log SD ISI A.totale)
	0.61	-0.29	-0.06	C(log SD ISI A.Réelle)
	0.15	0.06	-0.55	C(log CV A.totale)
	0.14	0.07	-0.55	C(log CV A.Réelle)
	0.01	0.68	-0.38	C(log CV2 A.Totale)



### B Représentation 3D



### C Représentation 2D

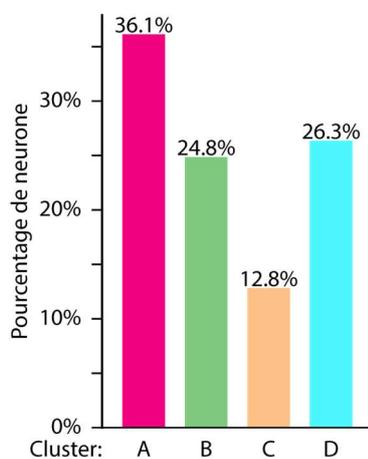


**Figure 13. Résumé de l'analyse en composante principale des chances de population.**

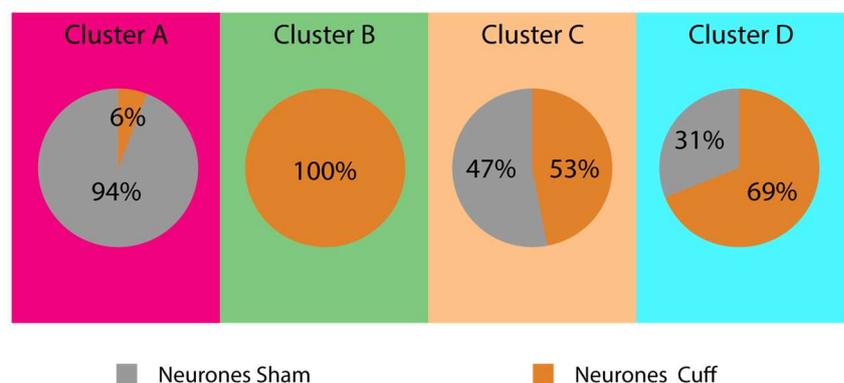
**A)** Représentation en 3D des neurones (A.1) et des vecteurs de contribution principaux (A.2) en fonction des trois axes de PCA. **B)** Représentation sur 2 axes des neurones en fonction des axes PC1-PC2 (B.1), PC2-PC3 (B.2) et PC3-PC1 (B.3). **C)** Représentation de la contribution de chaque chance d'appartenir à la population basse à chaque axe de PCA. Les chances d'appartenir à une population basse pour un paramètre total et réel possèdent des contributions très proches entre elles. En couleur sont représentés les clusters identifiés.

Finalement, cette seconde PCA met en évidence des sous-populations de neurones spécifiques aux animaux des groupes « Sham » et « Cuff » (**Fig.14 B**). Le cluster A est ainsi composé quasi-exclusivement de neurones du groupe « Sham » (*Sham* :  $n = 45$  neurones, 96% ; *Cuff* :  $n = 3$  neurones, 7%), tandis que le cluster B est uniquement composé de neurones du groupe « Cuff » ( $n = 33$  neurones, 100%). Les clusters C et D ne sont par contre pas spécifique à un groupe (*C* : *Sham* :  $n = 8$  neurones, 47% ; *Cuff* :  $n = 9$  neurones 53% ; et *D* : *Sham* :  $n = 6$  neurones, 31% ; *Cuff* :  $n = 29$  neurones, 69%). Ainsi chez des souris exprimant une comorbidité douleur-dépression 8 semaines après l'implantation du manchon, on observe simultanément l'apparition d'une sous-population de neurones DA de la VTA et la disparition d'une autre.

### A Proportion des clusters



### B Proportion des groupes par clusters



#### Figure 14. Caractérisation de la composition des clusters de neurones.

A partir de la PCA réalisée, 4 clusters (A, B, C, et D) ont été identifiés. **A**) Proportion relative de neurones par cluster. Le cluster A représente le cluster majoritaire avec 36,1% ( $n : 48$ ), et C représente le cluster minoritaire avec 12,8% de neurones ( $n : 17$ ). Les clusters B et D possèdent des proportions similaires et représentent respectivement 24,8% et 26,3% des neurones enregistrés ( $n : 33$  et  $n : 35$ ). **B**) Proportion des neurones des groupes « Cuff » et « Sham » dans chaque cluster. Le cluster A est un cluster composé à 94% de neurone du groupe « Sham » alors que le cluster B est spécifique des neurones du groupe « Cuff ». Les clusters C et D sont des clusters mixtes présentant respectivement 47% et 31% de neurones « Sham » ainsi que 53% et 69% de neurones « Cuff ».

### 1.3.2. Activité totale et tonique réelle des sous-populations des neurones DA de la VTA en fonction des clusters de la PCA2

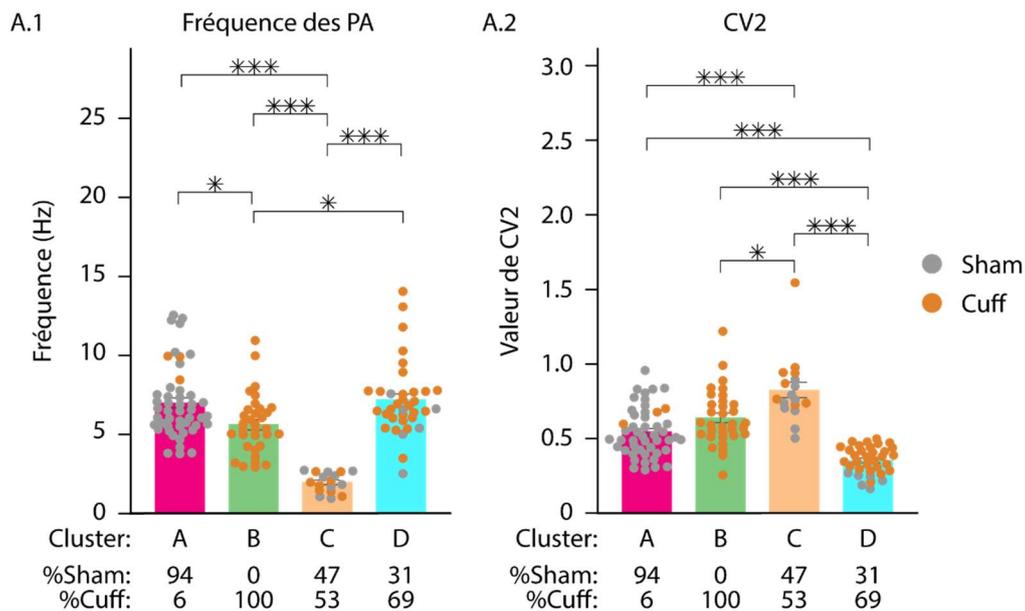
Nous avons ensuite comparé les caractéristiques de l'activité tonique de ces sous-populations neuronales (**Fig.15 A**). Les fréquences de PA de l'activité totale des neurones des clusters A, B, C et D sont différentes ( $F_{(3, 129)} = 8,01, p = 5,22^{e-04}$ ) (**Fig.15 A1**). La fréquence des PA des neurones du cluster B ( $5,63 \pm 0,37$  Hz), spécifique aux animaux du groupe « Cuff », est plus basse que celle du cluster A ( $6,99 \pm 0,37$  Hz,  $p < 0,05$ ), spécifique aux animaux du groupe « Sham », et que celle du cluster D ( $7,19 \pm 0,40$  Hz,  $p < 0,05$ ). Les neurones du cluster C ont une fréquence des PA moyens ( $1,97 \pm 0,157$  Hz) plus basse que celle des 3 autres clusters ( $p < 0,001$ ). La régularité de l'activité totale (CV2) est elle aussi différente entre les clusters ( $F_{(3, 129)} = 6,99, p = 1,31^{e-03}$ ) (**Fig.15 A.2**). Si le CV2 des neurones des clusters A ( $0,55 \pm 0,02$ ) et B ( $0,64 \pm 0,03$ ) sont similaires, les neurones du cluster C ont en revanche une valeur de CV2 plus élevée que celle des autres clusters ( $0,82 \pm 0,06$ , vs A :  $p < 0,001$ , vs B :  $p < 0,05$ , vs D :  $p < 0,001$ ), et ceux du cluster D présentent une valeur de CV2 ( $0,35 \pm 0,02$ ) plus basse que celle les autres clusters ( $p < 0,001$ ).

Conformément aux attentes, on observe également des différences dans les fréquences des PA de l'activité tonique réelle entre clusters ( $F_{(3, 129)} = 6,96, p = 1,39^{e-03}$ ) (**Fig.15 B.1**). Les neurones du cluster B ( $5,53 \pm 0,39$  Hz), spécifique aux animaux du groupe « Cuff », ont une fréquence des PA plus basse que ceux du cluster A ( $6,86 \pm 0,32$  Hz,  $p < 0,05$ ), spécifique aux animaux du groupe « Sham », et que ceux du cluster D ( $7,15 \pm 0,39$  Hz,  $p < 0,001$ ). Comme pour l'activité totale, les neurones du cluster C ont une fréquence des PA de l'activité tonique réelle plus basse que celle des neurones des autres clusters ( $1,90 \pm 0,14$  Hz,  $p < 0,001$ ). Les valeurs de CV2 entre ces clusters de neurones présentent elles aussi des différences ( $F_{(3, 129)} = 3,55, p = 3,17^{e-03}$ ) (**Fig.15 B.2**). Le CV2 des neurones du cluster D est plus bas ( $0,347 \pm 0,015$ ) que celui des trois autres clusters ( $p < 0,001$ ), celui du cluster C ( $0,78 \pm 0,03$ ) est plus élevé que celui des autres clusters ( $p < 0,001$ ), et enfin les neurones du cluster B, spécifique aux animaux du groupe « Cuff », ont une valeur de CV2 plus élevée ( $0,61 \pm 0,03$ ) que ceux du cluster A, spécifique aux animaux du groupe « Sham » ( $0,56 \pm 0,02, p < 0,05$ ).

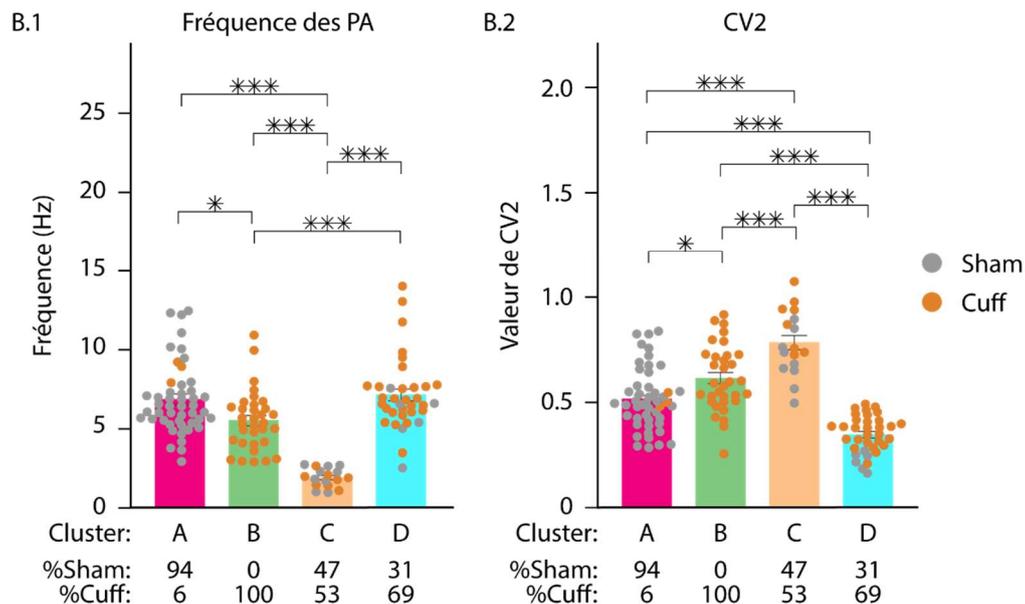
### 1.3.3. Activité phasique des sous-populations des neurones DA de la VTA en fonction des clusters de la PCA2

Les proportions de neurones « burstant » et « non burstant » entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff » pour chaque cluster semblaient visuellement différentes, mais le faible nombre de neurones dû à la division en 16 sous-groupes (cluster x Sham/Cuff x « burstant » / « non burstant ») ne nous a pas permis de réaliser des statistiques et de conclure sur la significativité de ces différences. (Voir **Annexes : Supplément Fig.3**)

## A Activité Totale



## B Activité Réelle

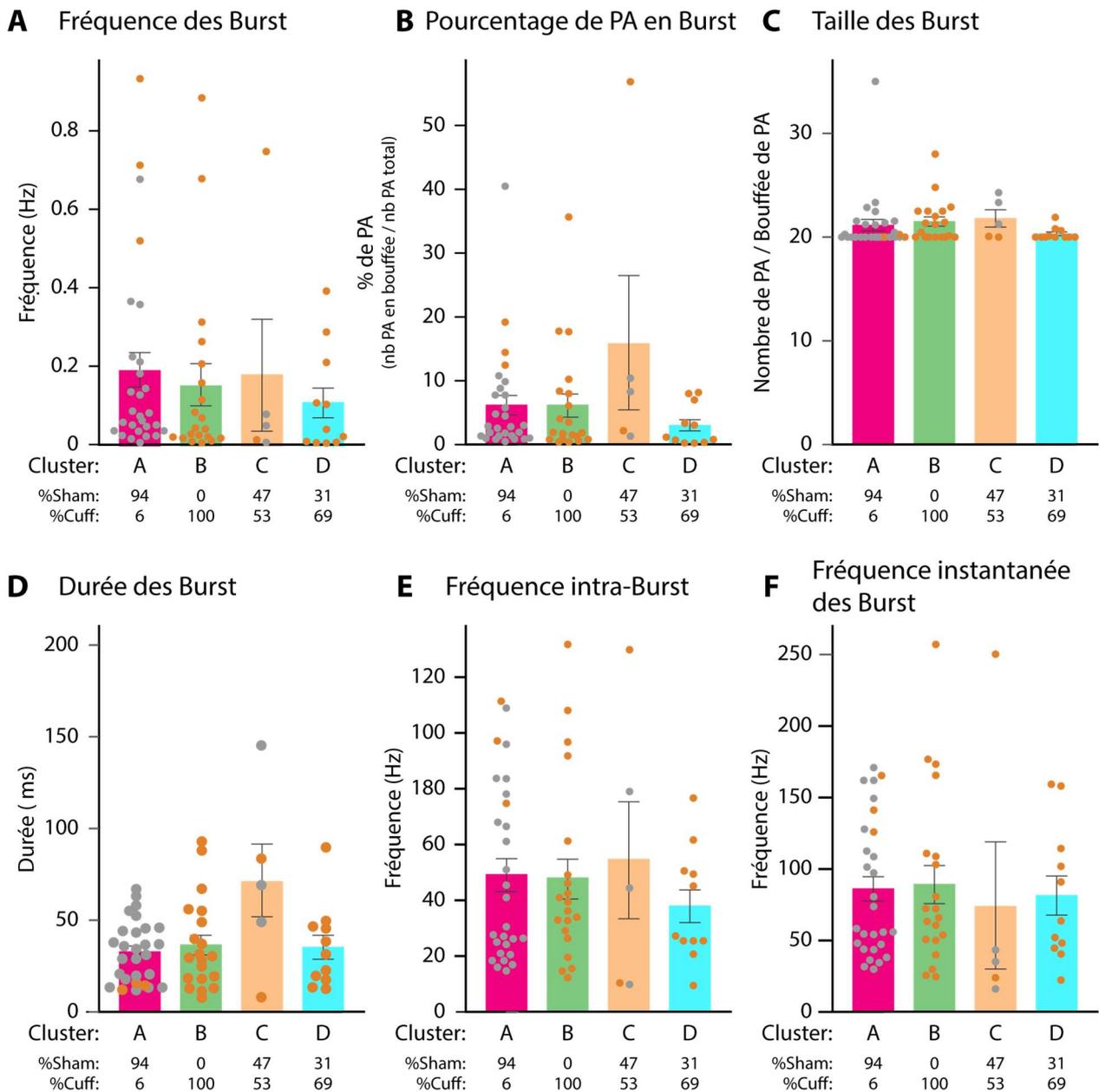


**Figure 15. Caractérisation des paramètres d'activité électrophysiologique des clusters.**

**A)** Description des paramètres de l'activité totale. **A.1)** Histogramme de la fréquence de décharge totale. Le cluster C présente une fréquence de décharge significativement plus basse que l'ensemble des autres clusters. Le cluster B, spécifique aux neurones du groupe « Cuff », montre une fréquence de décharge significativement plus basse que les clusters A et B. **A.2)** Histogramme de la régularité de la fréquence de décharge. Le cluster C et D vont respectivement présenter un CV2 significativement plus élevé et plus faible que l'ensemble des autres clusters. Les clusters A et B ne présentent pas de différence significative. **B)** Description des paramètres de l'activité tonique réelle. **B.1)** Histogramme de la fréquence de décharge tonique réelle. Le cluster C présente une fréquence de décharge significativement plus basse que l'ensemble des autres clusters. Le cluster B présente quant à lui une fréquence de décharge significativement plus basse que les clusters A et D. **B.2)** Histogramme de la régularité de la fréquence de décharge tonique réelle. Les clusters C et D vont respectivement présenter un CV2 significativement plus élevé et plus faible que l'ensemble des autres clusters. Le cluster B montre une valeur de CV2 plus élevée que le cluster A. (\*\*\*)  $p < 0,05$ ; (\*\*)  $p < 0,01$ ; (\*\*\*)  $p < 0,001$ .

Nous avons toutefois pu caractériser les paramètres de l'activité en « burst » des clusters (**Fig.16**). La fréquence des burst (**Fig.16 A**) n'est pas différente entre les neurones des clusters A ( $0,19 \pm 0,05$  Hz), B ( $0,15 \pm 0,05$  Hz), C ( $0,18 \pm 0,14$  Hz) et D ( $0,11 \pm 0,04$  Hz). Il en est de même pour le pourcentage de PA en burst (*cluster A :  $6,10 \pm 1,56\%$  ; B :  $6,10 \pm 1,96\%$  ; C :  $15,74 \pm 10,41\%$  et D :  $2,94 \pm 0,97\%$* ) (**Fig.16 B**), la taille des burst (*cluster A :  $2,11 \pm 0,06$  PA ; B :  $2,15 \pm 0,05$  PA ; C :  $2,18 \pm 0,09$  PA et D :  $2,03 \pm 0,02$  PA*) (**Fig.16 C**), leur durée (*cluster A :  $32,79 \pm 3,17$  ms ; B :  $36,53 \pm 5,50$  ms ; C :  $71,01 \pm 22,50$  ms et D :  $35,17 \pm 6,84$  ms*) (**Fig.16 D**), la fréquence intra-burst (*cluster A :  $49,27 \pm 5,98$  Hz ; B :  $48,05 \pm 7,45$  Hz ; C :  $54,69 \pm 22,71$  Hz et D :  $37,93 \pm 6,10$  Hz*) (**Fig.16 E**) et enfin la fréquence instantanée des burst (*cluster A :  $86,04 \pm 9,04$  Hz ; B :  $89,22 \pm 13,66$  Hz ; C :  $73,73 \pm 44,36$  Hz et D :  $81,43 \pm 14,24$  Hz*) (**Fig.16 F**). Les clusters de neurones, notamment ceux de neurones spécifiques aux animaux « Cuff » et « Sham », ne présentent pas de différence dans leurs activités en burst.

Pour résumer, en condition contrôle, la VTA est constituée de 3 clusters de neurones, une population (cluster C) à faible fréquence des PA et dont l'activité est irrégulière et deux populations avec une fréquence des PA plus élevée, dont une population (cluster D) très régulière. Ces neurones présentent des paramètres de l'activité phasique similaires pour les trois sous-populations. Lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression, 8 semaines après la pause du manchon, la population de neurones à fréquence des PA la plus élevée (cluster A) disparaît au profit d'une nouvelle population de neurones (cluster B) avec une fréquence des PA de l'activité totale et tonique réelle plus faible, mais dont la régularité et les paramètres de l'activité phasique sont similaires à la sous-population qui a disparu.



**Figure 16. Caractérisation des paramètres de l'activité en burst des clusters.**

**A)** Histogramme de la fréquence des burst. **B)** Histogramme du pourcentage de PA en burst. **C)** Histogramme de la taille des burst. **E)** Histogramme de la durée des burst. Le cluster  $\gamma$  présente une durée moyenne des burst significativement plus longue que celle du cluster  $\beta$ . **E-F)** Histogramme de la fréquence intra-burst et de la fréquence instantanée des burst. Aucune différence n'est présente concernant les paramètres de l'activité phasique entre les clusters.

## 2. Expérience 2 : Evaluation des concentrations de dopamine dans la VTA et le NAc.

La présence d'altérations de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA lors l'expression de la comorbidité douleur-dépression suggère des modifications dans la libération de dopamine. Pour explorer cette hypothèse, nous avons utilisé la spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide à haute performance pour mesurer la quantité de dopamine et de ses métabolites, l'acide homovanillique (HVA) et l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC), non seulement dans la VTA, mais aussi dans le NAc, l'un des sites de projection principal des neurones DA de la VTA. Ces mesures ont été réalisées 8 semaines après la chirurgie du cuff, c'est-à-dire lorsque les animaux du groupe « Cuff » expriment la comorbidité douleur-dépression. Le groupe contrôle « Sham » et le groupe test « Cuff » comptent tous deux 14 animaux.

### 2.1.1. Évaluation comportementale de la comorbidité douleur-dépression

#### 2.1.1.1. Évaluation de l'évolution du seuil de sensibilité mécanique

Le suivi du seuil de sensibilité mécanique des animaux par le test des filaments de von Frey (**Fig.17 A**) montre une diminution significative de ce seuil pour la patte ipsilatérale à la chirurgie chez les animaux du groupe « Cuff » ( $1,15 \pm 0,09$  g) par rapport aux animaux du groupe « Sham » ( $2,85 \pm 0,10$  g) (ANOVA à mesures répétées, interaction patte x chirurgie  $F_{(2, 466)} = 37,19$ ,  $p < 10^{-5}$ , post-hoc test de Duncan  $< 0,05$  pour la patte droite de la semaine 1 à 8). Cette diminution indique la présence d'une allodynie mécanique chronique, ipsilatérale à la pause du manchon chez les animaux du groupe « Cuff ». Aucune différence n'est observée concernant les pattes controlatérales à la chirurgie (Cuff :  $2,83 \pm 0,10$  g ; Sham :  $2,88 \pm 0,10$  g).

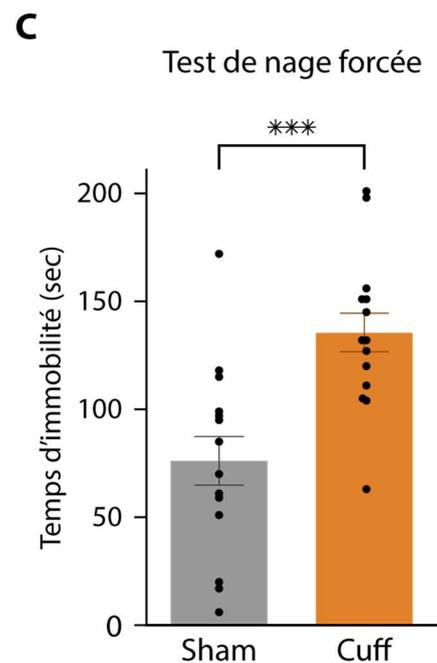
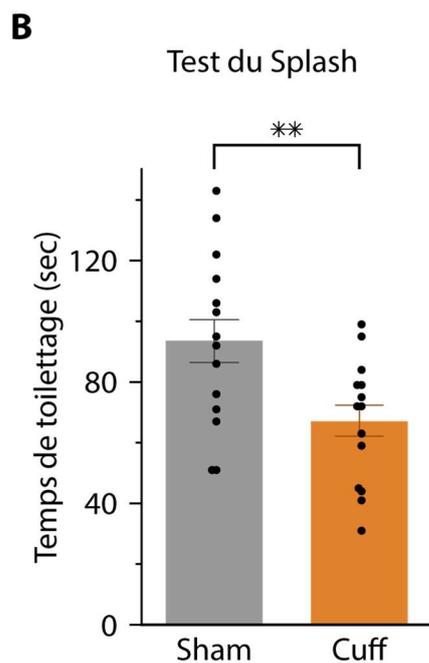
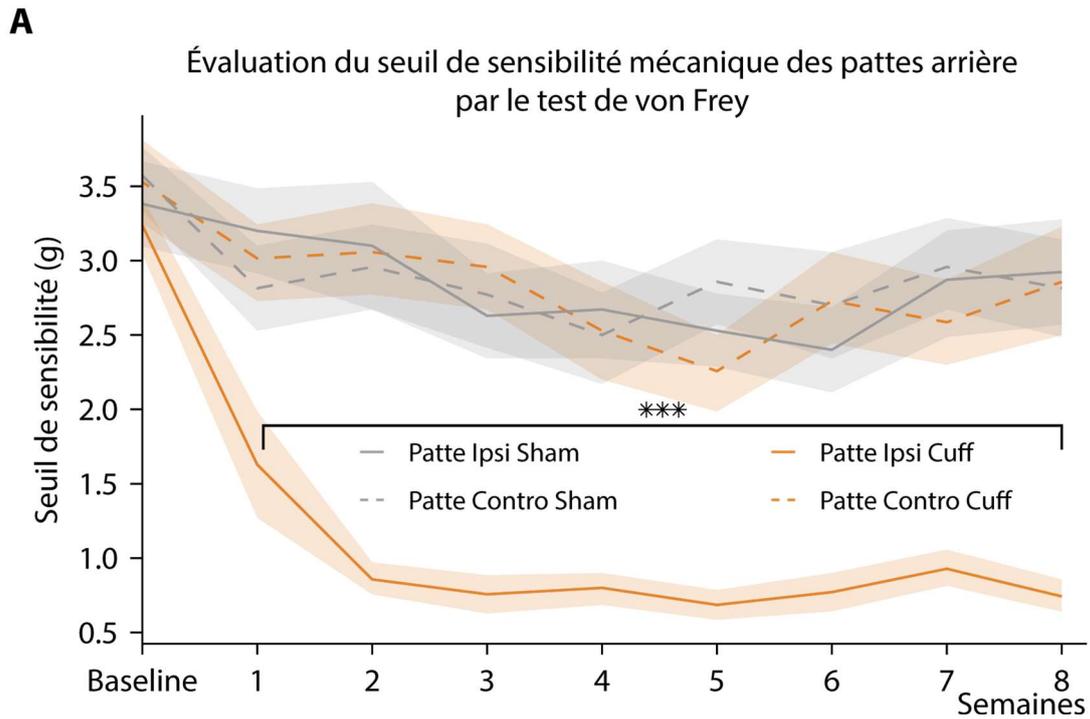
#### 2.1.1.2. Évaluation des comportements de types dépressifs

Sept semaines après la chirurgie du cuff, nous évaluons la présence d'un phénotype de type dépressif chez les animaux grâce au test de pulvérisation d'eau sucrée (Splash) et à celui de nage forcée. Les animaux du groupe « Cuff » ont un temps de toilette ( $67 \pm 5,52$  sec) moindre que ceux du groupe « Sham » ( $93,64 \pm 7,69$  sec,  $mwu : 46,5$ ,  $p = 0,019$ ) (**Fig.17 B**) dans le test de Splash, et un temps d'immobilité plus élevé dans celui de nage forcée (Sham :  $76,07 \pm 12,09$  sec ; Cuff :  $135,43 \pm 9,75$  sec ;  $mwu : 171$ ,  $p = 0,0008$ ) (**Fig.17 C**).

### 2.1.2. Mesure de la concentration de dopamine et de ses métabolites

#### 2.1.2.1. Concentrations dans la VTA

La concentration en dopamine dans la VTA a été mesurée par deux méthodes : la dansylation (dns) et l'AccQTag (qtaq) (**Fig.18 A.1**). Dans les 2 cas, les concentrations de dopamine mesurées sont similaires entre les animaux des groupes « Sham » (dns :  $45,79 \pm 5,92$  pmol/mg protéines ;



**Figure 17. Evaluation comportementale des animaux des procédures de mesure de la concentration de dopamine et de ses métabolites.**

**A)** Représentation graphique du seuil de sensibilité mécanique des pattes arrière des animaux des groupes « Sham » et « Cuff », évalué par le test des filaments de von Frey. Une diminution du seuil de sensibilité mécanique est observée de la 1<sup>ère</sup> à la 8<sup>ème</sup> semaine post-chirurgie chez les animaux du groupe « Cuff » pour la patte ipsilatérale à la chirurgie. **B)** Histogramme du temps de toiletteage observé lors du test de pulvérisation d'eau sucrée 7 semaines après la chirurgie chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». Une diminution significative du temps de toiletteage illustre un phénotype de type dépressif chez les animaux du groupe « Cuff ». **C)** Histogramme du temps d'immobilité lors du test de la nage forcée 7 semaines après la chirurgie chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». Une augmentation significative du temps d'immobilité illustre un phénotype de type dépressif chez les animaux du groupe Cuff. (\*)  $p < 0,05$ ; (\*\*)  $p < 0,01$ ; (\*\*\*)  $p < 0,001$ .

qtaq :  $54,30 \pm 4,92$  pmol/mg protéines) et « Cuff » (dns :  $55,30 \pm 7,66$  pmol/mg protéines ; qtaq :  $62,91 \pm 9,06$  pmol/mg protéines).

Nous avons ensuite mesuré les concentrations de deux métabolites de la dopamine par la méthode de dansylation (dns): aucune différence significative n'a été observée pour la concentration de DOPAC (**Fig.18 A.2**) dans la VTA entre les animaux des groupes « Cuff » ( $56,31 \pm 7,01$  pmol/mg protéines) et « Sham » ( $54,77 \pm 5,14$  pmol/mg protéines), ou pour la concentration en HVA (**Fig.18 A.3**) entre les animaux des groupes « Cuff » ( $92,76 \pm 12,80$  pmol/mg protéines) et « Sham » ( $89,62 \pm 10,98$  pmol/mg protéines).

Ainsi l'expression de la comorbidité douleur-dépression, 8 semaines après l'implantation du manchon, ne change pas les concentrations globales de dopamine et de ses métabolites dans la VTA.

#### 2.1.2.2. Concentrations dans le NAc

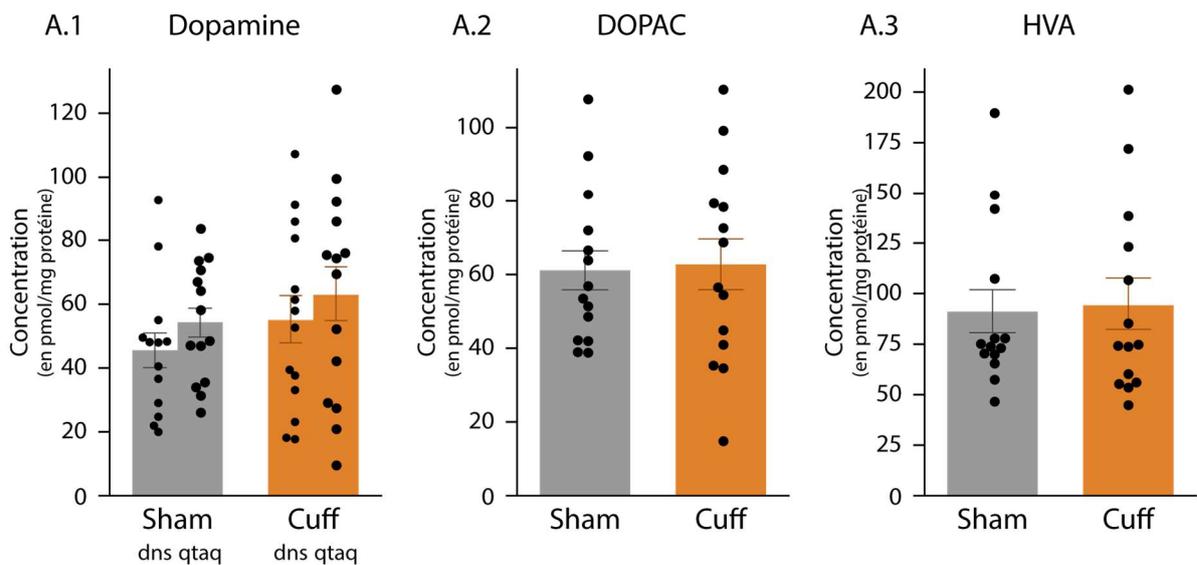
Le NAc étant l'un des sites de projection principale des neurones DA de la VTA, nous avons aussi dosé la quantité de dopamine dans le NAc à l'aide des méthodes dns et qtaq (**Fig.18 B.1**). Comme pour la VTA, aucune différence n'est présente entre les animaux des groupes « Cuff » (dns :  $425,69 \pm 36,80$  pmol/mg protéines ; qtaq :  $462,97 \pm 39,28$  pmol/mg protéines) et « Sham » (dns :  $454,35 \pm 64,15$  pmol/mg protéines ; qtaq :  $512,85 \pm 72,33$  pmol/mg protéines) concernant les concentrations globales en dopamine. Comme attendu, ces concentrations sont largement supérieures à celles dans la VTA, d'un facteur 10 environ, et les méthodes de détection dns et qtaq donnent des résultats comparables.

Nous avons ensuite dosé les métabolites de la dopamine par la méthode dns. Les concentrations en DOPAC dans le NAc sont semblables entre les animaux des groupes « Cuff » ( $323,49 \pm 42,59$  pmol/mg protéines) et « Sham » ( $334,46 \pm 40,34$  pmol/mg protéines) et il en est de même pour l'HVA (Cuff :  $141,96 \pm 9,62$  pmol/mg protéines ; Sham :  $158,80 \pm 17,59$  pmol/mg protéines).

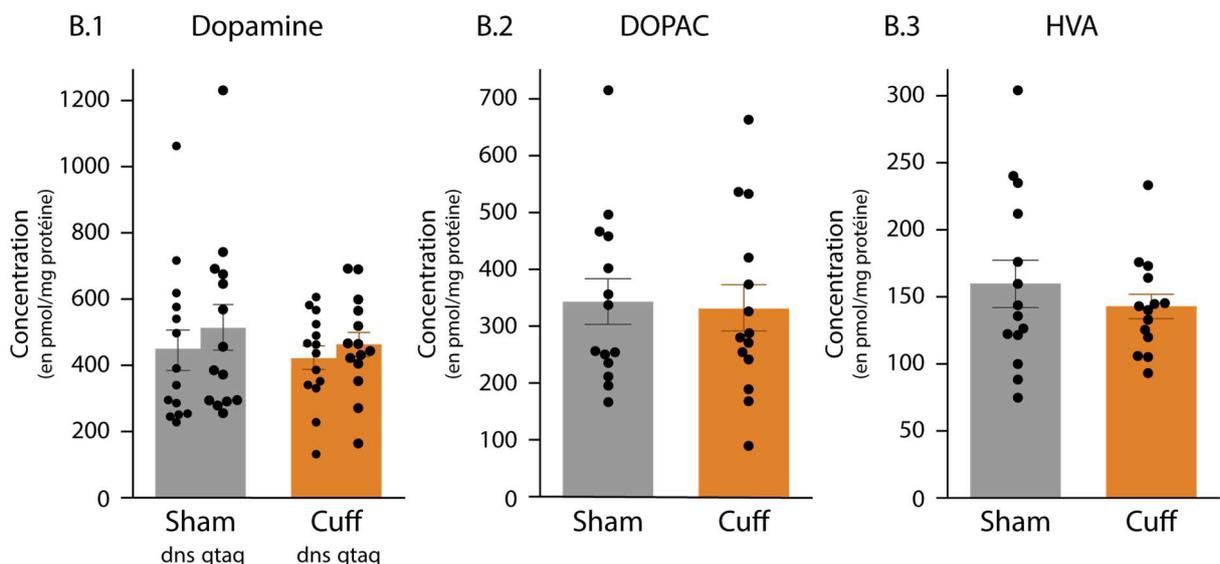
Ainsi l'expression de la comorbidité douleur-dépression, 8 semaines après la chirurgie du cuff, ne change pas non plus les concentrations globales de dopamine ou de ses métabolites dans le NAc.

Les résultats des mesures de la concentration de sérotonine, de l'acide 5-hydroxyindolacétique (5-HIAA), de noradrénaline, du GABA et du glutamate ainsi que les ratios entre les différents métabolites sont disponibles en suppléments (**Supplément Table.1**). Les concentrations de ces neurotransmetteurs ne présentent pas de différence entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff », que ce soit dans la VTA ou le NAc.

## A Aire Tegmentale Ventrale



## B Nucleus Accumbens



**Figure 18. Evaluation de la concentration de dopamine et de ses métabolites.**

**A)** Mesure des concentrations dans la VTA. **A.1)** Histogramme de la concentration de dopamine mesurée par dansylation (dns) ou AccQtag (qtag) chez les animaux des groupe « Sham » et « Cuff ». **A.2)** Histogramme de la concentration de l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». **A.3)** Histogramme de la concentration de l'acide homovanillique (HVA) chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».

**B)** Mesure des concentrations dans le NAc. **B.1)** Histogramme de la concentration de dopamine mesurée par dansylation (dns) ou AccQtag (qtag) chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». **B.2)** Histogramme de la concentration de l'acide 3,4-dihydroxyphénylacétique (DOPAC) chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». **B.3)** Histogramme de la concentration de l'acide homovanillique (HVA) chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ».

Aucune différence n'est présente entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff » pour ces paramètres.

### 3. Expérience 3 : Evaluation de la dynamique de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations de la VTA.

Après avoir étudié les niveaux de base de dopamine dans le NAc, nous nous sommes intéressés à la dynamique de libération en réponse à des stimulations optogénétiques de la VTA. Pour cela, nous avons enregistré par photométrie de fibre les variations de la dynamique du capteur de la dopamine DLight dans le NAc en réponse à des stimulations optogénétiques des neurones DA de la VTA à des fréquences croissantes (10, 20, 30, 40, 50, 60 Hz). Pour suivre l'apparition et le développement de la douleur chronique et de ses conséquences émotionnelles, les enregistrements ont cette fois été réalisés chez la souris éveillée libre de ses mouvements, en débutant une semaine avant la chirurgie du cuff puis en effectuant un enregistrement toutes les 2 semaines pendant 12 semaines. Le groupe contrôle « Sham » comporte 7 animaux et le groupe « Cuff » 6 animaux.

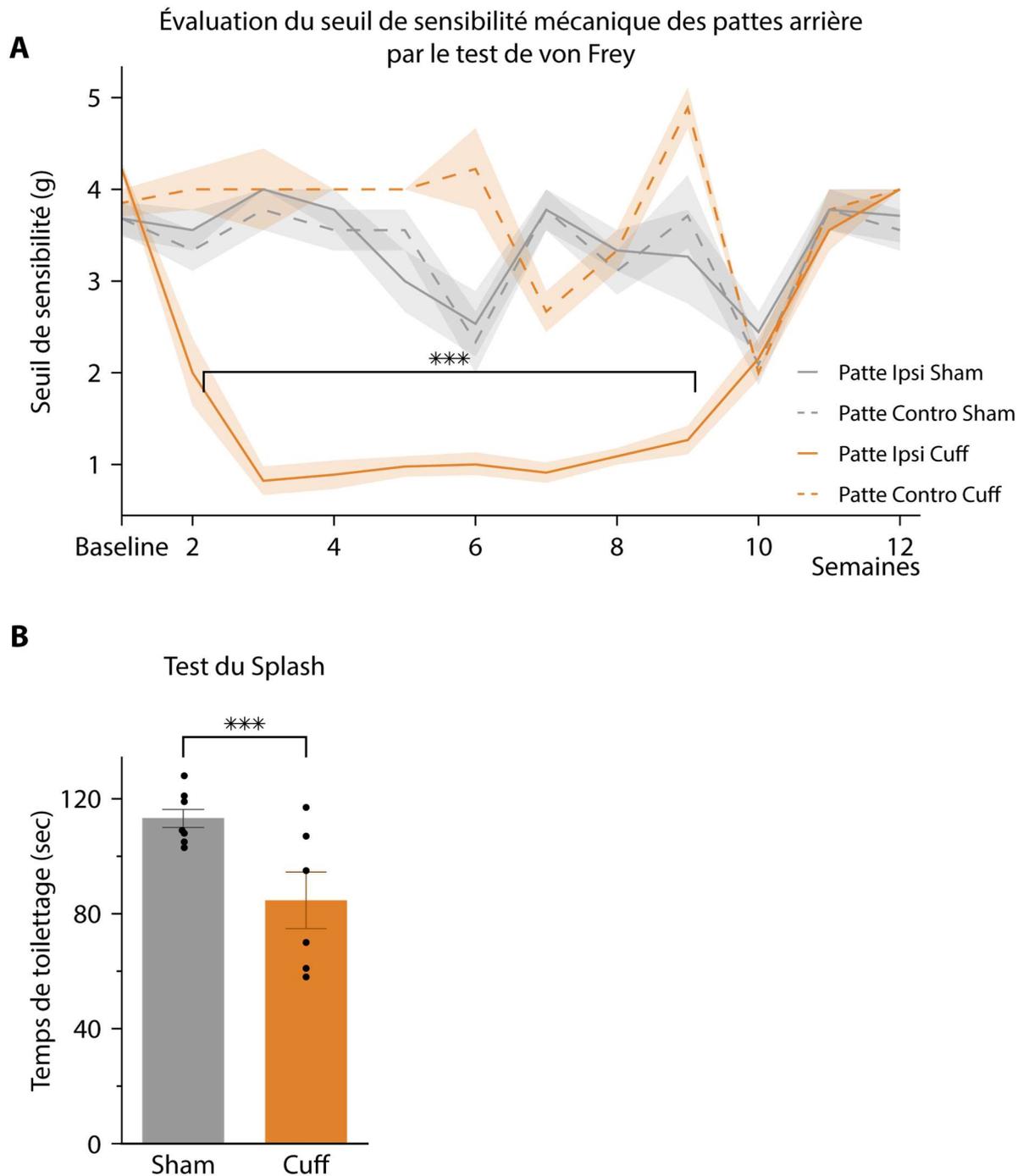
#### 3.1.1. Évaluation comportementale de la comorbidité douleur-dépression

##### 3.1.1.1. Évaluation de l'évolution du seuil de sensibilité mécanique

Pour suivre l'évolution du seuil de sensibilité nociceptive des animaux, un test des filaments de von Frey a été effectué dans la semaine précédant la chirurgie du cuff (baseline), puis une fois par semaine tout au long de l'expérience (12 semaines) (**Fig.19 A**). Nous observons, sur les neuf premières semaines post-chirurgie, un seuil de sensibilité mécanique de la patte ipsilatérale à la chirurgie des animaux du groupe « Cuff » ( $1,90 \pm 0,13$  g) plus bas que chez les animaux du groupe « Sham » ( $3,40 \pm 0,10$  g) (*ANOVA à mesures répétées, interaction temps x chirurgie*  $F_{(22, 382)} = 5,23$ ,  $p < 10^{-5}$ , *post-hoc test de Duncan*  $< 0,05$ ). Cette diminution indique la présence d'une allodynie mécanique chronique, ipsilatérale à la pose du manchon chez les animaux du groupe « Cuff ». À partir de la dixième semaine post-chirurgie, la patte douloureuse des animaux du groupe « Cuff » montre une récupération spontanée conforme aux données classiques du modèle (Yalcin et al., 2011) et aucune différence n'est plus observée à 12 semaines entre les pattes contralatérales à la chirurgie entre les animaux des groupes « Cuff » ( $2,83 \pm 0,10$  g) et « Sham » ( $2,88 \pm 0,10$  g).

##### 3.1.1.2. Évaluation des comportements de types dépressifs

Sept semaines après la chirurgie du cuff, nous avons évalué la présence d'un phénotype de type dépressif à l'aide du test de pulvérisation d'eau sucrée (Splash). Nous observons une diminution du temps de toilettage des animaux du groupe « Cuff » ( $84,67 \pm 10,23$  sec) par rapport à ceux du groupe « Sham » ( $113,29 \pm 3,5$  sec, *mwu* : 6,  $p = 0,035$ ) (**Fig.19 B**).



**Figure 19. Evaluation comportementale des animaux des procédures de mesure de la dynamique de libération de la dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations optogénétiques de la VTA.**

**A)** Représentation graphique du seuil de sensibilité mécanique des pattes arrière des animaux des groupes « Sham » et « Cuff » réalisé par le test des filaments de Von Frey. Une diminution significative du seuil de sensibilité mécanique est observée, de la 1<sup>ère</sup> à la 9<sup>e</sup> semaine post chirurgie, chez les animaux du groupe « Cuff » au niveau des pattes ipsilatérales à la chirurgie par rapport aux pattes controlatérales et par rapport aux deux pattes arrière chez les animaux du groupe « Sham ». A partir de la 10<sup>e</sup> semaine, le seuil de sensibilité des patte ipsilatérale des animaux du groupe « Cuff » ne présente plus de différence significative avec leurs pattes controlatérale ainsi que les pattes arrière des animaux du groupe « Sham » **B)** Histogramme du temps de toilettage observé lors du test de pulvérisation d'eau sucrée 7 semaines après la chirurgie chez les animaux des groupes « Sham » et « Cuff ». Une diminution significative du temps de toilettage illustre un phénotype de type dépressif chez les animaux du groupe « Cuff ». (\*)  $p < 0,05$  ; (\*\*)  $p < 0,01$  ; (\*\*\*)  $p < 0,001$

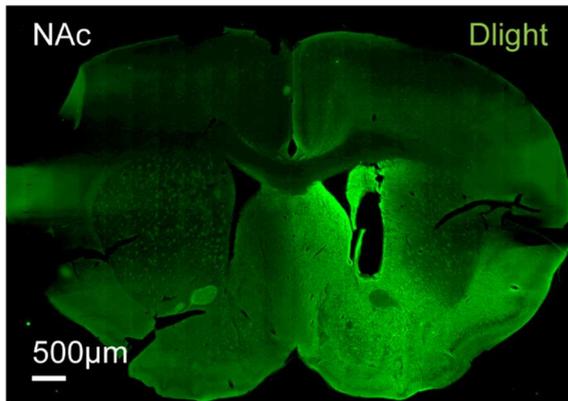
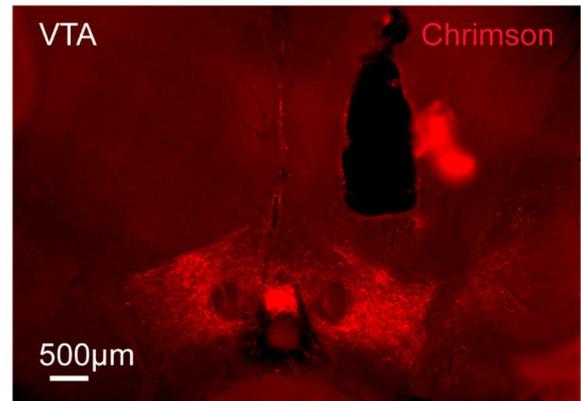
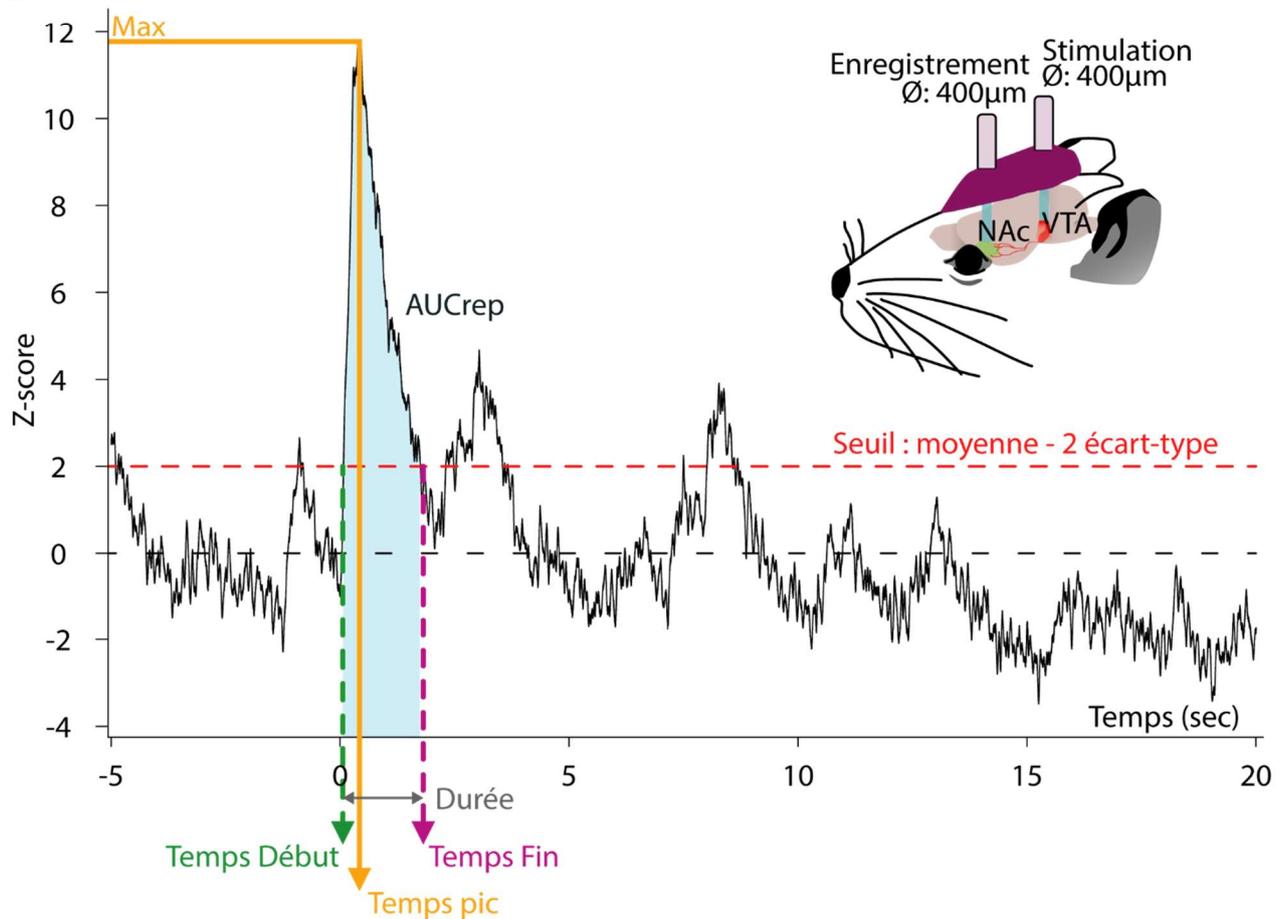
### 3.2. Analyse de la dynamique de libération de dopamine dans le NAc en réponse aux stimulations optogénétiques de la VTA

Les données concernant la libération de dopamine dans le NAc en réponse aux stimulations toniques de la VTA sont acquises mais leurs analyses sont encore en cours de réalisation. Elles ne sont donc pas présentées ici, mais la section qui suit détaille les résultats obtenus et analysés qui concernent les stimulations phasiques.

#### 3.2.1. Effet des différentes fréquences de stimulation de la VTA sur la dynamique de libération de DA dans le NAc après la chirurgie du Cuff

Un contrôle histologique de la localisation de l'expression virale du DLight dans le NAc (**Fig.20 A**) et de la Chrimson dans la VTA (**Fig.20 B**), ainsi que de la position des canules, est effectué pour chaque animal et seuls ceux avec des placements corrects ont été conservés pour les analyses. Pour chaque souris, nous avons réalisé 10 trains de 10 pulses de stimulation optogénétique à différentes fréquences (10, 20, 30, 40, 50, 60 Hz). Dans la majorité des cas, ces trains de stimulation provoquent un pic transitoire dans la dynamique de fluorescence du DLight, correspondant à une augmentation de la libération de dopamine (taux de réponse : entre 60 et 100% selon les fréquences et animaux, sauf à la semaine 12 qui présente un taux de réponse de 40 à 50%). Pour caractériser la cinétique et l'amplitude de ces pics transitoires, plusieurs paramètres ont été définis. Sur l'ensemble des paramètres mesurés (détails dans le paragraphe relatif aux méthodes d'analyses), nous avons concentré nos analyses sur 5 d'entre eux : la valeur maximum du pic (Max, en Z-score), le temps nécessaire pour atteindre ce pic (Temps pic, en sec), celui nécessaire pour atteindre la fin du pic (Fin, en sec), la durée totale du pic (durée entre le Début et la Fin, en sec) et finalement l'aire sous la courbe du pic (AUC). Les point Début et Fin sont définis comme les points temporels pour lesquels le signal va respectivement passer au-dessus et en dessous du seuil de réponse (**Fig.20 C**). Pour chaque semaine et chaque fréquence, nous conservons les 8 premiers trains répondant de chaque animal et les considérons comme des événements indépendants.

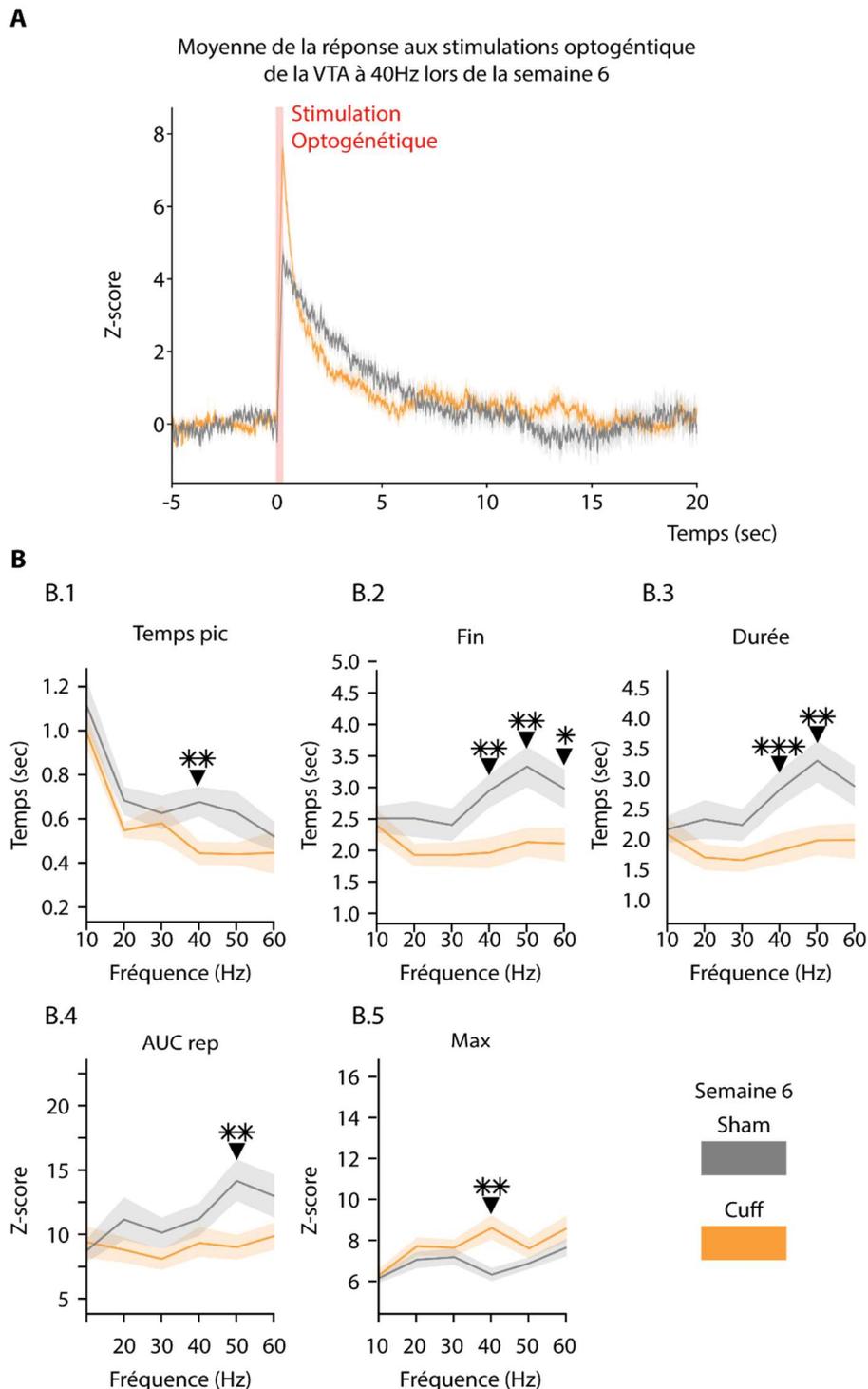
(De manière générale, chez les souris « Sham » et « Cuff » et à chaque semaine, nous observons un effet de type « dose-réponse » avec l'accroissement des fréquences de stimulation. Les réponses sont plus rapides, plus longues et leur amplitude (Max) s'accroît avec l'augmentation des fréquences de stimulation (résultats non illustrés). En outre, les réponses obtenues lors de la première séance de stimulation (Baseline, avant la chirurgie du cuff) ont présenté des pics plus rapides, plus longs et plus importants (Max) que lors des stimulations des semaines suivantes, ce qui sans doute à relier à la réponse DA à la nouveauté classiquement retrouvée dans la littérature (Garris et al., 1999) (résultats non illustrés).

**A****B****C**

**Figure 20. Confirmation de la localisation des enregistrements photométriques et des stimulations optogénétiques.**

**A)** Illustration de l'expression virale du DLight dans le NAc. **B)** Illustration de l'expression de la ChR2 dans la VTA.

**C)** Illustration des paramètres descriptifs d'une réponse. Début et Fin : points temporels de croisement du seuil de réponse ; Durée : temps entre le début et la fin ; Max : valeur de ZScore maximum de la réponse ; Temps pic : temps pour atteindre le Max ;  $AUC_{rep}$  : aire sous la courbe sur la durée de la réponse.



**Figure 21. Analyse de la dynamique de libération du DLight à 6 semaines post-chirurgie.**

**A)** Représentation graphique de la moyenne  $\pm$  sem des signaux des groupes « Cuff » et « Sham » analysés en réponse à une stimulation à 40 Hz. On observe que le signal du groupe « Cuff » présente un maximum de pic plus élevé ainsi qu'un temps de fin plus court que celui du groupe « Sham ». **B)** Représentation graphique des paramètres descriptifs des réponses en fonction des fréquences des stimulations. **B.1)** Le temps du pic maximum est plus bas chez les animaux du groupe « Cuff » que chez ceux du groupe « Sham ». **B.2 et B.3)** Le temps de fin de réponse ainsi que la durée de réponse sont plus bas chez les animaux du groupe « Cuff » que chez ceux du groupe « Sham » à 40, 50 et 60 Hz. **B.4)** L'aire sous la courbe (AUC) de la réponse est plus basse chez les animaux du groupe « Cuff » que chez ceux du groupe « Sham ». **B.5)** Une augmentation significative du maximum du pic est observable chez les animaux du groupe « Cuff » à 40 Hz. (\*)  $p < 0,05$  ; (\*\*)  $p < 0,01$  ; (\*\*\*)  $p < 0,001$ .

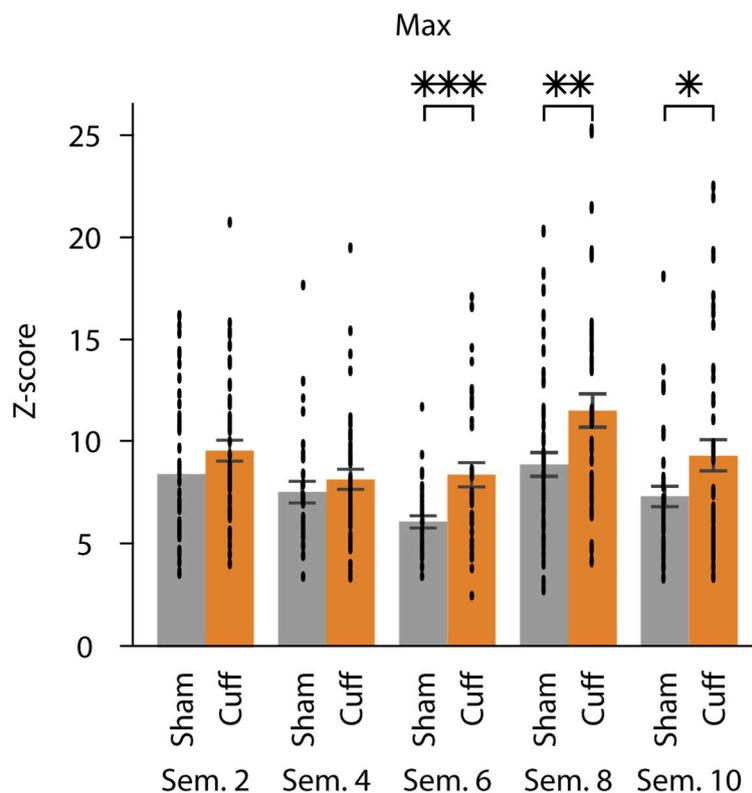
Les principales différences entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff » sont observées à 6 semaines post-chirurgie et pour les stimulations supérieures ou égales à 40 Hz. À ce point temporel, une diminution de la durée pour atteindre le maximum du pic (Temp pic) est observée à 40 Hz chez les animaux du groupe « Cuff » ( $0,48 \pm 0,05$  sec, 40 reps / 5 animaux) par rapport à ceux du groupe « Sham » ( $0,71 \pm 0,06$  sec, 32 reps / 4 animaux,  $t_{(64,23)} = -2,75$ ,  $p = 0,007$ ) (**Fig.21 B.1**). Le temps de fin de réponse (Fin) est également plus court chez les animaux du groupe « Cuff », à 40, 50 et 60 Hz (40 Hz : Sham :  $3,15 \pm 0,28$  sec, 32 reps / 4 animaux ; Cuff :  $2,09 \pm 0,25$  sec, 40 reps / 5 animaux ;  $t_{(57,88)} = -2,75$ ,  $p = 0,007$ . 50 Hz : Sham :  $3,56 \pm 0,34$  sec, 40 reps / 5 animaux ; Cuff :  $2,27 \pm 0,25$  sec, 48 reps / 6 animaux ;  $t_{(85,21)} = -3,08$ ,  $p = 0,003$ . 60 Hz : Sham :  $3,18 \pm 0,36$  sec, 48 reps / 6 animaux ; Cuff :  $2,25 \pm 0,29$  sec, 40 reps / 5 animaux ;  $t_{(77,87)} = -2,05$ ,  $p = 0,04$ ) (**Fig.21 B.2**). La durée de la réponse (Durée), qui est directement liée au temps de Fin, est donc aussi réduite chez les animaux du groupe « Cuff » à 40 et 50 Hz (40 Hz : Sham :  $2,99 \pm 0,29$  sec, 32 reps / 4 animaux ; Cuff :  $1,98 \pm 0,26$  sec, 40 reps / 5 animaux ;  $t_{(57,19)} = -2,56$ ,  $p = 0,013$ . 50 Hz : Sham :  $3,46 \pm 0,35$  sec, 40 reps / 5 animaux ; Cuff :  $2,15 \pm 0,25$  sec, 48 reps / 6 animaux ;  $t_{(85,06)} = -3,11$ ,  $p = 0,002$ ) (**Fig.21 B.3**). L'AUC de la réponse diminue également, mais uniquement à 50 Hz, chez les animaux du groupe « Cuff » ( $8,70 \pm 0,95$ , 48 reps / 6 animaux) comparés à ceux du groupe « Sham » ( $13,58 \pm 1,64$ , 40 reps / 5 animaux,  $t_{(12,14)} = -2,85$ ,  $p = 0,005$ ) (**Fig.21 B.4**). Finalement, de façon surprenante, une augmentation du maximum de la réponse est observée à 40 Hz chez les animaux du groupe « Cuff » ( $8,32 \pm 0,59$ , 48 reps / 6 animaux) par rapport à ceux du groupe « Sham » ( $6,04 \pm 0,31$ , 32 reps / 4 animaux,  $t_{(53,25)} = 3,15$ ,  $p = 0,002$ ) (**Fig.21 B.5**). Pour résumer, à 40 Hz, la réponse apparaît plus tôt et est plus courte mais plus importante (Max) chez les animaux « Cuff » à 6 semaines, et cela sans présenter de changement dans la proportion globale de dopamine libérée (AUC identique). Ceci est clairement visible sur la moyenne des courbes de réponse de dynamique du DLight après stimulation de la VTA à 40 Hz (**Fig.21 A**).

### 3.2.2. Effet du développement temporel de la comorbidité douleur-dépression sur la dynamique de libération de DA dans le NAc en réponse à la stimulation de la VTA à 40 Hz

Les effets majeurs du modèle cuff sur la dynamique de transmission DA débutent à 6 semaines, c'est-à-dire avec l'émergence des conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique, et sont plus particulièrement détectables avec les stimulations à 40 Hz de la VTA. En effet, à cette fréquence, une augmentation significative du maximum du pic (Max) est observée à 6, 8 et 10 semaines chez les animaux du groupe « Cuff » (Sem.6 : Sham :  $6,04 \pm 0,31$ , 32 reps / 4 animaux ; Cuff :  $8,32 \pm 0,59$ , 48 reps / 6 animaux ;  $t_{(75,07)} = 3,15$ ,  $p = 0,002$ . Sem.8 : Sham :  $8,84 \pm 0,59$ , 48 reps / 6 animaux ; Cuff :  $11,47 \pm 0,87$ , 40 reps / 5 animaux ;  $t_{(df)} = 2,56$ ,  $p = 0,012$ . Sem.10 : Sham :  $7,30 \pm 0,51$ , 40 reps / 5 animaux ; Cuff :  $9,27 \pm 0,75$ , 48 reps / 6 animaux ;  $t_{(52,14)} = 2,02$ ,  $p = 0,05$ ) (**Fig.22**). Le temps pour atteindre le pic (Temps pic) et la durée de la réponse (Durée) sont également

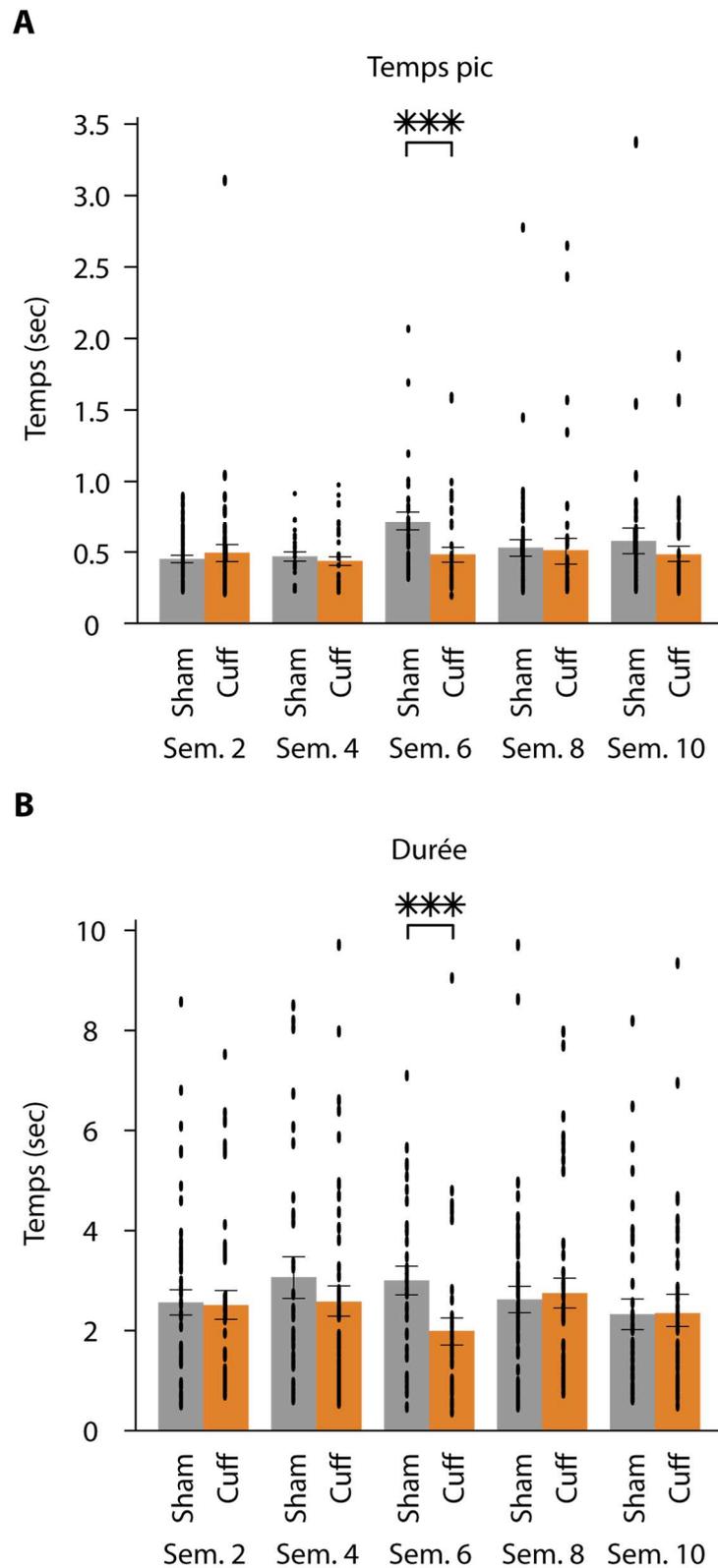
plus courts chez les animaux du groupe « Cuff » lors de stimulation de la VTA à 40 Hz, 6 semaines après la pose du manchon (*cf. paragraphe précédent pour moyennes et statistique*) (Fig.22 A-B).

Ainsi, les animaux du groupe "Cuff" présentent une réactivité accrue de la dynamique de libération de la dopamine qui coïncide temporellement avec la mise en place des conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique et disparaît avec la récupération spontanée de l'hypersensibilité mécanique.



**Figure 22. Evolution du maximum du pic à 40 Hz au cours des semaines post-chirurgie.**

Histogramme du maximum (en Zscore) observé. Une augmentation du pic est présente chez les animaux du groupe « Cuff » à 6, 8 et 10 semaines post-chirurgie. (\*)  $p < 0,05$  ; (\*\*)  $p < 0,01$  ; (\*\*\*)  $p < 0,001$ .



**Figure 23. Evolution du temps de fin et de la durée de la réponse à 40 Hz au cours des semaines post-chirurgie.**

**A)** Histogramme du temps de fin de réponse observée. **B)** Histogramme de la durée de réponse observée. Une diminution du temps et de la durée du pic est présente chez les animaux du groupe « Cuff » à 6 semaines post-chirurgie par rapport aux animaux du groupe « Sham ». (\*)  $p < 0,05$ ; (\*\*)  $p < 0,01$ ; (\*\*\*)  $p < 0,001$

# Discussion

## 1. Résumé des résultats

Afin de mieux comprendre les grandes pathologies de ce siècle, tel que la douleur chronique ou les troubles de l'humeur et d'en proposer des traitements plus efficaces de nombreuses équipes de recherche se sont penchées sur ces leurs mécanismes physiopathologiques. L'implication de la dopamine dans les troubles de l'humeur reste encore aujourd'hui un champ de recherche largement étudié. En revanche, l'implication des voies cérébrales dopaminergiques dans les mécanismes de mise en place et de maintien des douleurs neuropathiques est un axe de recherche qui s'est développé que plus récemment.

Malgré tout, il subsiste encore aujourd'hui une absence de consensus sur les altérations associées à ces pathologies, et ce, notamment, lors de la présence de la comorbidité douleur-dépression. Nous avons émis l'hypothèse que la VTA pourrait être l'un des substrats anatomiques impliqués dans l'expression de cette comorbidité. En effet, par son hétérogénéité neuronale et fonctionnelle, cette région traite à la fois des informations sensorielles et émotionnelles au travers de ses projections vers le NAc ce qui lui permet d'orienter le comportement d'un individu.

Dans ce contexte, ce projet de thèse a pour objectif d'évaluer les altérations électrophysiologiques des neurones DA de la VTA, la mesure des concentrations en neurotransmetteurs dans la VTA et le NAc, et finalement la dynamique de libération de la dopamine dans le NAc lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression.

Pour cela, nous utilisons un modèle de douleur neuropathique, dit du cuff. Ce modèle consiste en l'implantation d'un manchon autour de la branche principale du nerf sciatique. Les souris subissant cette chirurgie sont définies comme appartenant au groupe « Cuff » et le groupe contrôle « Sham » est composé d'animaux subissant une pseudo-opération sans la pose du manchon. Les animaux du groupe « Cuff » montrent une allodynie mécanique, observée par une diminution du seuil de sensibilité mécanique au niveau de la patte arrière ipsilatérale à la chirurgie dans le test de von Frey, immédiatement après la chirurgie et qui perdure jusqu'à 10 semaines post-chirurgie. De plus, à partir de 7 semaines post-chirurgie, les animaux du groupe « Cuff » vont exprimer des comportements de type dépressif, observés par une diminution du temps de toilettage dans le test de pulvérisation d'eau sucrée (Splash test) et une augmentation de l'immobilité dans le test de nage forcée (FST). Ces données sont en accord avec les observations de la littérature (Sellmeijer et al., 2018 ; Yalcin et al., 2011). En effet, les souris sont des animaux qui prennent naturellement soin de leur pelage. La pulvérisation d'une solution collante d'eau sucrée sur leur dos va alors déclencher un comportement de toilettage. La diminution de ce temps de toilettage chez les animaux du groupe « Cuff » peut ainsi être assimilée à une baisse de la motivation d'un animal à prendre soin de lui. Cela pourrait être assimilable à une forme d'apathie, c'est-à-dire un déficit persistant de la

motivation, observable chez certains patients atteints d'EDC qui présentent, eux aussi, une diminution de leur hygiène corporelle. De manière similaire, l'augmentation de l'immobilité dans le test de nage forcée reflète une tendance plus élevée des animaux du groupe « Cuff » à se résigner lorsqu'ils sont exposés à un stress inévitable. Ce comportement peut être mis en parallèle avec des sentiments de désespoir exprimés par les patients dépressifs. Ces deux comportements, associés à l'allodynie mécanique observée dans le test de von Frey, permettent de confirmer l'expression de symptômes douloureux, de type dépressif et donc de la comorbidité douleur-dépression dans le groupe d'animaux « Cuff ».

A l'aide d'enregistrements électrophysiologiques de neurones unitaires chez la souris anesthésiée, nous avons évalué l'activité tonique et phasique des neurones DA de la VTA 8 semaines après la chirurgie du cuff. L'analyse globale des paramètres d'activité tonique et phasique des neurones DA de la VTA ne montre pas d'altérations. Notre analyse en fonction de la localisation anatomique montre une baisse de la fréquence des PA et de la régularité de ces fréquences dans les neurones antérieurs de la VTA des animaux du groupe « Cuff ». L'analyse par régression combinée à une analyse en composante principale (PCA) nous permet de mettre en évidence 4 sous-populations de neurones aussi appelées cluster. Deux sous-populations sont présentes à la fois chez les animaux du groupe « Sham » et « Cuff » : une population de neurones à faible activité peu régulière (cluster C) et une autre population plus active et plus régulière (cluster D). Nous observons une population de neurones presque totalement composée de neurones du groupe « Sham » (cluster A). Ce cluster A présente une activité similaire au cluster D (activité élevée) et une régularité similaire au cluster C (régularité faible). Ce cluster A n'est pas observé chez les animaux du groupe « Cuff ». En revanche, une autre population de neurones (cluster B) est identifiable chez les animaux du groupe « Cuff ». Ce cluster B présente une fréquence de décharge intermédiaire entre la fréquence du cluster D et C, ainsi qu'une régularité similaire au cluster C.

La diminution de la fréquence des PA des neurones DA de la VTA des animaux du groupe « Cuff » pourrait aboutir à une diminution de la concentration de dopamine au niveau des sites de projection. Afin de répondre à cette question, nous avons mesuré la concentration de dopamine et de ses métabolites dans la VTA et le NAc par spectrométrie de masse couplée à la chromatographie liquide haute pression. Aucune modification de la concentration basale de dopamine n'est observée, que ce soit dans la VTA ou le NAc, 8 semaines après l'induction des symptômes douloureux.

Les modifications phasiques et toniques des concentrations de dopamine au niveau des sites de projections des neurones DA encodent des informations différentes (Schultz, 1998). Nous avons supposé que des altérations dans la dynamique de libération de la dopamine dans le NAc pourraient aussi être induites lors du développement et de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. A l'aide d'enregistrements en photométrie de fibre, nous avons mesuré la libération relative de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations optogénétiques de la VTA. On n'observe

aucune différence dans la quantité relative de dopamine libérée entre les animaux des groupes « Sham » et « Cuff », à 6 semaines post-chirurgie, à part lors de stimulations à 50Hz chez les animaux du groupe « Cuff » présentant une diminution de la quantité relative de dopamine libérée. Lors de stimulations à 40 Hz à 6 semaines post-chirurgie, nous observons un pic de libération de dopamine plus rapide et plus important (magnitude du pic plus élevée) chez les animaux du groupe « Cuff ». L'apparition plus précoce de ce pic indique une modification de la synchronisation de la voie VTA-NAc. L'augmentation de la magnitude du pic chez les animaux du groupe « Cuff » est aussi observée à 8 et 10 semaines post-chirurgie.

## 2. Considérations Méthodologiques

L'hétérogénéité des résultats observés à l'aide de différentes approches (comportementale, physiologique et moléculaire) est à mettre en regard des avantages et limites de ses approches, avant d'interpréter la signification biologique des résultats.

### 2.1. Considérations relatives aux animaux

Dans ce projet, nous avons étudié la présence de comportements anxio-dépressifs chez des souris mâles DAT-IRES-CRE. L'utilisation de ces souris transgéniques permet l'expression de protéines de manière spécifique dans les neurones DA. Le choix de l'utilisation de souris mâles uniquement fut décidé en raison de l'absence d'observation de l'expression de comportements de type dépressif chez les souris femelles DAT-IRES-CRE. En effet, lors de l'initiation du projet, 20 souris femelles ont subi la chirurgie du cuff suivie d'une batterie de tests comportementaux (von Frey, test de pulvérisation d'eau sucrée, test de nage forcée, test de clair-obscur, test d'hyponéophagie et test d'enfouissement des billes). Bien que ces souris aient développé une forte hypersensibilité mécanique observable par le test de von Frey, aucun des tests comportementaux réalisés n'a permis de mettre en évidence la présence de comportements de type anxieux ou de type dépressif dans la souche de souris DAT-IRES-CRE (données non montrées). Compte tenu de la prévalence supérieure de l'EDC chez la femme (Lawson et al., 2016 ; Morris et al., 1999), cela est surprenant. De plus, après l'exposition à un modèle de stress léger pendant uniquement 6 jours (sous-chronique), l'activité des neurones DA de la VTA présente une baisse de la fréquence des PA uniquement chez les femelles (Bouarab et al., 2023). Cette différence s'explique par une altération différente de la balance GABAergique-glutamatergique exercée sur les neurones DA de la VTA. Une augmentation uniquement du tonus GABAergiques est observé chez les femelles alors qu'une augmentation des tonus GABAergiques et glutamatergiques est observée chez les mâles. Chez les mâles, la combinaison de ces altérations va normaliser l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA (Bouarab et al., 2023). Les mécanismes à l'origine de l'expression de comportements de type dépressif semblent présenter un dimorphisme sexuel. L'étude des conséquences émotionnelles de la douleur neuropathique chez les femelles est donc un enjeu crucial et pourrait

apporter de nouvelles clefs de compréhension de l'hétérogénéité de l'expression des symptômes dépressifs chez les patients.

L'absence d'expression de comportements de type anxio-dépressif chez les souris femelles DAT-IRES-CRE pourrait s'expliquer par la tendance à des niveaux basaux d'anxiété plus élevés, que ce soit en condition normale ou pathologique, chez les souris DAT-IRES-CRE en comparaison des souris C57/BL6J. Nos données suggèrent que la souche de souris DAT-IRES-CRE présenterait une sensibilité au stress plus importante et ceci indépendamment de leur sexe. Cela est important à prendre en compte, la présence de stress va modifier la réponse comportementale des animaux dans les différents tests. Une étude complète de la comparaison de la sensibilité au stress ainsi que sur les effets du cuff entre ces souches est nécessaire pour conclure de manière certaine. Dans le test de pulvérisation d'eau sucrée, les animaux « stressés » vont montrer une diminution de leur temps de toilettage (Domingues et al., 2022). Cette diminution pourrait être la conséquence de l'augmentation de la locomotion ainsi que des comportements d'enfouissement en réponse au stress par exemple. De plus, la sensibilité accrue au stress pourrait transformer des conditions d'hébergement normal en condition d'hébergement stressante, et donc représenter une forme de modèle (involontaire) de stress chronique non prédictible. Ces points ne sont pas des défauts en soi, mais nécessitent donc de contrôler étroitement l'environnement des animaux afin de limiter les variations de stress entre les expériences et ne pas masquer les conséquences émotionnelles de la douleur chronique.

## 2.2. Considérations relatives à l'évaluation comportementales des animaux

Dans ce projet de thèse, nous avons réalisé l'évaluation comportementale des animaux à l'aide de trois tests : le test de von Frey, le test de pulvérisation d'eau sucrée et le test de nage forcée.

L'utilisation du test de von Frey présente une forte fiabilité, une facilité de mise en place et d'exécution, ainsi qu'une répétabilité le plaçant comme un très bon indicateur de la présence des symptômes des douleurs neuropathiques. Ce test ne va néanmoins permettre d'évaluer qu'un seul symptôme de la douleur neuropathique : l'allodynie mécanique. L'ajout d'autres tests comportementaux pour évaluer les autres composantes de la douleur ne présenterait cependant que peu d'intérêt dans le contexte de ce projet. Notre objectif étant l'étude de la comorbidité douleur-dépression, nous n'avons pas besoin d'évaluer les différentes modalités de la douleur neuropathique, mais sa présence uniquement. De plus, l'ajout de tests nociceptifs supplémentaires augmenterait le stress subi par les animaux, ce qui pourrait de plus perturber l'évaluation des symptômes de type dépressif. Ainsi l'ajout de tests comportementaux présenterait un avantage uniquement pour l'évaluation des comportements de type dépressif.

En effet, l'utilisation d'uniquement deux tests à un seul point temporel ne paraît pas suffisant pour réaliser une évaluation comportementale précise. Le test de pulvérisation d'eau sucrée et le test de

nage forcée vont respectivement évaluer la présence de comportement similaire à l'apathie et au désespoir. Chez l'être humain, la présence de la dépression est caractérisée par une combinaison de plusieurs symptômes et tous ne sont pas nécessairement présents. Ainsi certains animaux, peuvent présenter des comportements de type dépressif qui ne sont pas mis en évidence par ces tests. Afin de mimer ce type d'évaluation, Lammel et collaborateurs ont mis en place une méthode de score de dépression (Cerniauskas et al., 2019) en combinant l'utilisation de trois tests pour évaluer les comportements de type dépressif et d'analyse par régression logistique pour calculer un score allant de 0 à 3 pour chaque souris. Chaque incrément correspond à la présence d'un comportement de type dépressif dans l'un des tests. De manière attendue, après l'exposition au modèle de stress léger chronique, la distribution des scores présente un décalage vers des valeurs élevées (score de 2 ou 3) alors que les animaux contrôles présente des scores entre 0 et 1. Cette méthode montre une puissance descriptive importante, mais nécessite un nombre important d'animaux et de tests comportementaux pour être réalisée. De manière plus simple, si plus de deux tests d'évaluation des comportements de type anxio-dépressif sont réalisés, un score d'émotionnalité pour chaque animal peut alors être réalisé. Ce score correspond à la somme de la valeur en ZScore pour chaque test et va représenter l'état émotionnel général de l'animal, une valeur négative représentant une baisse de l'humeur (Guilloux et al., 2011).

### 2.3. Considérations relatives aux enregistrements électrophysiologiques *in vivo*

#### 2.3.1. Acquisitions des données

La combinaison de l'utilisation d'enregistrements électrophysiologiques de neurones unitaires et de la discrimination optogénétique de neurones DA de la VTA permet de certifier la nature dopaminergique des neurones enregistrés sans nécessiter de vérification immunohistochimique. Cette technique ne permet néanmoins d'enregistrer qu'un seul neurone (et rarement deux) à la fois. Ce point est la fois l'un des points forts de cette technique en permettant de caractériser finement l'activité électrophysiologique des neurones et l'un des points faibles en rendant l'acquisition de donnée relativement lente. Ces points sont notamment importants pour deux raisons :

Bien que nous ayons enregistré plus d'une centaine de neurones, les techniques d'identification de sous populations, notamment l'identification de population par régression, les méthodes de réduction de dimensions et l'algorithme de k-means sont des méthodes d'analyse nécessitant un très grand volume de données pour révéler leur plein potentiel. Une partie de ce volume de donnée est obtenue grâce au grand nombre de paramètres électrophysiologiques mesurable par cette technique, mais le nombre de neurones reste toujours le critère limitant.

De plus, environ 20 à 30% des animaux douloureux chroniques n'ont pas développé de symptômes de types dépressif que ce soit dans le test de pulvérisation d'eau sucrée ou de nage forcée. Ces animaux ont été exclus de l'étude, car trop peu nombreux pour définir un groupe

expérimental suffisamment important. Essayer d'enregistrer les neurones DA de la VTA aurait drastiquement augmenté le nombre total d'animaux nécessaire pour espérer collecter suffisamment d'informations. Il paraît alors extrêmement fastidieux, et difficilement justifiable éthiquement, de caractériser des sous-populations de neurones dans ce groupe d'animaux résilients en utilisant ce type de méthodes d'enregistrement lorsque d'autres techniques sont disponibles.

En effet, l'étude de la présence d'altérations de l'activité des neurones DA de la VTA, et plus particulièrement de sous-populations de ces neurones spécifiquement chez les animaux résilients, est une étape importante, voire nécessaire, pour comprendre le rôle des neurones DA de la VTA dans l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Cela pourrait être réalisé grâce d'autres techniques d'enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones. L'utilisation d'approches multi-unitaires, telle que les tétrodes, permettrait alors l'enregistrement de plusieurs dizaines à centaine de neurones lors d'une seule séance. La contrepartie majeure est la perte de la résolution spatiale offerte par les techniques d'enregistrement unitaire. Les techniques unitaires permettent notamment la localisation anatomique exacte du neurone, lorsque couplée à un marquage juxta cellulaire du neurone enregistré ou à une approximation de la localisation anatomique ( $\sim 100\mu\text{m}$ ) par la technique du point bleu dans notre cas.

### 2.3.2. Méthodes de détections de l'activité phasique

Classiquement, la discrimination des périodes d'activité phasique des neurones DA de la VTA repose sur deux seuils empiriques définis chez le rat par Grace et Bunney. Cette méthode présente l'avantage d'être relativement simple à implémenter. Néanmoins, elle ne permet pas d'identifier de façon fiable les périodes d'activité phasique dans le neurone présentant une fréquence d'activité élevée. Pour s'affranchir de ce problème, nous avons pris le parti d'utiliser l'analyse de l'histogramme du logISI afin de définir un seuil adapté à la fréquence de décharge basale du neurone. Cette méthode relativement simple nous permet d'identifier de manière fiable les neurones burstant et non burstant dans notre jeu de données, mais elle présente plusieurs limites :

Tout d'abord, la fiabilité de la détection des pics dans l'histogramme du logarithme des intervalles entre les PA (ISI) peut-être impactés si le neurone présente une activité faible ou si la distribution de ces PA suit une distribution normale biaisée. Dans le premier cas, l'estimation de la distribution à l'aide d'un histogramme ne permettra pas d'évaluer de manière fiable la présence de pics dans l'histogramme. Dans le cas de la présence d'une distribution biaisée, le neurone présente une activité phasique visible par le grand nombre d'ISI à haute fréquence, mais pas de second pic dans sa distribution. Ce type de neurones sera alors détecté comme non-burstant selon cette méthode d'analyse. D'autres techniques de détection de l'activité phasique dérivée de la méthode de Poisson-Surprise Surprise (Cotterill & Eglen, 2019) vont être capables d'identifier l'activité en burst de ces neurones en identifiant les périodes d'ISI dont l'apparition de manière consécutive est peu probable

statistiquement (notion de « surprise » de l'observation de l'occurrence d'un événement). De plus, l'activité des neurones DA de la VTA n'est pas juste composée de l'activité pacemaker et des périodes d'activité phasique, mais aussi de périodes de pause. Ces périodes sont importantes dans les processus d'évaluation de la récompense. (Schultz, 2016) et sont notamment initiées par la synchronisation des afférences GABAergiques sur les neurones DA de la VTA (Paladini & Roeper, 2014). La caractérisation de ces périodes peut être réalisée au travers de la méthode de Robust Gaussian Surprise (Ko et al., 2012). Néanmoins, comme pour toute méthode dérivée des algorithmes de poisson-surprise, un taux élevé de faux positifs va être détecté dans les neurones présentant une faible activité phasique ou une activité tonique uniquement.

L'analyse des paramètres de burst indique que la majorité des neurones burstant enregistrés présentent une taille des burst de deux PA. Cette valeur est surprenante par rapport aux valeurs présentées dans la littérature, les burst présentant une taille aux alentours de trois à quatre PA (Kaufling et al., 2017b ; Naneix et al., 2017). Cela indique qu'il existe un biais dans notre algorithme de détection de burst. En revanche, la fréquence d'occurrence des burst identifiés par notre méthode de détection est similaire à celles retrouvées dans la littérature. (Kaufling et al., 2017b ; Naneix et al., 2017).

Cela suggère que notre algorithme détecte de manière fiable l'entrée en burst des neurones, y compris ceux à haute fréquence, mais possède un biais dans la détection du seuil de sorties des burst. L'utilisation d'une combinaison par l'analyse de l'histogramme du logISI pour la détection de l'entrée en burst, associée à une méthode telle que la Rank-surprise (Cotterill & Eglen, 2019) pour définir la sortie, pourraient être un bon compromis afin de profiter au mieux des forces de ces deux analyses.

### 2.3.3. Apports des méthodes d'analyses multidimensionnelles

Aux vues de la difficulté d'acquisition des données biologiques et notamment la combinaison de l'acquisition de données comportementales associées à des données d'activité neuronale, il est important d'extraire un maximum d'informations de celle-ci.

Le développement au cours des dernières décennies de la science des données a permis de nouvelles façons d'approcher à la fois la manipulation de données complexes, leurs visualisations ainsi que leurs compréhensions. Par exemple, les paramètres d'activités électrophysiologiques évalués sur les neurones ne sont pas des données uni-dimensionnelles : chaque neurone possède de nombreuses caractéristiques à la fois électrophysiologiques (fréquence des PA, tailles des ISI, présence de patron d'activité spécifique...), mais aussi anatomiques (localisation anatomique, entrée, et projection), immunohistochimiques et parfois associées à des variables comportementales (par ex : temps d'immobilité dans le FST). Il est donc important de relier ces

différentes données entre elles afin d'en extraire l'information importante et pertinente biologiquement.

L'un des défis majeurs de ces jeux de données multidimensionnelles provient de l'incapacité de notre esprit à visualiser et comprendre des phénomènes lorsque ceux-ci comportent plus de trois dimensions. C'est ici tout l'intérêt de l'utilisation des approches de réduction de dimension ainsi que des méthodes d'apprentissage supervisées ou non, pour rendre ces données interprétables en prenant l'ensemble des propriétés en compte. Ces méthodes permettant de transformer ces données en une information compréhensible pour notre esprit. Dans ce projet de thèse, nous avons utilisé plusieurs techniques de réduction de dimension qui nous ont permis d'identifier plusieurs sous-populations de neurones. Deux de ces populations de neurones sont altérées lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression et n'étaient pas identifiables en utilisant des approches classiques.

Néanmoins bien que ces approches dérivées des statistiques et des sciences de l'information permettent d'identifier des différences et des informations nouvelles dans les jeux de données, elles ne possèdent pas de sens commun et peuvent alors donner des informations contradictoires ou qui ne possèdent pas de sens physique réel. Par exemple, sans contraindre les modèles de régression, des populations de neurones ayant une fréquence négative peuvent être détectées, ce qui n'est physiquement et biologiquement pas possible. Il est donc nécessaire de toujours remettre en perspective les résultats obtenus avec le contexte biologique, les données de la littérature et la question scientifique adressée afin de ne pas se perdre dans le flux d'informations fournies par ces approches.

### 3. Considérations Scientifiques

Lors de ce projet, nous avons combiné des approches physiologiques et moléculaires afin d'identifier le rôle des neurones DA de la voie VTA, ainsi que la voie VTA-NAc, dans l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Les résultats obtenus montrent des altérations complexes et, à première vue, presque contradictoires si ceux-ci ne sont pas remis dans un contexte plus large.

#### 3.1. Evaluation de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA

Les résultats obtenus à la suite de nos enregistrements de neurones unitaires montrent que les altérations de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA chez les animaux du groupe Cuff sont localisées dans différentes sous-populations anatomiquement distinctes.

En premier lieu, la présence d'altérations dans les neurones antérieurs de la VTA pourrait indiquer des modifications dans le traitement de l'information au niveau de voie spécifique lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Sur la base de la littérature, il a été mis en évidence que la VTA antérieure (aVTA) et postérieure (pVTA) sont fonctionnellement différentes (Sanchez-Catalan et al., 2014) et vont projeter dans différents noyaux du NAc. Ainsi, les neurones DA de la aVTA

projetent de manière préférentielle au cœur et à la coquille latérale du NAc alors que les neurones DA de la pVTA vont principalement cibler la coquille médiale du NAc ainsi que le tubercule olfactif (Beckstead et al., 1979 ; Brog et al., 1993 ; Fallon & Moore, 1978 ; Hasue & Shammah-Lagnado, 2002 ; Nauta et al., 1978b ; Phillipson & Griffiths, 1985).

Les stimulations cérébrales profondes (Deep brain stimulation -DBS) du NAc chez des patients atteints d'EDC vont produire une grande variété d'effets secondaires, allant d'une élévation de l'humeur à l'expression d'anxiété, en fonction du placement des électrodes de stimulation (Machado et al., 2009). Cela montre que le NAc, tout comme la VTA, n'est pas une région homogène et souligne l'importance des différences fonctionnelles de sous-régions du NAc. En condition normale, la majorité des neurones du NAc montre une baisse son d'activité lors de l'obtention d'une récompense (Krause et al., 2010 ; Roitman et al., 2010). Dans le cas où l'obtention de la récompense va être associée à la présence d'un stimulus aversif (par exemple : un choc aux pattes lors de la consommation d'une bille de sucre), la majorité de ces neurones inhibés par l'obtention d'une récompense vont changer de réponse. Ces neurones présentent alors une augmentation de leur activité (Roitman et al., 2010). Ainsi la réponse des neurones du NAc à un même stimulus va être modifiée en fonction des contextes connus et environnants.

Au niveau comportemental, le NAc présente des fonctions différentes entre le cœur et la coquille lors l'apprentissage. La lésion de la coquille du NAc va perturber l'acquisition de préférence de place alors que la lésion du cœur va induire une diminution de l'acquisition de conditionnement aux signaux (Ito et al., 2008b)

La dopamine ne va pas induire d'activation ou d'inhibition de l'activité des neurones épineux moyens (MSN) dans le NAc mais moduler la réponse des MSN aux entrées glutamatergiques et GABAergiques qu'ils reçoivent. Par exemple, la libération de dopamine dans la coquille du NAc va provoquer une augmentation des comportements d'approche vers les stimuli non conditionnés récompensant et une augmentation des comportements d'échappement au danger (Di Chiara et al., 2004 ; Ikemoto, 2007; Ikemoto & Panksepp, 1999 ; Nestler & Carlezon, 2006 ; Pijnenburg & van Rossum, 1973).

Cette action modulatrice de la dopamine est importante lorsqu'elle est remise en contexte avec l'hétérogénéité des réponses obtenues après infusion de différents composés, en fonction de la localisation anatomique. En effet, plusieurs études chez le rongeur montrent que l'inhibition des neurones de la coquille du NAc par des agonistes des récepteurs GABA<sub>A</sub> ou des antagonistes des récepteurs NMDA-AMPA va induire des comportements alimentaires ou des protubérances rythmiques de la langue lors de l'obtention d'eau sucrée (Faure et al., 2010 ; Reynolds & Berridge, 2008 ; Stratford & Kelley, 1999). Ce type de réponse comportementale est associable à des stimuli non conditionnés appétitifs.

De manière opposée, l'inhibition des récepteurs GABA<sub>A</sub> de la partie rostrale de la coquille du NAc par le muscimol induit des comportements appétitifs tels que des comportements alimentaires (Stratford & Kelley, 1999).

En revanche, l'inhibition de la portion caudale de la coquille du NAc par le muscimol va induire des comportements défensifs, tels qu'un enfouissement ou un redressement sur les pattes arrière (Reynolds & Berridge, 2008). Ces comportements sont associables à une forme de réponse négative motivée par la présence d'une menace. Les projections de la VTA vers le cœur et la coquille du NAc pourraient alors moduler de manière différente les réponses aux stimulations des afférences glutamatergiques et GABAergiques dans le NAc.

Par exemple chez le rat après l'apprentissage à s'auto-administré de l'héroïne, la réinstauration de la recherche d'héroïne induite par l'exposition au contexte va être atténuée par l'infusion d'antagonistes des récepteurs D1 dans la coquille du NAc mais restera sans effets dans le cœur du NAc (Bossert et al., 2007).

Le niveau de dopamine dans la coquille module ainsi la réponse comportementale en fonction du contexte, notamment lorsque la valeur prédictive des stimuli conditionnés est importante. Cela permet l'apprentissage de ces stimuli en tant que contexte prédictif d'un résultat (Bossert et al., 2007, 2012 ; Chaudhri et al., 2010 ; M. S. D'Souza et al., 2011 ; Ito et al., 2008b ; Riedel et al., 1997). Le cœur du NAc va quant à lui être impliqué lorsque la valeur prédictive des stimuli conditionnés est faible, notamment lorsqu'il représente un signal lié au contexte. Cela permet alors de sélectionner une réponse comportementale adaptée en fonction des associations déjà connues (Bossert et al., 2007, 2012 ; Chaudhri et al., 2010 ; M. S. D'Souza et al., 2011 ; Ito et al., 2008b ; Riedel et al., 1997). Ainsi, les libérations de dopamine au travers des voies pVTA-coquille du NAc moduleraient l'association entre un stimulus et ses conséquences alors que la voie aVTA-cœur du NAc sélectionnerait le comportement à réaliser en fonction des associations déjà acquises. Une hypothèse est que cette sélection de réponses comportementales pourrait être altérée dans des pathologies telles que l'addiction ou l'EDC, l'individu sélectionnant des réponses comportementales inappropriées par rapport au contexte.

L'un des symptômes caractéristiques de la dépression est l'absence de motivation qui se retrouve aussi chez le rongeur (Yoshida et al., 2021). Cette diminution de la motivation pourrait être associée à la baisse de l'activité des neurones DA de la aVTA lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Cette hypothèse indiquerait une diminution de la motivation pour réaliser une ou des actions sans altérer les processus d'association entre un contexte et les résultats obtenus. Selon ce point de vue, un individu pourrait alors ne pas trouver la motivation à réaliser une action bien qu'il sache qu'elle lui est bénéfique ou agréable, ce type de comportement rappelant certains symptômes de la dépression.

L'identification de cluster de neurones spécifiques aux groupes d'animaux « Cuff » et « Sham » présente une autre vision des altérations des neurones DA de la VTA, mais soutiennent-elles aussi cette idée de distinction des voies VTA-cœur et VTA-coquille du NAc.

Tous d'abord, les neurones du cluster spécifique aux animaux du groupe « Cuff » (cluster B) présentent une diminution d'activité par rapport aux neurones du cluster spécifique aux animaux « Sham » (cluster A). Bien qu'à première vue paradoxale, ces données sont cohérentes avec la diminution d'activité observée lors de l'analyse en fonction de l'axe antéro-postérieur. En effet, le cluster A contient la quasi-totalité des neurones DA antérieurs de la VTA enregistrée chez les animaux du groupe « Sham » (10 neurones sur les 12 neurones antérieurs) et le cluster de neurone B comportent plus de la moitié des neurones DA antérieurs de la VTA enregistrée chez les animaux du groupe « Cuff » (9 neurones sur les 18 neurones antérieurs). Néanmoins, ces neurones antérieurs ne représentent pas plus d'un tiers de la composition en neurones des clusters A et B, avec respectivement 23,80% (10 neurones antérieurs sur 42 neurones du cluster A) et 28,12% (9 neurones antérieurs sur 32 neurones du cluster B) de neurones antérieurs. Ces informations supplémentaires suggèrent que les altérations de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA ne sont pas uniquement localisées dans les neurones antérieurs, mais touchent une population de neurones plus diffuse dans la VTA.

Lorsque nous regardons la distribution anatomique de ces clusters, nous observons que les neurones du cluster A sont plutôt localisés dans la portion médiale et latéro-ventrale de la VTA alors que le cluster B est plutôt localisé dans la portion dorso-médiale. La technique d'enregistrement unitaire de neurones in vivo permettant d'enregistrer uniquement les neurones spontanément actifs, nous pouvons alors émettre l'hypothèse que les neurones de la portion médiale et latéro-ventrale présentent une baisse de leur activité spontanée au profit des neurones dorso-médial lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Les neurones médiaux de la VTA vont projeter principalement au mPFC et à la coquille médiale du NAc alors que les neurones latéraux projettent principalement à la coquille latérale du NAc (Derdeyn et al., 2022 ; Lammel et al., 2012). Il est probable que l'expression de la comorbidité douleur-dépression induise un changement du traitement de l'information dans la VTA vers la voie mésolimbique plutôt que mésocorticale. Ces changements pourraient découler des conséquences de l'hyperactivité de l'habénula latérale (LHb) lors de l'expression de comportement de type dépressif (Caldecott-Hazard et al., 1988), celle-ci projetant de manière différentielle aux neurones médiaux et latéraux de la VTA (Lammel et al., 2012). Néanmoins, lors des séances d'enregistrements électrophysiologiques in vivo, il est difficile de cibler des sous régions spécifiques de la VTA afin d'équilibrer le nombre de neurones enregistrés par cadran anatomique. Cette distribution particulière pourrait provenir d'un biais lors de l'échantillonnage de nos neurones. Ainsi des expériences complémentaires sont à réaliser afin de confirmer l'implication de la voie habénulo-tegmentale, ainsi que le décalage de l'activité des

neurones DA de la VTA de la voie mésocorticale vers la voie mésolimbique. Une partie de ces expériences sont en cours d'analyse et sont détaillées dans la section spécifique à l'étude de la voie habénulo-tegmentale.

### 3.2. Evaluation de la concentration de la dopamine et de ces métabolites dans la VTA et le NAc

L'absence de modification de la concentration de dopamine dans le NAc ou la VTA pourrait sembler contradictoire avec la baisse de la fréquence des PA des neurones DA de la VTA. Néanmoins, il est important de prendre en compte que nous avons mesuré la concentration dans l'ensemble de la VTA ou du NAc, et n'avons pas ciblé les différentes sous-régions discutées précédemment (aVTA vs pVTA et coquille vs cœur du NAc). Cette diminution pourrait alors être présente, mais masquée. Pour vérifier cette hypothèse, la microdissection des sous-régions de la VTA et du NAc serait possible, mais elle se heurte à la quantité de tissu nécessaire pour obtenir une détection fiable des neurotransmetteurs par spectrométrie de masse.

De plus, cela pourrait provenir également du choix du point temporel de la mesure. En effet, une étude sur le modèle du cuff montre une diminution de la concentration de DA à 2 semaines post-chirurgie (Taylor et al., 2014), et les études portant sur les altérations de la libération de dopamine dans d'autres modèles de douleur chronique ciblent aussi les premières semaines (Asaoka et al., 2018 ; Kato et al., 2016). Ces études ciblent donc les phases où la douleur peut encore être considérée comme aiguë et les symptômes anxieux et/ou dépressifs ne sont pas encore présents (Kremer et al., 2021 ; Yalcin et al., 2011b). Dans notre cas, nous avons réalisé nos observations, plus tardivement, lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. L'on pourrait alors supposer que des changements de concentration basale seraient présents lors des phases précoces et pourraient disparaître au fil du temps.

L'analyse à venir de la libération de dopamine en réponse aux stimulations optogénétiques toniques de la VTA nous permettra notamment d'éclaircir ce point, bien que n'évaluant pas la concentration absolue de dopamine. L'intérêt principal de l'approche par photométrie de fibre est l'évaluation de l'ensemble des points temporels à l'aide d'une seule cohorte d'animaux (les enregistrements pouvant être répétés dans le temps sans impacter le comportement de l'animal). Au vu des premiers résultats, les stimulations toniques de la VTA induisent une augmentation dose-dépendante des niveaux relatifs de dopamine dans le NAc en fonction des fréquences de stimulations. Cette augmentation de dopamine semble stable tout au long de la stimulation en présentant un plateau pendant la stimulation. En comparant les aires sous la courbe entre nos animaux du groupe « Sham » et « Cuff » aux différents points temporels, nous pourrions voir le moment où la libération de dopamine basale est altérée lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Cette approche va ainsi permettre d'évaluer non pas la concentration exacte de dopamine, mais la différence de dopamine libérée par rapport à la concentration basale, une

augmentation de l'aire sous la courbe pouvant signifier une libération relative de dopamine en réponse aux stimulations plus importante ou une libération absolue de dopamine identique, mais une concentration basale de dopamine plus basse.

La présence de modifications présynaptiques dans le NAc pourrait être une autre explication de l'absence de modifications de la concentration de dopamine malgré la baisse d'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA. La dopamine est libérée dans le NAc en conséquence de la propagation des PA des neurones DA de la VTA et est modulée par différents récepteurs (Guilloux et al., 2011 ; Mohebi et al., 2023).

Par exemple, dans le modèle du stress chronique léger, une baisse de l'expression des récepteurs D2 associée à une baisse des niveaux de dopamine est observée dans le NAc (Qiao et al., 2020). Cela paraît légèrement contradictoire, les récepteurs D2 participant au mécanisme présynaptique d'auto-inhibition de la libération de dopamine. Néanmoins, les mesures ont été réalisées à peine 1 mois après l'application du premier stress et moins d'une semaine après le dernier. Il se pourrait donc que les altérations observées soient des adaptations en cours de la mise en place de la comorbidité. Dans la même étude, l'inhibition de ces récepteurs va induire une diminution des symptômes de type dépressif en augmentant la concentration de dopamine dans le NAc (Qiao et al., 2020). Ainsi, la baisse de dopamine semble directement liée à l'expression des symptômes de type dépressif. On pourrait ainsi supposer que la baisse de l'expression des récepteurs D2 serait une adaptation à l'exposition au stress. Cette adaptation compenserait, ou du moins en partie, la diminution de la perte d'activité des neurones DA de la VTA observée dans le modèle du cuff.

Les récepteurs sérotoninergiques modulent aussi la libération de dopamine au niveau du NAc. Par exemple, la stimulation des récepteurs 5HT<sub>2C</sub> va induire une inhibition tonique de la libération de dopamine alors que les récepteurs 5HT<sub>3</sub> permettent de faciliter la libération phasique de dopamine en réponse aux drogues (Dremencov et al., 2006 ; Alex & Pehek, 2007). Il se pourrait que des modifications de la concentration de 5-HT ou de la fonction des récepteurs sérotoninergiques dans le NAc compensent la baisse d'activité des neurones DA de la VTA observée dans le modèle du cuff. La première hypothèse semble peu probable. En effet nous n'observons pas d'altération de la sérotonine (5-HT) à 8 semaines dans le modèle du cuff (voir supplément Table.1), même si des altérations de la 5-HT sont observables dans d'autres modèles de dépression (Cao & Li, 2017 ; Muneoka et al., 2020).

### 3.3. Evaluation de la libération de dopamine dans le NAc en réponse à des stimulations optogénétique de la VTA

De manière générale, les résultats obtenus au travers des procédures d'électrophysiologie et de spectrométrie de masse indiquent une absence d'altérations globales de l'activité tonique et

phasique ainsi que de la concentration de dopamine à l'état basal. Cependant, elles ne permettent pas d'étudier les propriétés phasiques de ce système. Ces aspects phasiques de la libération de dopamine sont cruciaux dans les processus d'évaluation de la réponse comportementale d'un animal à un stimulus. En effet, une fois l'association établie entre un signal prédictif (visuel ou auditif) et l'obtention d'une récompense, l'augmentation transitoire de dopamine va indiquer la valeur prédictive de ce signal ou le meilleur comportement à réaliser lors de la présence de plusieurs signaux (Owesson-White et al., 2008 ; Day et al., 2010 ; Saddoris et al., 2015). Nos résultats de photométrie de fibre indiquent une augmentation de la magnitude de la libération de dopamine dans le NAc en réponse aux stimulations à 40Hz de la VTA. Cette augmentation est présente lors de la semaine précédant l'apparition des symptômes dépressifs (semaine 6) et persiste à 8 et 10 semaines post-chirurgie. La stimulation des neurones DA de la VTA étant récompensantes (Pascoli et al., 2015), on pourrait alors supposer que l'augmentation de la magnitude de la réponse observée en photométrie de fibre serait associée à une augmentation de la valeur attribuée à un stimulus récompensant.

Ces résultats semblent paradoxaux avec la baisse d'activité observée dans certaines sous-populations de la VTA. Cette différence pourrait être due au fait que, lors des procédures de photométrie de fibre, nous observons la dynamique de la libération de dopamine au niveau global du NAc. Ce point est important, car la coquille et le cœur du NAc présentent des variations de dopamine différentes tant d'un point de vue temporel que fonctionnel (Saddoris et al., 2015). L'utilisation de technique de voltamétrie cyclique à balayage rapide (FScV) permettrait de mesurer ces variations locales de dopamine, celle-ci possédant une meilleure résolution spatiale en contrepartie d'une résolution temporelle diminuée (FScV = 100ms ; Photométrie de fibre : < 1ms) (Saddoris et al., 2015 ; Cosme et al., 2018 ; Puthongkham & Venton, 2020). De plus, la photométrie de fibre mesure uniquement des variations relatives de dopamine par rapport au niveau basal. Il est donc important de le prendre en considération lors de l'interprétation des résultats. En effet, l'augmentation de la magnitude de réponse pourrait être due à une concentration basale de dopamine plus faible chez les animaux du groupe « Cuff », mais à une concentration de dopamine identique lors du pic. Cette hypothèse semble néanmoins peu probable puisque la concentration basale de dopamine mesurée par spectrométrie de masse à 8 semaines est identique dans nos deux groupes d'animaux. Une mesure à 6 semaines de la concentration de dopamine, par spectrométrie de masse, permettrait de confirmer cette hypothèse. De plus, l'aire sous la courbe étant identique entre nos animaux du groupe « Sham » et « Cuff », la concentration relative de dopamine libérée en réponse aux stimulations à 40 Hz l'est également. Ces deux points pris en compte, la présence de douleur chronique semble donc modifier la manière dont l'information est traitée dans le NAc. Néanmoins la caractérisation exacte de la forme de ces altérations au cours du

temps est difficile pour le moment et nécessite l'inclusion de plus d'animaux au cours des prochains mois.

### 3.4. Perspectives de recherches

L'implication de voie dopaminergique spécifique, telle que la voie VTA-NAc, semble donc être l'un des éléments clés dans la mise en place et l'expression de la comorbidité. Lors de cette thèse, nous avons utilisé des approches complémentaires afin d'évaluer les altérations des sous populations de neurones DA de la VTA ainsi que dans la voie VTA-NAc.

Des études complémentaires étudiant spécifiquement les altérations au niveau des différents sites de projections de la VTA sont néanmoins nécessaires afin d'éclaircir plusieurs points. En particulier, réussir à caractériser les entrées et les sorties sur les neurones des différents clusters ainsi que la présence de marqueurs immunohistochimiques confirmerait l'hypothèse des implications des voies mésocorticale et mésolimbique ainsi qu'ouvriraient plusieurs possibilités de recherche. Tout d'abord, cela permettrait de confirmer l'hypothèse de la différenciation des voies mésolimbique et mésocorticale lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression suggérée par la localisation anatomique des différents clusters de neurones identifiés. Bien que techniquement compliqué à réaliser, il serait alors possible de mettre en évidence un déplacement du traitement de l'information de la voie mésocorticale vers la voie mésolimbique lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. En effet, pour identifier les sites de projection de ces différents clusters, deux choix s'offrent actuellement. Tout d'abord l'enregistrement unitaire de neurone combiné à leur marquage juxta cellulaire. Cette technique très complexe est peu compatible avec le nombre important de neurones nécessaires pour la réalisation des techniques de réduction de dimension par PCA et/ou d'identification des clusters de neurones. La seconde option serait l'utilisation de traceur rétrograde dans différents sites de projection de ces neurones puis d'évaluer leurs propriétés électrophysiologiques *ex vivo*. Bien que plus simple à réaliser, on ne peut néanmoins pas certifier que les caractéristiques électrophysiologiques des neurones DA de la VTA *ex vivo* permettent d'identifier les mêmes sous-populations de neurones. La question de la pertinence et des rôles fonctionnels de ces clusters reste donc encore en suspens. Les sous-populations de neurones identifiés présentant une baisse d'activité chez les animaux exprimant la comorbidité douleur-dépression, la question des effets de l'inhibition ou l'activation spécifique de ces différentes sous populations de neurones DA de la VTA respectivement chez des animaux sains ou exprimant la comorbidité douleur-dépression permettraient de compléter les observations réalisées. Cibler ces clusters de neurones identifiés par nos techniques de PCA ne paraît pas néanmoins possible pour le moment sans identifier un marqueur génétique ou immunohistochimique spécifique de ces neurones. En revanche, moduler spécifiquement les neurones antérieurs et postérieurs de la VTA pourrait être possible, bien que techniquement complexe, grâce au placement judicieux de fine fibre optique combiné à des injections de vecteurs viraux de manières extrêmement localisées. Ces

procédures pourraient mettre en évidence un lien causal entre l'activité des neurones DA et l'expression de différents comportements douloureux et de type dépressif.

### 3.5. Implication de la voie habénulo-tegmentale

Enfin, une dernière question se pose: existe-t-il des altérations spécifiques de la VTA en fonction non pas des propriétés électrophysiologiques ou des sorties, mais en fonction des entrées sur les neurones DA ? En effet, les altérations observées dans l'activité des neurones DA pourraient être une conséquence directe de la modification de la balance glutamatergique-GABAergique régulant l'activité de ces neurones.

Dans ce contexte, l'Habénula latérale (LHb) semble être un candidat idéal pour altérer cette balance glutamatergique-GABAergique. La LHb correspond à la portion latérale de l'Habénula, une structure épithalamique localisée à la surface dorso-médiale du thalamus caudal (Aizawa et al., 2012 ; Stephenson-Jones et al., 2012 ; Zahm & Root, 2017).

Cette région est impliquée dans de nombreuses fonctions telles que les processus de récompense et d'aversion, les cycles circadiens et le sommeil, la navigation spatiale, la cognition et les comportements maternels (Hu et al., 2020). En particulier, la LHb est connue pour réagir aux stimuli aversifs (tels que des chocs aux pattes ou à la queue) et aux stimuli émotionnellement négatifs (tels que la contention, privation maternelle, le stress de défaite sociale...) (Benabid & Jeaugey, 1989 ; Carr et al., 1998 ; Chastrette et al., 1991 ; Wirtshafter et al., 1994)

Elle est majoritairement composée de neurones glutamatergiques exprimant VMAT 2 (Aizawa et al., 2012 ; Wagner et al., 2014) ainsi que d'une petite proportion de neurones GABAergiques exprimant GAD2 et Slc6a1(Aizawa et al., 2012 ; Brinschwitz et al., 2010). De plus, plusieurs neuropeptides, tels que la vasopressine, la substance P, la somatostatine et la mélatonine, sont exprimés par ces neurones (Salaberry & Mendoza, 2015 ; Zahm & Root, 2017).

Au niveau électrophysiologique, les stimuli aversifs vont activer les neurones glutamatergiques. De manière similaire, le même effet va apparaître lors de l'omission d'une récompense prédite, alors que la présence de stimuli récompensant va inhiber l'activité des neurones glutamatergiques de la LHb (Matsumoto & Hikosaka, 2007). Les projections principales de ces neurones sont les régions monoaminergiques, dont les neurones DA de la VTA ainsi que les neurones sérotoninergiques des noyaux du Raphé (Herkenham & Nauta, 1979 ; Zahm & Root, 2017). Notamment, la VTA et la LHB sont connectées par deux voies distinctes : la première directe excitatrice, mais minoritaire, va cibler les neurones médiaux de la VTA alors que la seconde voie indirecte inhibitrice est majoritaire et va utiliser la tVTA comme un relai GABAergique (Lammel 2012). Ces projections permettent alors à la LHb de contrôler de manière fine la libération de dopamine pendant l'obtention ou l'omission d'une récompense (Hikosaka, 2010), mais aussi d'encoder la valeur d'un stimulus au travers de son

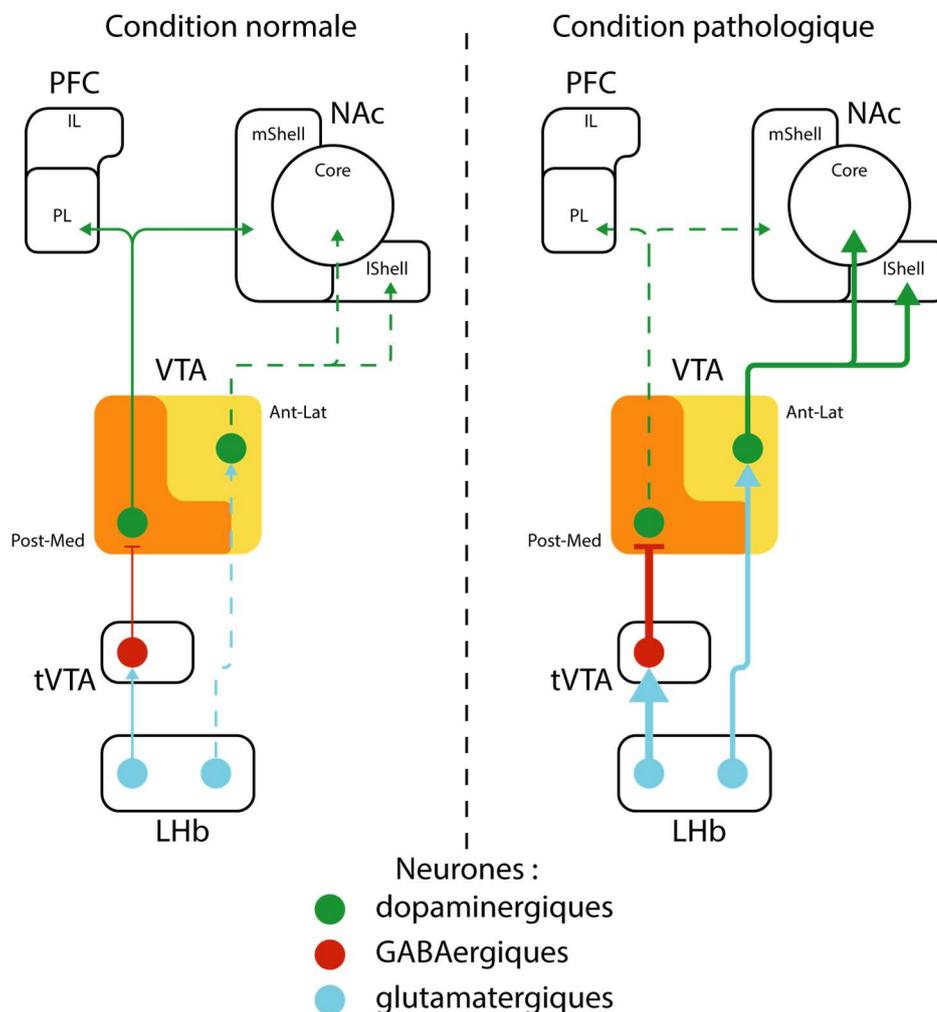
contrôle sur les neurones 5-HT du raphé (Hu et al., 2020). Cela place cette région comme le centre parfait pour contrôler la prise de décision basée sur la récompense (Hu et al., 2020)

L'implication de la LHb dans la dépression fut mise en évidence par l'observation d'une hyperactivité de l'habénula chez les patients (Morris et al., 1999; Lawson et al., 2016) ainsi que l'efficacité des traitements par DBS de la LHb chez des patients résistants aux thérapies classiques (Sartorius et al., 2010 ; Sartorius and Henn, 2007). Cet effet antidépresseur des traitements par DBS de la LHb fut également reproduit chez le rat (Meng et al., 2011) Une hyperactivité de la LHb a aussi mis en en évidence différents modèles de dépression (Caldecott-Hazard et al., 1988). Cette augmentation d'activité semble liée à l'augmentation de la proportion de neurones de la LHb présentant une activité phasique (Han et al., 2015; Seo et al., 2018 ; Yang et al., 2018). Plusieurs études montrent notamment que l'activation des neurones de la LHb induit l'apparition de comportements de type dépressif chez les animaux naïfs alors que leur inhibition induit un effet antidépresseur (Cui et al., 2018 ; Lecca et al., 2016; Li et al., 2013, Yang et al 2018). Cette hyperactivité des neurones pourrait être la conséquence de la dérégulation de la balance GABA-Glutamate exercée par le noyau entopédonculaire sur la LHb en faveur du glutamate (Shabel et al 2014).

Lors de douleurs chroniques, plusieurs études par imagerie montrent une augmentation de l'activité de l'habénula chez le rat (Paulson et al., 2007 ; Paulson et al., 2005) ainsi que chez l'homme (Roiser et al., 2009; Ullsperger & von Cramon, 2003). Des effets spécifiquement sur l'habénula latérale ne peuvent néanmoins être observés, celle-ci possédant une taille inférieure à la résolution spatiale des techniques de fMRI. Chez la souris, dans le modèle de lésion par constriction chronique (CCI), une augmentation de l'activité des neurones de la LHb et de l'expression de CamKII-beta est observée (Li et al., 2017). La lésion de la LHb dans ce modèle va alors induire une diminution de l'hypersensibilité mécanique ainsi que des comportements de type dépressif exprimés par les animaux (Li et al., 2017). De plus, dans un modèle de névralgie trigéminal, l'augmentation de l'excitabilité des neurones de la LHb est corrélée avec l'expression des comportements dépressifs chez la souris (Cui et al., 2020; W.-W. Zhang et al., 2023; Zhuang et al., 2022). L'inhibition des neurones glutamatergiques dans ce modèle provoque une diminution des comportements anxieux ainsi que de l'hypersensibilité mécanique (Cui et al., 2020). En revanche, l'activation de ces neurones glutamatergiques chez l'animal naïf va induire une hypersensibilité mécanique ainsi que des comportements de type dépressif similaires à ceux observés dans le modèle de névralgie trigéminal.

L'ensemble des données publiées ainsi que celles que nous avons obtenues lors de cette thèse nous conduisent à émettre l'hypothèse suivante : l'hyperactivité des neurones de la LHb induirait une diminution de l'activité tonique des neurones DA au niveau global de la VTA.

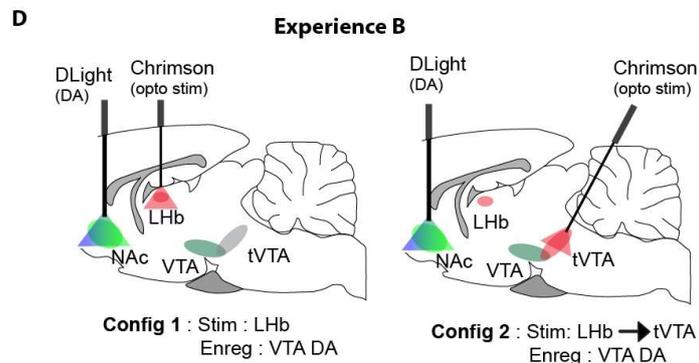
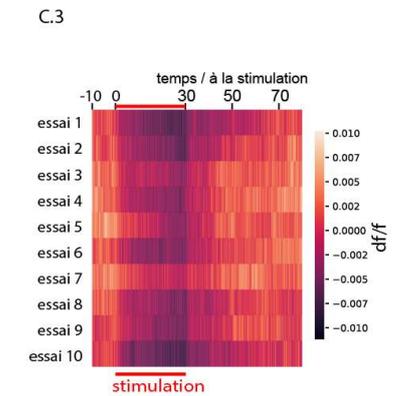
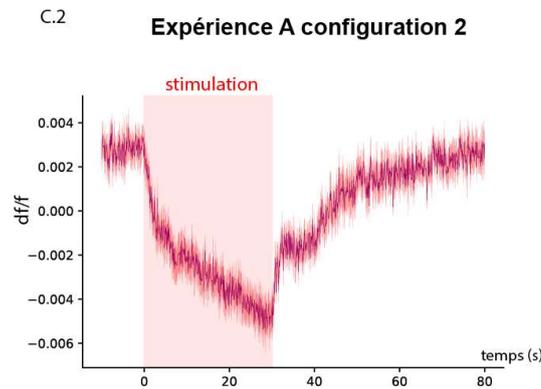
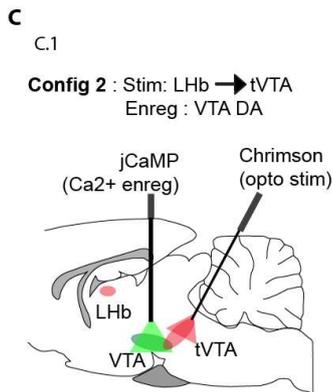
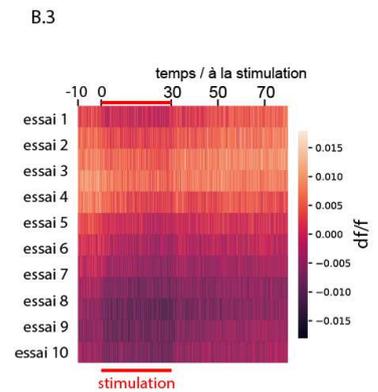
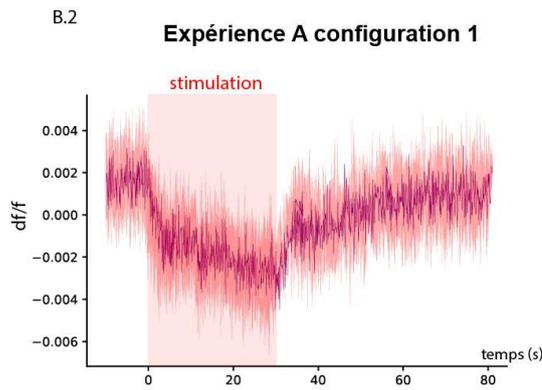
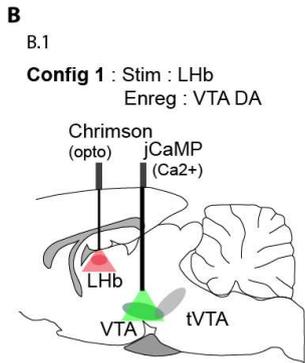
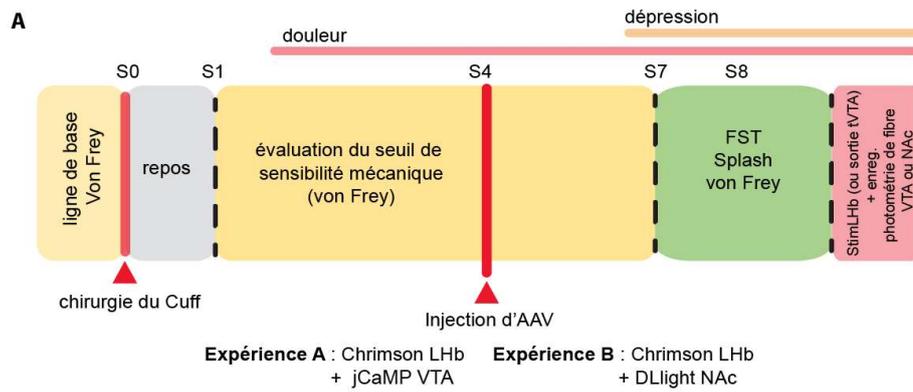
Plus spécifiquement, nous supposons que l'activation de la voie indirecte connectant la LHb à la VTA induit l'inhibition d'une sous-population de neurones DA de la VTA, possiblement localisée dans la portion médiale de la VTA, au travers d'une augmentation du tonus GABAergiques exercé par les neurones GABA de la tVTA. La LHb induirait en parallèle l'activation d'une seconde sous population de neurones DA de la VTA, localisé dans la portion latérale, au travers de l'activation de sa voie directe mineure. Cela pourrait alors expliquer nous observons une diminution de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA, mais pas ou peu de changement de la concentration de dopamine ainsi que de sa libération dans le NAc. En effet, les changements induits par l'activation de la voie indirecte de la voie LHb-VTA cible majoritairement les neurones projetant au mPFC. Une illustration de ce mécanisme est disponible en **Figure.1**



**Figure 1. Illustration des effets potentiels de l'hyperactivité de la LHb sur les voies dopaminergiques mésocorticales et mésolimbiques.**

Abréviations : VTA : aire tegmentale ventrale, tVTA : queue de la VTA, LHb : Habénula latérale, PFC : cortex préfrontal, IL : cortex infralimbique, PL : cortex prélimbique, NAc : Noyaux Accumbens, IShell : coquille latérale du NAc, mShell : coquille médiale du NAc, Core : cœur du NAc.

Afin d'explorer cette hypothèse, nous avons réalisé des stimulations électriques de la LHb lors de nos séances d'enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA. Bien que nous ayons pu enregistrer plusieurs réponses confirmant la présence d'une voie directe excitatrice et d'une voie indirecte inhibitrice sur les neurones DA de la VTA, la difficulté de réalisation de ces enregistrements ne nous a pas permis de collecter assez de données pour réaliser une comparaison fiable entre les neurones des animaux du groupe « Cuff » et « Sham ». Afin de pallier ce problème, et évaluer les altérations dans la voie habénulo-tegmentale lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression, nous avons réalisé une première série d'enregistrements par photométrie de fibre de la réponse calcique des neurones DA de la VTA (à l'aide du biosenseur calcique GCaMP) ou de la libération de dopamine dans le NAc (à l'aide du biosenseur de la dopamine DLight) en réponse à des stimulations optogénétiques de la LHb. Ces enregistrements ont été réalisés chez l'animal anesthésié afin de s'approcher au plus près des conditions d'enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones DA de la VTA. Cette configuration particulière nous permet d'enregistrer la réponse aux stimulations de la LHb ainsi qu'aux stimulations des projections de la LHb dans la tVTA chez un même animal. Nous espérons ainsi pouvoir séparer les effets de l'activation de la voie directe et indirecte de la LHb sur les neurones DA de la VTA, ainsi que sur la libération de dopamine dans le NAc. L'ensemble des enregistrements sont en cours d'analyse. Les résultats préliminaires montrent que la stimulation de la LHb ainsi que de la projection LHb-tVTA induit une inhibition massive et soutenue de l'activité calcique des neurones DA de la VTA ainsi qu'une diminution de la libération de dopamine dans le NAc. Le détail du protocole expérimental ainsi que les résultats préliminaires sont disponibles sur la **Figure.2**.



**Figure 2. Enregistrement de la dynamique de réponse calcique des neurones DA la VTA ou de la libération de dopamine dans le NAc la suite de stimulation optogénétique de la voie habénulo-tegmentale.**

**A)** Décours temporel des expériences **B)** Enregistrement de la dynamique calcique des neurones DA de la VTA en réponse à des stimulations optogénétiques de la LHb. **B.1)** Schéma de l'expérience. **B.2)** Exemple de la dynamique calcique moyenne des neurones DA de la VTA en réponse à une stimulation à 50Hz de la LHb. **B.3)** Carte de densité des réponses calcique des neurones DA de la VTA, chaque ligne représente un essai. **C)** Enregistrement de la dynamique calcique des neurones DA de la VTA en réponse à des stimulations optogénétiques de la voie LHb-tVTA. **C.1)** Schéma de l'expérience. **C.2)** Exemple de la dynamique calcique des neurones DA de la VTA en réponse à une stimulation à 50Hz de voie LHb-tVTA. **C.3)** Carte de densité des réponses calciques des neurones DA de la VTA, chaque ligne représente un essai **D)** Schéma des expériences de mesure de la libération de dopamine dans le NAc en réponse aux stimulations de la LHb et de la voie LHb-tVTA.

## Conclusion

Pris dans son intégralité, ce projet met en évidence la complexité des altérations de la voie mésolimbique lors de l'expression de la comorbidité douleur-dépression. Il est donc nécessaire de poursuivre l'étude de ce système lors de la mise en place et du maintien des douleurs chroniques, des symptômes de type dépressif ainsi que lors de la présence de la comorbidité douleur-dépression. A l'aide d'enregistrement par photométrie, nous pourrions alors identifier les altérations de la voie LHb-VTA-NAc, ce qui permettrait de confirmer le rôle de la VTA comme un des hubs à l'origine des dérégulations émotionnelles induites par les douleurs chroniques. L'identification de la forme précise des altérations de la voie habénulo-tegmentale pourrait alors ouvrir de nouvelles pistes de recherche dans le traitement des conséquences émotionnelles de la douleur.

## Références

- Abdul, M., Yan, H. Q., Zhao, W. N., Lyu, X. Bin, Xu, Z., Yu, X. L., Gao, Y. H., & Cao, J. L. (2022). VTA-NAc glutaminergic projection involves in the regulation of pain and pain-related anxiety. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 15. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2022.1083671>
- Aguilar-Ávila, D. S., Flores-Soto, M. E., Tapia-Vázquez, C., Pastor-Zarandona, O. A., López-Roa, R. I., & Viveros-Paredes, J. M. (2019).  $\beta$ -Caryophyllene, a Natural Sesquiterpene, Attenuates Neuropathic Pain and Depressive-Like Behavior in Experimental Diabetic Mice. *Journal of Medicinal Food*, 22(5), 460–468. <https://doi.org/10.1089/JMF.2018.0157>
- Aizawa, H., Kobayashi, M., Tanaka, S., Fukai, T., & Okamoto, H. (2012a). Molecular characterization of the subnuclei in rat habenula. *The Journal of Comparative Neurology*, 520(18), 4051–4066. <https://doi.org/10.1002/CNE.23167>
- Aizawa, H., Kobayashi, M., Tanaka, S., Fukai, T., & Okamoto, H. (2012b). Molecular characterization of the subnuclei in rat habenula. *The Journal of Comparative Neurology*, 520(18), 4051–4066. <https://doi.org/10.1002/CNE.23167>
- Akatsu, S., Ishikawa, C., Takemura, K., Ohtani, A., & Shiga, T. (2015). Effects of prenatal stress and neonatal handling on anxiety, spatial learning and serotonergic system of male offspring mice. *Neuroscience Research*, 101, 15–23. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2015.07.002>
- Akram, H., Miller, S., Lagrata, S., Hyam, J., Jahanshahi, M., Hariz, M., Matharu, M., & Zrinzo, L. (2016). Ventral tegmental area deep brain stimulation for refractory chronic cluster headache. *Neurology*, 86(18), 1676–1682. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000002632>
- Alba-Delgado, C., Cebada-Aleu, A., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2016). Comorbid anxiety-like behavior and locus coeruleus impairment in diabetic peripheral neuropathy: A comparative study with the chronic constriction injury model. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 71, 45–56. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2016.06.007>
- Alba-Delgado, C., Llorca-Torralba, M., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2018). The onset of treatment with the antidepressant desipramine is critical for the emotional consequences of neuropathic pain. *Pain*, 159(12), 2606–2619. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000001372>
- Alemi, M., Pereira, A. R., Cerqueira-Nunes, M., Monteiro, C., Galhardo, V., & Cardoso-Cruz, H. (2023). Role of Glutamatergic Projections from Lateral Habenula to Ventral Tegmental Area in Inflammatory Pain-Related Spatial Working Memory Deficits. *Biomedicines*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/BIMEDICINES11030820>
- Alex, K. D., & Pehek, E. A. (2007). Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharmacology & Therapeutics*, 113(2), 296. <https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2006.08.004>
- Al-Homood, I. A. (2013). Rheumatic conditions in patients with diabetes mellitus. *Clinical Rheumatology*, 32(5), 527–533. <https://doi.org/10.1007/S10067-012-2144-8>
- Al-Khater, K. M., & Todd, A. J. (2009). Collateral projections of neurons in laminae I, III, and IV of rat spinal cord to thalamus, periaqueductal gray matter, and lateral parabrachial area. *The Journal of Comparative Neurology*, 515(6), 629–646. <https://doi.org/10.1002/CNE.22081>
- Amini, B., Clark, J. W., & Canavier, C. C. (1999). Calcium dynamics underlying pacemaker-like and burst firing oscillations in midbrain dopaminergic neurons: a computational study. *Journal of Neurophysiology*, 82(5), 2249–2261. <https://doi.org/10.1152/JN.1999.82.5.2249>
- Amorim, D., David-Pereira, A., Pertovaara, A., Almeida, A., & Pinto-Ribeiro, F. (2014). Amitriptyline reverses hyperalgesia and improves associated mood-like disorders in a model of experimental monoarthritis. *Behavioural Brain Research*, 265, 12–21. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2014.02.003>
- Anacker, C., Scholz, J., O'Donnell, K. J., Allemang-Grand, R., Diorio, J., Bagot, R. C., Nestler, E. J., Hen, R., Lerch, J. P., & Meaney, M. J. (2016). Neuroanatomic Differences Associated With Stress Susceptibility and Resilience. *Biological Psychiatry*, 79(10), 840–849. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2015.08.009>
- Arakawa, H. (2020). From Multisensory Assessment to Functional Interpretation of Social Behavioral Phenotype in Transgenic Mouse Models for Autism Spectrum Disorders. *Frontiers in Psychiatry*, 11, 592408. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2020.592408>
- Aransay, A., Rodríguez-López, C., García-Amado, M., Clascá, F., & Prensa, L. (2015). Long-range projection neurons of the mouse ventral tegmental area: a single-cell axon tracing analysis. *Frontiers in Neuroanatomy*, 9(MAY). <https://doi.org/10.3389/FNANA.2015.00059>
- Arias-Carrián, O., Stamelou, M., Murillo-Rodríguez, E., Menéndez-Gonzlez, M., & Pöppel, E. (2010). Dopaminergic reward system: a short integrative review. *International Archives of Medicine*, 3(1), 24. <https://doi.org/10.1186/1755-7682-3-24>
- Arnt, J., & Scheel-Krüger, J. (1979). GABA in the ventral tegmental area: differential regional effects on locomotion, aggression and food intake after microinjection of GABA agonists and antagonists. *Life Sciences*, 25(15), 1351–1360. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(79\)90402-8](https://doi.org/10.1016/0024-3205(79)90402-8)
- Arras, M., Rettich, A., Cinelli, P., Kasermann, H. P., & Burki, K. (2007). Assessment of post-laparotomy pain in laboratory mice by telemetric recording of heart rate and heart rate variability. *BMC Veterinary Research*, 3. <https://doi.org/10.1186/1746-6148-3-16>
- Asaoka, Y., Kato, T., Ide, S., Amano, T., & Minami, M. (2018). Pregabalin induces conditioned place preference in the rat during the early, but not late, stage of neuropathic pain. *Neuroscience Letters*, 668, 133–137. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2018.01.029>
- Aubry, J. M. (2013). CRF system and mood disorders. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 54, 20–24. <https://doi.org/10.1016/J.JCHEMNEU.2013.09.003>
- Authier, N., Gillet, J. P., Fialip, J., Eschaliér, A., & Coudore, F. (2003). An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. *Experimental Neurology*, 182(1), 12–20. [https://doi.org/10.1016/S0014-4886\(03\)00003-7](https://doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00003-7)

- Avgustinovich, D. F., Kovalenko, I. L., & Kudryavtseva, N. N. (2005). A model of anxious depression: persistence of behavioral pathology. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 35(9), 917–924. <https://doi.org/10.1007/S11055-005-0146-6>
- Avila-Martin, G., Galan-Arriero, I., Ferrer-Donato, A., Busquets, X., Gomez-Soriano, J., Escribá, P. V., & Taylor, J. (2015). Oral 2-hydroxyoleic acid inhibits reflex hypersensitivity and open-field-induced anxiety after spared nerve injury. *European Journal of Pain (London, England)*, 19(1), 111–122. <https://doi.org/10.1002/EJP.528>
- Badawy, A. A. B. (2017). Kynurenine Pathway of Tryptophan Metabolism: Regulatory and Functional Aspects. *International Journal of Tryptophan Research : IJTR*, 10(1). <https://doi.org/10.1177/1178646917691938>
- Baik, J.-H. (2013). Dopamine Signaling in reward-related behaviors. *Frontiers in Neural Circuits*, 7. <https://doi.org/10.3389/fncir.2013.00152>
- Baird, T. R., Davies, R. A., Glennon, R. A., Peace, M. R., & Negus, S. S. (2021). A Strategy to Prioritize Emerging Drugs of Abuse for Analysis: Abuse Liability Testing Using Intracranial Self-Stimulation (ICSS) in Rats and Validation with  $\alpha$ -Pyrrolidinothexanophenone ( $\alpha$ -PHP). *Emerging Trends in Drugs, Addictions, and Health*, 1, 100004. <https://doi.org/10.1016/J.ETDAH.2021.100004>
- Baliki, M. N., Chialvo, D. R., Geha, P. Y., Levy, R. M., Harden, R. N., Parrish, T. B., & Apkarian, A. V. (2006). Chronic Pain and the Emotional Brain: Specific Brain Activity Associated with Spontaneous Fluctuations of Intensity of Chronic Back Pain. *The Journal of Neuroscience*, 26(47), 12165–12173. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3576-06.2006>
- Baliki, M. N., Geha, P. Y., Fields, H. L., & Apkarian, A. V. (2010). Predicting value of pain and analgesia: nucleus accumbens response to noxious stimuli changes in the presence of chronic pain. *Neuron*, 66(1), 149–160. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2010.03.002>
- Baliki, M. N., Petre, B., Torbey, S., Herrmann, K. M., Huang, L., Schnitzer, T. J., Fields, H. L., & Apkarian, A. V. (2012). Corticostriatal functional connectivity predicts transition to chronic back pain. *Nature Neuroscience*, 15(8), 1117–1119. <https://doi.org/10.1038/NN.3153>
- Bangash, T. H. (2011). Trigeminal neuralgia: frequency of occurrence in different nerve branches. *Anesthesiology and Pain Medicine*, 1(2), 70–72. <https://doi.org/10.5812/KOWSAR.22287523.2164>
- Bannister, K., & Dickenson, A. H. (2020). Central Nervous System Targets: Supraspinal Mechanisms of Analgesia. *Neurotherapeutics*, 17(3), 839. <https://doi.org/10.1007/S13311-020-00887-6>
- Baptista-de-Souza, D., Rodrigues Tavares, L. R., Canto-de-Souza, L., Nunes-de-Souza, R. L., & Canto-de-Souza, A. (2022). Behavioral, hormonal, and neural alterations induced by social contagion for pain in mice. *Neuropharmacology*, 203. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2021.108878>
- Baratta, A. M., Kanyuch, N. R., Cole, C. A., Valafar, H., Deslauriers, J., & Pocivavsek, A. (2019). Acute sleep deprivation during pregnancy in rats: Rapid elevation of placental and fetal inflammation and kynurenic acid. *Neurobiology of Stress*, 12. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2019.100204>
- Baratta, M. V., Seligman, M. E. P., & Maier, S. F. (2023). From helplessness to controllability: toward a neuroscience of resilience. *Frontiers in Psychiatry*, 14. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2023.1170417>
- Barbeau, A. (1970). Dopamine and disease. *Canadian Medical Association Journal*, 103(8), 824–832.
- Barik, J., Marti, F., Morel, C., Fernandez, S. P., Lanteri, C., Godeheu, G., Tassin, J. P., Mombereau, C., Faure, P., & Tronche, F. (2013). Chronic stress triggers social aversion via glucocorticoid receptor in dopaminergic neurons. *Science (New York, N.Y.)*, 339(6117), 332–335. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1226767>
- Barohn, R. J., Gajewski, B., Pasnoor, M., Brown, A., Herbelin, L. L., Kimminau, K. S., Mudarantakam, D. P., Jawdat, O., Dimachkie, M. M., Iyadurai, S., Stino, A., Kissel, J., Pascuzzi, R., Brannagan, T., Wicklund, M., Ahmed, A., Walk, D., Smith, G., Quan, D., ... Cash, T. (2021). Patient Assisted Intervention for Neuropathy: Comparison of Treatment in Real Life Situations (PAIN-CONTRoLS): Bayesian Adaptive Comparative Effectiveness Randomized Trial. *JAMA Neurology*, 78(1), 68–76. <https://doi.org/10.1001/JAMANEUROL.2020.2590>
- Barrot, M. (2012). Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*, 211, 39–50. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2011.12.041>
- Barthas, F., Humo, M., Gilsbach, R., Waltisperger, E., Karatas, M., Leman, S., Hein, L., Belzung, C., Boutilier, A. L., Barrot, M., & Yalcin, I. (2017). Cingulate Overexpression of Mitogen-Activated Protein Kinase Phosphatase-1 as a Key Factor for Depression. *Biological Psychiatry*, 82(5), 370–379. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2017.01.019>
- Barthas, F., Sellmeijer, J., Hugel, S., Waltisperger, E., Barrot, M., & Yalcin, I. (2015). The anterior cingulate cortex is a critical hub for pain-induced depression. *Biological Psychiatry*, 77(3), 236–245. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2014.08.004>
- Bas, D. B., Su, J., Wigerblad, G., & Svensson, C. I. (2016). Pain in rheumatoid arthritis: models and mechanisms. *Pain Management*, 6(3), 265–284. <https://doi.org/10.2217/PMT.16.4>
- Bayer, S. A., Altman, J., Russo, R. J., & Zhang, X. (1993). Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicology*, 14(1), 83–144.
- Becerra, L., & Borsook, D. (2008). Signal valence in the nucleus accumbens to pain onset and offset. *European Journal of Pain (London, England)*, 12(7), 866–869. <https://doi.org/10.1016/J.EJPAIN.2007.12.007>
- Becerra, L., Navratilova, E., Porreca, F., & Borsook, D. (2013). Analogous responses in the nucleus accumbens and cingulate cortex to pain onset (aversion) and offset (relief) in rats and humans. *Journal of Neurophysiology*, 110(5), 1221–1226. <https://doi.org/10.1152/JN.00284.2013>
- Beckstead, R. M., Domesick, V. B., & Nauta, W. J. H. (1979). Efferent connections of the substantia nigra and ventral tegmental area in the rat. *Brain Research*, 175(2), 191–217. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(79\)91001-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(79)91001-1)

- Beier, K. T. (2022). Modified viral-genetic mapping reveals local and global connectivity relationships of ventral tegmental area dopamine cells. *ELife*, 11. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.76886>
- Beier, K. T., Gao, X. J., Xie, S., DeLoach, K. E., Malenka, R. C., & Luo, L. (2019). Topological Organization of Ventral Tegmental Area Connectivity Revealed by Viral-Genetic Dissection of Input-Output Relations. *Cell Reports*, 26(1), 159. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2018.12.040>
- Beier, K. T., Steinberg, E. E., DeLoach, K. E., Xie, S., Miyamichi, K., Schwarz, L., Gao, X. J., Kremer, E. J., Malenka, R. C., & Luo, L. (2015). Circuit Architecture of VTA Dopamine Neurons Revealed by Systematic Input-Output Mapping. *Cell*, 162(3), 622. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2015.07.015>
- Belmaker, R. H. (2004). Bipolar disorder. *The New England Journal of Medicine*, 351(5), 476–486. <https://doi.org/10.1056/NEJMRA035354>
- Belujon, P., & Grace, A. A. (2014). Restoring mood balance in depression: ketamine reverses deficit in dopamine-dependent synaptic plasticity. *Biological Psychiatry*, 76(12), 927–936. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2014.04.014>
- Belvederi Murri, M., Pariante, C., Mondelli, V., Masotti, M., Atti, A. R., Mellacqua, Z., Antonioli, M., Ghio, L., Menchetti, M., Zanetidou, S., Innamorati, M., & Amore, M. (2014). HPA axis and aging in depression: Systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 41, 46–62. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2013.12.004>
- Benabid, A. L., & Jeaugey, L. (1989). Cells of the rat lateral habenula respond to high-threshold somatosensory inputs. *Neuroscience Letters*, 96(3), 289–294. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(89\)90393-5](https://doi.org/10.1016/0304-3940(89)90393-5)
- Benbouzid, M., Pallage, V., Rajalu, M., Waltisperger, E., Doridot, S., Poisbeau, P., Freund-Mercier, M. J., & Barrot, M. (2008). Sciatic nerve cuffing in mice: a model of sustained neuropathic pain. *European Journal of Pain (London, England)*, 12(5), 591–599. <https://doi.org/10.1016/J.EJPAIN.2007.10.002>
- Bendele, A. M. (1987). Progressive chronic osteoarthritis in femorotibial joints of partial medial meniscectomized guinea pigs. *Veterinary Pathology*, 24(5), 444–448. <https://doi.org/10.1177/030098588702400512>
- Bennett, G. J., & Xie, Y. K. (1988). A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain*, 33(1), 87–107. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90209-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90209-6)
- Bennett, M. I., Rayment, C., Hjermstad, M., Aass, N., Caraceni, A., & Kaasa, S. (2012). Prevalence and aetiology of neuropathic pain in cancer patients: A systematic review. *Pain*, 153(2), 359–365. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2011.10.028>
- Benros, M. E., Waltoft, B. L., Nordentoft, M., Ostergaard, S. D., Eaton, W. W., Krogh, J., & Mortensen, P. B. (2013). Autoimmune diseases and severe infections as risk factors for mood disorders: a nationwide study. *JAMA Psychiatry*, 70(8), 812–820. <https://doi.org/10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2013.1111>
- Bermudez Contreras, E., Sutherland, R. J., Mohajerani, M. H., & Whishaw, I. Q. (2022). Challenges of a small world analysis for the continuous monitoring of behavior in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 136. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2022.104621>
- Berrios, J., Stamatakis, A. M., Katak, P. A., McElligott, Z. A., Judson, M. C., Aita, M., Rougie, M., Stuber, G. D., & Philpot, B. D. (2016). Loss of UBE3A from TH-expressing neurons suppresses GABA co-release and enhances VTA-NAc optical self-stimulation. *Nature Communications* 2016 7:1, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/ncomms10702>
- Bertaina-Anglade, V., La Rochelle, C. D., & Scheller, D. K. A. (2006). Antidepressant properties of rotigotine in experimental models of depression. *European Journal of Pharmacology*, 548(1–3), 106–114. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2006.07.022>
- Bertler, Å., & Rosengren, E. (1959). Occurrence and distribution of dopamine in brain and other tissues. *Experientia*, 15(1), 10–11. <https://doi.org/10.1007/BF02157069/METRICS>
- Berton, O., McClung, C. A., DiLeone, R. J., Krishnan, V., Renthal, W., Russo, S. J., Graham, D., Tsankova, N. M., Bolanos, C. A., Rios, M., Monteggia, L. M., Self, D. W., & Nestler, E. J. (2006). Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science (New York, N.Y.)*, 311(5762), 864–868. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1120972>
- Bewernick, B. H., Hurlmann, R., Matusch, A., Kayser, S., Grubert, C., Hadrysiewicz, B., Axmacher, N., Lemke, M., Cooper-Mahkorn, D., Cohen, M. X., Brockmann, H., Lenartz, D., Sturm, V., & Schlaepfer, T. E. (2010). Nucleus accumbens deep brain stimulation decreases ratings of depression and anxiety in treatment-resistant depression. *Biological Psychiatry*, 67(2), 110–116. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2009.09.013>
- Bhansali, P., Dunning, J., Singer, S. E., David, L., & Schmauss, C. (2007). Early life stress alters adult serotonin 2C receptor pre-mRNA editing and expression of the alpha subunit of the heterotrimeric G-protein G q. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(6), 1467–1473. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4632-06.2007>
- Biessels, G. J., Bril, V., Calcutt, N. A., Cameron, N. E., Cotter, M. A., Dobrowsky, R., Feldman, E. L., Fernyhough, P., Jakobsen, J., Malik, R. A., Mizisin, A. P., Oates, P. J., Obrosova, I. G., Pop-Busui, R., Russell, J. W., Sima, A. A., Stevens, M. J., Schmidt, R. E., Tesfaye, S., ... Zochodne, D. W. (2014). Phenotyping animal models of diabetic neuropathy: a consensus statement of the diabetic neuropathy study group of the EASD (Neurodiab). *Journal of the Peripheral Nervous System : JPNS*, 19(2), 77–87. <https://doi.org/10.1111/JNS5.12072>
- Biochem, A. J., Montagu, K. A., Euler, U. S., Joding, I., Weil-Malherbe, I., Bone, H., Biochem, A. D. J., Partridge, S. M., Biochem, J., Weil-Malherbe, H., Raab, W., & Gigg, W. (1957). Catechol Compounds in Rat Tissues and in Brains of Different Animals. *Nature* 1957 180:4579, 180(4579), 244–245. <https://doi.org/10.1038/180244a0>
- Blasco-Serra, A., González-Soler, E. M., Cervera-Ferri, A., Teruel-Martí, V., & Valverde-Navarro, A. A. (2017). A standardization of the Novelty-Suppressed Feeding Test protocol in rats. *Neuroscience Letters*, 658, 73–78. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2017.08.019>

- Boadas-Vaello, P., Homs, J., Portero-Tresserra, M., Álvarez-Pérez, B., Deulofeu, M., & Verdú, E. (2018). Graded photochemical spinal cord injury results in chronic hyperalgesia and depression-like behaviour but no anxiety exacerbation in female BALB/c mice. *Neuroscience Letters*, 664, 98–106. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2017.11.007>
- Bolaños, C. A., Perrotti, L. I., Edwards, S., Eisch, A. J., Barrot, M., Olson, V. G., Russell, D. S., Neve, R. L., & Nestler, E. J. (2003). Phospholipase Cgamma in distinct regions of the ventral tegmental area differentially modulates mood-related behaviors. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(20), 7569–7576. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-20-07569.2003>
- Borges, G., Neto, F., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2014). Reversal of monoarthritis-induced affective disorders by diclofenac in rats. *Anesthesiology*, 120(6), 1476–1490. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000177>
- Bornstein, S. R., Zacharowski, P., Schumann, R. R., Barthel, A., Tran, N., Papewalis, C., Rettori, V., McCann, S. M., Schulze-Osthoff, K., Scherbaum, W. A., Tarnow, J., & Zacharowski, K. (2004). Impaired adrenal stress response in toll-like receptor 2-deficient mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(47), 16695–16700. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0407550101/ASSET/B40BA7C2-78F4-4991-B9C7-4B9FBCD079BC/ASSETS/GRAPHIC/ZPQ0480465440006.JPEG>
- Bornstein, S. R., Ziegler, C. G., Krug, A. W., Kanczkowski, W., Rettori, V., McCann, S. M., Wirth, M., & Zacharowski, K. (2006). The role of toll-like receptors in the immune-adrenal crosstalk. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1088, 307–318. <https://doi.org/10.1196/ANNALS.1366.027>
- Borsini, A., Cattaneo, A., Malpighi, C., Thuret, S., Harrison, N. A., Zunszain, P. A., & Pariante, C. M. (2018). Interferon-Alpha Reduces Human Hippocampal Neurogenesis and Increases Apoptosis via Activation of Distinct STAT1-Dependent Mechanisms. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 21(2), 187–200. <https://doi.org/10.1093/IJNP/PYX083>
- Borsook, D., Sava, S., & Becerra, L. (2010). The Pain Imaging Revolution: Advancing Pain Into the 21st Century. <http://Dx.Doi.Org/10.1177/1073858409349902>, 16(2), 171–185. <https://doi.org/10.1177/1073858409349902>
- Bosak, N., Branco, P., Kuperman, P., Buxbaum, C., Cohen, R. M., Fadel, S., Zubeidat, R., Hadad, R., Lawen, A., Saadon-Grosman, N., Sterling, M., Granovsky, Y., Apkarian, A. V., Yarnitsky, D., & Kahn, I. (2022). Brain Connectivity Predicts Chronic Pain in Acute Mild Traumatic Brain Injury. *Annals of Neurology*, 92(5), 819–833. <https://doi.org/10.1002/ana.26463>
- Bossert, J. M., Poles, G. C., Wihbey, K. A., Koya, E., & Shaham, Y. (2007). Differential Effects of Blockade of Dopamine D1-Family Receptors in Nucleus Accumbens Core or Shell on Reinstatement of Heroin Seeking Induced by Contextual and Discrete Cues. *The Journal of Neuroscience*, 27(46), 12655. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3926-07.2007>
- Bossert, J. M., Stern, A. L., Theberge, F. R. M., Marchant, N. J., Wang, H. L., Morales, M., & Shaham, Y. (2012). Role of Projections from Ventral Medial Prefrontal Cortex to Nucleus Accumbens Shell in Context-Induced Reinstatement of Heroin Seeking. *The Journal of Neuroscience*, 32(14), 4982. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0005-12.2012>
- Bouarab, C., Wynalda, M., Thompson, B. V., Khurana, A., Cody, C. R., Kisner, A., & Polter, A. M. (2023). Sex-specific adaptations to VTA circuits following subchronic stress. *BioRxiv*, 2023.08.02.551665. <https://doi.org/10.1101/2023.08.02.551665>
- Bouhassira, D., Lantéri-Minet, M., Attal, N., Laurent, B., & Touboul, C. (2008). Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain*, 136(3), 380–387. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2007.08.013>
- Boulton, A. J. M., Vinik, A. I., Arezzo, J. C., Bril, V., Feldman, E. L., Freeman, R., Malik, R. A., Maser, R. E., Sosenko, J. M., & Ziegler, D. (2005). Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*, 28(4), 956–962. <https://doi.org/10.2337/DIACARE.28.4.956>
- Bourdy, R., & Barrot, M. (2012). A new control center for dopaminergic systems: pulling the VTA by the tail. *Trends in Neurosciences*, 35(11), 681–690. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2012.06.007>
- Bourin, M., & Hascoët, M. (2003). The mouse light/dark box test. *European Journal of Pharmacology*, 463(1–3), 55–65. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01274-3](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01274-3)
- Bourquin, A. F., Süveges, M., Pertin, M., Gilliard, N., Sardy, S., Davison, A. C., Spahn, D. R., & Decosterd, I. (2006). Assessment and analysis of mechanical allodynia-like behavior induced by spared nerve injury (SNI) in the mouse. *Pain*, 122(1–2), 14.e1–14.e14. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2005.10.036>
- Bove, S. E., Laemont, K. D., Brooker, R. M., Osborn, M. N., Sanchez, B. M., Guzman, R. E., Hook, K. E., Juneau, P. L., Connor, J. R., & Kilgore, K. S. (2006). Surgically induced osteoarthritis in the rat results in the development of both osteoarthritis-like joint pain and secondary hyperalgesia. *Osteoarthritis and Cartilage*, 14(10), 1041–1048. <https://doi.org/10.1016/J.JOCA.2006.05.001>
- Boyce-Rustay, J. M., Zhong, C., Kohnken, R., Baker, S. J., Simler, G. H., Wensink, E. J., Decker, M. W., & Honore, P. (2010). Comparison of mechanical allodynia and the affective component of inflammatory pain in rats. *Neuropharmacology*, 58(2), 537–543. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2009.08.008>
- Brannigan, R., Cannon, M., Tanskanen, A., Huttunen, M. O., Leacy, F. P., & Clarke, M. C. (2019b). The association between subjective maternal stress during pregnancy and offspring clinically diagnosed psychiatric disorders. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 139(4), 304–310. <https://doi.org/10.1111/ACPS.12996>
- Breivik, H., Collett, B., Ventafridda, V., Cohen, R., & Gallacher, D. (2006). Survey of chronic pain in Europe: prevalence, impact on daily life, and treatment. *European Journal of Pain (London, England)*, 10(4), 287. <https://doi.org/10.1016/J.EJPAIN.2005.06.009>
- Breslau, N., & Davis, G. C. (1992). Migraine, major depression and panic disorder: a prospective epidemiologic study of young adults. *Cephalgia: An International Journal of Headache*, 12(2), 85–90. <https://doi.org/10.1046/J.1468-2982.1992.1202085.X>

- Brinschwitz, K., Dittgen, A., Madai, V. I., Lommel, R., Geisler, S., & Veh, R. W. (2010). Glutamatergic axons from the lateral habenula mainly terminate on GABAergic neurons of the ventral midbrain. *Neuroscience*, 168(2), 463–476. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2010.03.050>
- Brischoux, F., Chakraborty, S., Brierley, D. I., & Ungless, M. A. (2009). Phasic excitation of dopamine neurons in ventral VTA by noxious stimuli. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(12), 4894–4899. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0811507106>
- Broekkamp, C. (1997). Predictive validity and the robustness criterion for animal models. *Psychopharmacology*, 134(4), 341–343. <https://doi.org/10.1007/S002130050461>
- Brog, J. S., Salyapongse, A., Deutch, A. Y., & Zahm, D. S. (1993). The patterns of afferent innervation of the core and shell in the “accumbens” part of the rat ventral striatum: immunohistochemical detection of retrogradely transported fluoro-gold. *The Journal of Comparative Neurology*, 338(2), 255–278. <https://doi.org/10.1002/CNE.903380209>
- Bromet, E., Andrade, L. H., Hwang, I., Sampson, N. A., Alonso, J., de Girolamo, G., de Graaf, R., Demyttenaere, K., Hu, C., Iwata, N., Karam, A. N., Kaur, J., Kostyuchenko, S., Lépine, J. P., Levinson, D., Matschinger, H., Mora, M. E. M., Browne, M. O., Posada-Villa, J., ... Kessler, R. C. (2011). Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Medicine*, 9. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-90>
- Brüning, C. A., Martini, F., Soares, S. M., Sampaio, T. B., Gai, B. M., Duarte, M. M. F., & Nogueira, C. W. (2015). m-Trifluoromethyl-diphenyl diselenide, a multi-target selenium compound, prevented mechanical allodynia and depressive-like behavior in a mouse comorbid pain and depression model. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 63, 35–46. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2015.05.011>
- Budygin, E. A., Park, J., Bass, C. E., Grinevich, V. P., Bonin, K. D., & Wightman, R. M. (2012). Aversive stimulus differentially triggers subsecond dopamine release in reward regions. *Neuroscience*, 201, 331–337. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2011.10.056>
- Budzynski, T. H., Stoyva, J. M., Adler, C. S., & Mullaney, D. J. (1973). EMG biofeedback and tension headache: a controlled outcome study. *Psychosomatic Medicine*, 35(6), 484–496. <https://doi.org/10.1097/00006842-197311000-00004>
- Bühler, D., Power Guerra, N., Müller, L., Wolkenhauer, O., Düffer, M., Vollmar, B., Kuhla, A., & Wolfien, M. (2023). Leptin deficiency-caused behavioral change – A comparative analysis using EthoVision and DeepLabCut. *Frontiers in Neuroscience*, 17, 1052079. <https://doi.org/10.3389/FNINS.2023.1052079/FULL>
- Busillo, J. M., Azzams, K. M., & Cidlowski, J. A. (2011). Glucocorticoids sensitize the innate immune system through regulation of the NLRP3 inflammasome. *The Journal of Biological Chemistry*, 286(44), 38703–38713. <https://doi.org/10.1074/JBC.M111.275370>
- Busse, M., Busse, S., Myint, A. M., Gos, T., Dobrowolny, H., Müller, U. J., Bogerts, B., Bernstein, H. G., & Steiner, J. (2015). Decreased quinolinic acid in the hippocampus of depressive patients: evidence for local anti-inflammatory and neuroprotective responses? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 265(4), 321–329. <https://doi.org/10.1007/S00406-014-0562-0>
- Butler, R. K., & Finn, D. P. (2009). Stress-induced analgesia. *Progress in Neurobiology*, 88(3), 184–202. <https://doi.org/10.1016/J.PNEUROBIO.2009.04.003>
- Cabib, S., Giardino, L., Calzà, L., Zanni, M., Mele, A., & Puglisi-Allegra, S. (1998). Stress promotes major changes in dopamine receptor densities within the mesoaccumbens and nigrostriatal systems. *Neuroscience*, 84(1), 193–200. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00468-5](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00468-5)
- Cai, B., Seong, K. J., Bae, S. W., Kook, M. S., Chun, C., Lee, J. H., Choi, W. S., Jung, J. Y., & Kim, W. J. (2019). Water-Soluble Arginyl-Diosgenin Analog Attenuates Hippocampal Neurogenesis Impairment Through Blocking Microglial Activation Underlying NF-κB and JNK MAPK Signaling in Adult Mice Challenged by LPS. *Molecular Neurobiology*, 56(9), 6218–6238. <https://doi.org/10.1007/S12035-019-1496-3>
- Cai, H., Xie, X. M., Zhang, Q., Cui, X., Lin, J. X., Sim, K., Ungvari, G. S., Zhang, L., & Xiang, Y. T. (2021). Prevalence of Suicidality in Major Depressive Disorder: A Systematic Review and Meta-Analysis of Comparative Studies. *Frontiers in Psychiatry*, 12, 690130. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2021.690130/FULL>
- Cai, N., Bigdeli, T. B., Kretschmar, W., Lei, Y., Liang, J., Song, L., Hu, J., Li, Q., Jin, W., Hu, Z., Wang, G., Wang, L., Qian, P., Liu, Y., Jiang, T., Lu, Y., Zhang, X., Yin, Y., Lie, Y., ... Flint, J. (2015). Sparse whole-genome sequencing identifies two loci for major depressive disorder. *Nature* 2015 523:7562, 523(7562), 588–591. <https://doi.org/10.1038/nature14659>
- Caldecott-Hazard, S., Mazziotta, J., & Phelps, M. (1988). Cerebral correlates of depressed behavior in rats, visualized using 14C-2-deoxyglucose autoradiography. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 8(6), 1951–1961. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.08-06-01951.1988>
- Calvino, B., Besson, J. M., Boehrer, A., & Depaulis, A. (1996). Ultrasonic vocalization (22-28 kHz) in a model of chronic pain, the arthritic rat: effects of analgesic drugs. *Neuroreport*, 7(2), 581–584. <https://doi.org/10.1097/00001756-199601310-00049>
- Cameron, D. L., Wessendorf, M. W., & Williams, J. T. (1997). A subset of ventral tegmental area neurons is inhibited by dopamine, 5-hydroxytryptamine and opioids. *Neuroscience*, 77(1), 155–166. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(96\)00444-7](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(96)00444-7)
- Campbell, L. C., Clauw, D. J., & Keefe, F. J. (2003). Persistent pain and depression: a biopsychosocial perspective. *Biological Psychiatry*, 54(3), 399–409. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(03\)00545-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(03)00545-6)
- Cao, H., Yang, D., Nie, K., Lin, R., Peng, L., Zhou, X., Zhang, M., Zeng, Y., Liu, L., & Huang, W. (2023). Hesperidin may improve depressive symptoms by binding NLRP3 and influencing the pyroptosis pathway in a rat model. *European Journal of Pharmacology*, 952. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2023.175670>
- Cao, J. L., Covington, H. E., Friedman, A. K., Wilkinson, M. B., Walsh, J. J., Cooper, D. C., Nestler, E. J., & Han, M. H. (2010). Mesolimbic dopamine neurons in the brain reward circuit mediate susceptibility to social defeat and antidepressant action. *The Journal of*

- Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience, 30(49), 16453–16458. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3177-10.2010>
- Cao, Y., & Li, Q. (2017). The variation of the 5-hydroxytryptamine system between chronic unpredictable mild stress rats and chronic fatigue syndrome rats induced by forced treadmill running. *Neuroreport*, 28(11), 630–637. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000797>
- Caplazi, P., Baca, M., Barck, K., Carano, R. A. D., DeVoss, J., Lee, W. P., Bolon, B., & Diehl, L. (2015). Mouse Models of Rheumatoid Arthritis. *Veterinary Pathology*, 52(5), 819–826. <https://doi.org/10.1177/0300985815588612>
- Capuron, L., Gumnick, J. F., Musselman, D. L., Lawson, D. H., Reemsnyder, A., Nemeroff, C. B., & Miller, A. H. (2002). Neurobehavioral effects of interferon-alpha in cancer patients: phenomenology and paroxetine responsiveness of symptom dimensions. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 26(5), 643–652. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00407-9](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00407-9)
- Caridi, J. M., Pumberger, M., & Hughes, A. P. (2011). Cervical radiculopathy: a review. *HSS Journal: The Musculoskeletal Journal of Hospital for Special Surgery*, 7(3), 265–272. <https://doi.org/10.1007/S11420-011-9218-Z>
- Carlsson, A. (1959). The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological Reviews*, 11(2, Part 2), 490–493.
- Carlsson, A., Lindqvist, M., Magnusson, T., & Waldeck, B. (1958). On the presence of 3-hydroxytyramine in brain. *Science (New York, N.Y.)*, 127(3296), 471. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.127.3296.471>
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, 134(1–2), 49–57. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(01)00452-1)
- Carr, D. B., & Sesack, S. R. (2000). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 20(10), 3864–3873. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-10-03864.2000>
- Carr, K. D., Park, T. H., Zhang, Y., & Stone, E. A. (1998). Neuroanatomical patterns of Fos-like immunoreactivity induced by naltrexone in food-restricted and ad libitum fed rats. *Brain Research*, 779(1–2), 26–32. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(97\)01074-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(97)01074-3)
- Carratalá-Ros, C., Martínez-Verdú, A., Olivares-García, R., Salamone, J. D., & Correa, M. (2023). Effects of the dopamine depleting agent tetrabenazine in tests evaluating different components of depressive-like behavior in mice: sex-dependent response to antidepressant drugs with SERT and DAT blocker profiles. *Psychopharmacology*, 240(8). <https://doi.org/10.1007/S00213-023-06412-9>
- Carvalho, L. A., Garner, B. A., Dew, T., Fazakerley, H., & Pariante, C. M. (2010). Antidepressants, but not antipsychotics, modulate GR function in human whole blood: An insight into molecular mechanisms. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 20(6), 379. <https://doi.org/10.1016/J.EURONEURO.2010.02.006>
- Cash, J. L., White, G. E., & Greaves, D. R. (2009). Chapter 17. Zymosan-induced peritonitis as a simple experimental system for the study of inflammation. *Methods in Enzymology*, 461(B), 379–396. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(09\)05417-2](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(09)05417-2)
- Castagné, V., Moser, P., & Porsolt, R. D. (2009). Behavioral Assessment of Antidepressant Activity in Rodents.
- Cathomas, F., Hartmann, M. N., Seifritz, E., Pryce, C. R., & Kaiser, S. (2015). The translational study of apathy—An ecological approach. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 9(September), 149251. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2015.00241/BIBTEX>
- Cattaneo, A., Gennarelli, M., Uher, R., Breen, G., Farmer, A., Aitchison, K. J., Craig, I. W., Anacker, C., Zunsztain, P. A., McGuffin, P., & Pariante, C. M. (2013). Candidate genes expression profile associated with antidepressants response in the GENDEP study: differentiating between baseline “predictors” and longitudinal “targets.” *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 38(3), 377–385. <https://doi.org/10.1038/NPP.2012.191>
- Cavalli, E., Mammana, S., Nicoletti, F., Bramanti, P., & Mazzon, E. (2019). The neuropathic pain: An overview of the current treatment and future therapeutic approaches. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 33. <https://doi.org/10.1177/2058738419838383>
- Cerniauskas, I., Winterer, J., de Jong, J. W., Lukacsovich, D., Yang, H., Khan, F., Peck, J. R., Obayashi, S. K., Lilascharoen, V., Lim, B. K., Földy, C., & Lammel, S. (2019a). Chronic Stress Induces Activity, Synaptic, and Transcriptional Remodeling of the Lateral Habenula Associated with Deficits in Motivated Behaviors. *Neuron*, 104(5), 899–915.e8. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2019.09.005>
- Cerniauskas, I., Winterer, J., de Jong, J. W., Lukacsovich, D., Yang, H., Khan, F., Peck, J. R., Obayashi, S. K., Lilascharoen, V., Lim, B. K., Földy, C., & Lammel, S. (2019b). Chronic Stress Induces Activity, Synaptic, and Transcriptional Remodeling of the Lateral Habenula Associated with Deficits in Motivated Behaviors. *Neuron*, 104(5), 899–915.e8. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2019.09.005>
- Chang, C. H., & Grace, A. A. (2014). Amygdala-ventral pallidum pathway decreases dopamine activity after chronic mild stress in rats. *Biological Psychiatry*, 76(3), 223–230. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2013.09.020>
- Chang, C., & Shyu, B. C. (2001). A fMRI study of brain activations during non-noxious and noxious electrical stimulation of the sciatic nerve of rats. *Brain Research*, 897(1–2), 71–81. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02094-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02094-7)
- Chastrette, N., Pfaff, D. W., & Gibbs, R. B. (1991). Effects of daytime and nighttime stress on Fos-like immunoreactivity in the paraventricular nucleus of the hypothalamus, the habenula, and the posterior paraventricular nucleus of the thalamus. *Brain Research*, 563(1–2), 339–344. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)91559-J](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)91559-J)
- Chaudhri, N., Sahuque, L. L., Schairer, W. W., & Janak, P. H. (2010). Separable roles of the nucleus accumbens core and shell in context- and cue-induced alcohol-seeking. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 35(3), 783–791. <https://doi.org/10.1038/NPP.2009.187>

- Chaudhury, D., Walsh, J. J., Friedman, A. K., Juarez, B., Ku, S. M., Koo, J. W., Ferguson, D., Tsai, H. C., Pomeranz, L., Christoffel, D. J., Nectow, A. R., Ekstrand, M., Domingos, A., Mazei-Robison, M. S., Mouzon, E., Lobo, M. K., Neve, R. L., Friedman, J. M., Russo, S. J., ... Han, M. H. (2013). Rapid regulation of depression-related behaviours by control of midbrain dopamine neurons. *Nature*, 493(7433), 532–536. <https://doi.org/10.1038/NATURE11713>
- Chen, H., Deng, J., Gao, H., Song, Y., Zhang, Y., Sun, J., & Zhai, J. (2023). Involvement of the SIRT1-NLRP3 pathway in the inflammatory response. *Cell Communication and Signaling : CCS*, 21(1), 185. <https://doi.org/10.1186/S12964-023-01177-2>
- Chen, J., Song, Y., Yang, J., Zhang, Y., Zhao, P., Zhu, X. J., & Su, H. chuan. (2013). The contribution of TNF- $\alpha$  in the amygdala to anxiety in mice with persistent inflammatory pain. *Neuroscience Letters*, 541, 275–280. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2013.02.005>
- Chen, L., Li, N., Ge, S., Lozano, A. M., Lee, D. J., Yang, C., Li, L., Bai, Q., Lu, H., Wang, J., Wang, X., Li, J., Jing, J., Su, M., Wei, L., Wang, X., & Gao, G. (2019). Long-term results after deep brain stimulation of nucleus accumbens and the anterior limb of the internal capsule for preventing heroin relapse: An open-label pilot study. *Brain Stimulation*, 12(1), 175–183. <https://doi.org/10.1016/J.BRS.2018.09.006>
- Chen, L. W., Wei, L. C., Liu, H. L., Duan, L., Ju, G., & Chan, Y. S. (2000). Retinal dopaminergic neurons (A17) expressing neuromedin K receptor (NK(3)): a double immunocytochemical study in the rat. *Brain Research*, 885(1), 122–127. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02985-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02985-1)
- Chen, Z., Wei, H., Pertovaara, A., Wang, J., & Carlson, S. (2018). Anxiety- and activity-related effects of paracetamol on healthy and neuropathic rats. *Pharmacology Research & Perspectives*, 6(1), e00367. <https://doi.org/10.1002/prp2.367>
- Cheng, Y., Desse, S., Martinez, A., Worthen, R. J., Jope, R. S., & Beurel, E. (2018). TNF $\alpha$  disrupts blood brain barrier integrity to maintain prolonged depressive-like behavior in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 69, 556–567. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2018.02.003>
- Cheng, Y., Jope, R. S., & Beurel, E. (2015). A pre-conditioning stress accelerates increases in mouse plasma inflammatory cytokines induced by stress. *BMC Neuroscience*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/S12868-015-0169-Z>
- Chourbaji, S., Zacher, C., Sanchis-Segura, C., Dormann, C., Vollmayr, B., & Gass, P. (2005). Learned helplessness: validity and reliability of depressive-like states in mice. *Brain Research. Brain Research Protocols*, 16(1–3), 70–78. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESPROT.2005.09.002>
- Christiansen, S. H., Olesen, M. V., Wörtwein, G., & Woldbye, D. P. D. (2011). Fluoxetine reverts chronic restraint stress-induced depression-like behaviour and increases neuropeptide Y and galanin expression in mice. *Behavioural Brain Research*, 216(2), 585–591. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2010.08.044>
- Christoffel, D. J., Golden, S. A., Dumitriu, D., Robison, A. J., Janssen, W. G., Ahn, H. F., Krishnan, V., Reyes, C. M., Han, M. H., Ables, J. L., Eisch, A. J., Dietz, D. M., Ferguson, D., Neve, R. L., Greengard, P., Kim, Y., Morrison, J. H., & Russo, S. J. (2011). I $\kappa$ B kinase regulates social defeat stress-induced synaptic and behavioral plasticity. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(1), 314–321. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4763-10.2011>
- Chuhma, N., Mingote, S., Moore, H., & Rayport, S. (2014). Dopamine neurons control striatal cholinergic neurons via regionally heterogeneous dopamine and glutamate signaling. *Neuron*, 81(4), 901. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2013.12.027>
- Chung, G., Kim, C. Y., Yun, Y. C., Yoon, S. H., Kim, M. H., Kim, Y. K., & Kim, S. J. (2017). Upregulation of prefrontal metabotropic glutamate receptor 5 mediates neuropathic pain and negative mood symptoms after spinal nerve injury in rats. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-017-09991-8>
- Clark, S. M., Pocivavsek, A., Nicholson, J. D., Notarangelo, F. M., Langenberg, P., McMahon, R. P., Kleinman, J. E., Hyde, T. M., Stiller, J., Postolache, T. T., Schwarcz, R., & Tonelli, L. H. (2016). Reduced kynurenine pathway metabolism and cytokine expression in the prefrontal cortex of depressed individuals. *Journal of Psychiatry & Neuroscience : JPN*, 41(6), 386. <https://doi.org/10.1503/JPN.150226>
- Closs, S. J., Barr, B., Briggs, M., Cash, K., & Seers, K. (2004). A comparison of five pain assessment scales for nursing home residents with varying degrees of cognitive impairment. *Journal of Pain and Symptom Management*, 27(3), 196–205. <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2003.12.010>
- Cohen, J. Y., Haesler, S., Vong, L., Lowell, B. B., & Uchida, N. (2012). Neuron-type-specific signals for reward and punishment in the ventral tegmental area. *Nature*, 482(7383), 85–88. <https://doi.org/10.1038/NATURE10754>
- Coizet, V., Dommert, E. J., Klop, E. M., Redgrave, P., & Overton, P. G. (2010). The parabrachial nucleus is a critical link in the transmission of short latency nociceptive information to midbrain dopaminergic neurons. *Neuroscience*, 168(1), 263–272. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2010.03.049>
- Coppen, A. (1969). Defects in monoamine metabolism and their possible importance in the pathogenesis of depressive syndromes. *Psychiatria, Neurologia, Neurochirurgia*, 72(2), 173–180.
- Cosme, C. V., Palissery, G. K., & Lerner, T. N. (2018). A DLight-ful New View of Neuromodulation. *Trends in Neurosciences*, 41(9), 566. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2018.07.004>
- Cotterill, E., & Eglen, S. J. (2019). Burst Detection Methods. *Advances in Neurobiology*, 22, 185–206. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-11135-9\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-030-11135-9_8)
- Courtenay, J. S., Dallman, M. J., Dayan, A. D., Martin, A., & Mosedale, B. (1980). Immunisation against heterologous type II collagen induces arthritis in mice. *Nature* 1980 283:5748, 283(5748), 666–668. <https://doi.org/10.1038/283666a0>
- Crawley, J. N., Chen, T., Puri, A., Washburn, R., Sullivan, T. L., Hill, J. M., Young, N. B., Nadler, J. J., Moy, S. S., Young, L. J., Caldwell, H. K., & Young, W. S. (2007). Social approach behaviors in oxytocin knockout mice: comparison of two independent lines tested in different laboratory environments. *Neuropeptides*, 41(3), 145–163. <https://doi.org/10.1016/J.NPEP.2007.02.002>

- Cryan, J. F., Hoyer, D., & Markou, A. (2003). Withdrawal from chronic amphetamine induces depressive-like behavioral effects in rodents. *Biological Psychiatry*, 54(1), 49–58. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(02\)01730-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(02)01730-4)
- Cryan, J. F., Mombereau, C., & Vassout, A. (2005). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(4–5), 571–625. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2005.03.009>
- Cui, W. Q., Zhang, W. W., Chen, T., Li, Q., Xu, F., Mao-Ying, Q. L., Mi, W. L., Wang, Y. Q., & Chu, Y. X. (2020). Tacr3 in the lateral habenula differentially regulates orofacial allodynia and anxiety-like behaviors in a mouse model of trigeminal neuralgia. *Acta Neuropathologica Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/S40478-020-00922-9>
- Cui, Y., Toyoda, H., Sako, T., Onoe, K., Hayashinaka, E., Wada, Y., Yokoyama, C., Onoe, H., Kataoka, Y., & Watanabe, Y. (2015). A voxel-based analysis of brain activity in high-order trigeminal pathway in the rat induced by cortical spreading depression. *NeuroImage*, 108, 17–22. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2014.12.047>
- Cui, Y., Yang, Y., Ni, Z., Dong, Y., Cai, G., Foncelle, A., Ma, S., Sang, K., Tang, S., Li, Y., Shen, Y., Berry, H., Wu, S., & Hu, H. (2018). Astroglial Kir4.1 in the lateral habenula drives neuronal bursts in depression. *Nature*, 554(7692), 323–327. <https://doi.org/10.1038/NATURE25752>
- Da Cunha, C., Angelucci, M. E. M., Canteras, N. S., Wonnacott, S., & Takahashi, R. N. (2002). The lesion of the rat substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons as a model for Parkinson's disease memory disabilities. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 22(3), 227–237. <https://doi.org/10.1023/A:1020736131907>
- Dackis, C. A., & Gold, M. S. (1985). New concepts in cocaine addiction: the dopamine depletion hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 9(3), 469–477. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(85\)90022-3](https://doi.org/10.1016/0149-7634(85)90022-3)
- Dackis, C. A., Gold, M. S., & Pottash, A. L. C. (1986). Central stimulant abuse: neurochemistry and pharmacotherapy. *Advances in Alcohol & Substance Abuse*, 6(2), 7–21. [https://doi.org/10.1300/J251V06N02\\_02](https://doi.org/10.1300/J251V06N02_02)
- D'Addario, S. L., Di Segni, M., Ledonne, A., Piscitelli, R., Babicola, L., Martini, A., Spoletti, E., Mancini, C., Ielpo, D., D'Amato, F. R., Andolina, D., Ragozzino, D., Mercuri, N. B., Cifani, C., Renzi, M., Guatteo, E., & Ventura, R. (2021). Resilience to anhedonia-passive coping induced by early life experience is linked to a long-lasting reduction of Ih current in VTA dopaminergic neurons. *Neurobiology of Stress*, 14. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2021.100324>
- Dahlstroem, A., & Fuxe, K. (1964). EVIDENCE FOR THE EXISTENCE OF MONOAMINE-CONTAINING NEURONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM. I. DEMONSTRATION OF MONOAMINES IN THE CELL BODIES OF BRAIN STEM NEURONS. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum*, SUPPL 232:1-55.
- Dale, R., & Stacey, B. (2016). Multimodal Treatment of Chronic Pain. *Medical Clinics of North America*, 100(1), 55–64. <https://doi.org/10.1016/J.MCNA.2015.08.012>
- D'amour, F. E., & Smith, D. L. (1941). A METHOD FOR DETERMINING LOSS OF PAIN SENSATION. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 72(1), 74. <http://jpet.aspetjournals.org/content/72/1/74.abstract>
- Darcey, F., Mendez-David, I., Tritschler, L., Gardier, A. M., Guilloux, J. P., & David, D. J. (2014). Learning and memory impairments in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(MAY). <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2014.00136/ABSTRACT>
- Davidson, E., Coppey, L., Lu, B., Arballo, V., Calcutt, N. A., Gerard, C., & Yorek, M. (2009). The roles of streptozotocin neurotoxicity and neutral endopeptidase in murine experimental diabetic neuropathy. *Experimental Diabetes Research*, 2009, 431980. <https://doi.org/10.1155/2009/431980>
- Day, J. J., Jones, J. L., & Carelli, R. M. (2011). Nucleus accumbens neurons encode predicted and ongoing reward costs. *The European Journal of Neuroscience*, 33(2), 308. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2010.07531.X>
- Day, J. J., Jones, J. L., Wightman, R. M., & Carelli, R. M. (2010). Phasic nucleus accumbens dopamine release encodes effort- and delay-related costs. *Biological Psychiatry*, 68(3), 306–309. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2010.03.026>
- de Jong, J. W., Afjei, S. A., Pollak Dorocic, I., Peck, J. R., Liu, C., Kim, C. K., Tian, L., Deisseroth, K., & Lammel, S. (2019). A Neural Circuit Mechanism for Encoding Aversive Stimuli in the Mesolimbic Dopamine System. *Neuron*, 101(1), 133-151.e7. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2018.11.005>
- Decosterd, I., & Woolf, C. J. (2000). Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain*, 87(2), 149–158. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00276-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00276-1)
- Dellarole, A., Morton, P., Brambilla, R., Walters, W., Summers, S., Bernardes, D., Grilli, M., & Bethea, J. R. (2014). Neuropathic pain-induced depressive-like behavior and hippocampal neurogenesis and plasticity are dependent on TNFR1 signaling. *Brain, Behavior, and Immunity*, 41(1), 65–81. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2014.04.003>
- Derdeyn, P., Hui, M., Macchia, D., & Beier, K. T. (2022). Uncovering the Connectivity Logic of the Ventral Tegmental Area. *Frontiers in Neural Circuits*, 15. <https://doi.org/10.3389/FNCIR.2021.799688>
- Descalzi, G., Mitsi, V., Purushothaman, I., Gaspari, S., Avrampou, K., Loh, Y. H. E., Shen, L., & Zachariou, V. (2017). Neuropathic pain promotes adaptive changes in gene expression in brain networks involved in stress and depression. *Science Signaling*, 10(471). <https://doi.org/10.1126/SCISIGNAL.AAJ1549>
- Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., & Vetter, I. (2017). Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 10. <https://doi.org/10.3389/FNMOL.2017.00284>

- Di Chiara, G., Bassareo, V., Fenu, S., De Luca, M. A., Spina, L., Cadoni, C., Acquas, E., Carboni, E., Valentini, V., & Lecca, D. (2004). Dopamine and drug addiction: The nucleus accumbens shell connection. *Neuropharmacology*, 47(SUPPL. 1), 227–241. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.06.032>
- Di Chiara, G., Loddo, P., & Tanda, G. (1999). Reciprocal changes in prefrontal and limbic dopamine responsiveness to aversive and rewarding stimuli after chronic mild stress: implications for the psychobiology of depression. *Biological Psychiatry*, 46(12), 1624–1633. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00236-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00236-X)
- Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-5 (5th edition). (2014). *Reference Reviews*, 28(3), 36–37. <https://doi.org/10.1108/RR-10-2013-0256>
- Dimitrov, E. L., Tsuda, M. C., Usdin, T. B., Cameron, H. A., & Dimitrov, E. L. (2014). Anxiety- and depression-like behavior and impaired neurogenesis evoked by peripheral neuropathy persist following resolution of prolonged tactile hypersensitivity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 34(37), 12304–12312. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0312-14.2014>
- Ding, Y., Gao, Z. G., Jacobson, K. A., & Suffredini, A. F. (2010). Dexamethasone enhances ATP-induced inflammatory responses in endothelial cells. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 335(3), 693–702. <https://doi.org/10.1124/JPET.110.171975>
- Ding, Z. M., Ingraham, C. M., Rodd, Z. A., & McBride, W. J. (2015). The reinforcing effects of ethanol within the posterior ventral tegmental area depend on dopamine neurotransmission to forebrain cortico-limbic systems. *Addiction Biology*, 20(3), 458–468. <https://doi.org/10.1111/ADB.12138>
- Ding, Z. M., Toalston, J. E., Oster, S. M., McBride, W. J., & Rodd, Z. A. (2009). Involvement of local serotonin-2A but not serotonin-1B receptors in the reinforcing effects of ethanol within the posterior ventral tegmental area of female Wistar rats. *Psychopharmacology*, 204(3), 381–390. <https://doi.org/10.1007/S00213-009-1468-9>
- Djordjevic, A., Adzic, M., Djordjevic, J., & Radojicic, M. B. (2009). Stress type dependence of expression and cytoplasmic-nuclear partitioning of glucocorticoid receptor, hsp90 and hsp70 in Wistar rat brain. *Neuropsychobiology*, 59(4), 213–221. <https://doi.org/10.1159/000223733>
- do Nascimento, G. C., & Leite-Panissi, C. R. A. (2014). Time-dependent analysis of nociception and anxiety-like behavior in rats submitted to persistent inflammation of the temporomandibular joint. *Physiology & Behavior*, 125, 1–7. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2013.11.009>
- Dobos, N., De Vries, E. F. J., Kema, I. P., Patas, K., Prins, M., Nijholt, I. M., Dierckx, R. A., Korf, J., Den Boer, J. A., Luiten, P. G. M., & Eisel, U. L. M. (2012). The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in a mouse model of neuroinflammation-induced depression. *Journal of Alzheimer's Disease: JAD*, 28(4), 905–915. <https://doi.org/10.3233/JAD-2011-111097>
- Dobremez, E., Bouali-Benazzouz, R., Fossat, P., Monteils, L., Dulluc, J., Nagy, F., & Landry, M. (2005). Distribution and regulation of L-type calcium channels in deep dorsal horn neurons after sciatic nerve injury in rats. *The European Journal of Neuroscience*, 21(12), 3321–3333. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2005.04177.X>
- Doherty, N. S., Poubelle, P., Borgeat, P., Beaver, T. H., Westrich, G. L., & Schrader, N. L. (1985). Intraperitoneal injection of zymosan in mice induces pain, inflammation and the synthesis of peptidoleukotrienes and prostaglandin E2. *Prostaglandins*, 30(5), 769–789. [https://doi.org/10.1016/0090-6980\(85\)90006-1](https://doi.org/10.1016/0090-6980(85)90006-1)
- Domingues, M., Casaril, A. M., Smaniotta, T. Â., Birmann, P. T., Lourenço, D. de A., Bampi, S. R., Vieira, B., Lenardão, E. J., & Savegnago, L. (2022). Selanylimidazopyridine abolishes inflammation- and stress-induced depressive-like behaviors by modulating the oxido-nitrosative system. *European Journal of Pharmacology*, 914, 174570. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2021.174570>
- Dremencov, E., Weizmann, Y., Kinor, N., Gispan-Herman, I., & Yadid, G. (2006). Modulation of dopamine transmission by 5HT2C and 5HT3 receptors: a role in the antidepressant response. *Current Drug Targets*, 7(2), 165–175. <https://doi.org/10.2174/138945006775515491>
- Drevets, W. C., Videen, T. O., Price, J. L., Preskorn, S. H., Carmichael, S. T., & Raichle, M. E. (1992). A functional anatomical study of unipolar depression. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 12(9), 3628–3641. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-09-03628.1992>
- D'Souza, M. S., Liechti, M. E., Ramirez-Niño, A. M., Kuczenski, R., & Markou, A. (2011). The Metabotropic Glutamate 2/3 Receptor Agonist LY379268 Blocked Nicotine-Induced Increases in Nucleus Accumbens Shell Dopamine only in the Presence of a Nicotine-Associated Context in Rats. *Neuropsychopharmacology*, 36(10), 2111. <https://doi.org/10.1038/NPP.2011.103>
- D'Souza, W. N., Ng, G. Y., Youngblood, B. D., Tsuji, W., & Lehto, S. G. (2011). A review of current animal models of osteoarthritis pain. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 12(10), 1596–1612. <https://doi.org/10.2174/138920111798357320>
- Dubuisson, D., & Dennis, S. G. (1977). The formalin test: a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*, 4(2), 161–174. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(77\)90130-0](https://doi.org/10.1016/0304-3959(77)90130-0)
- Duterte-Boucher, D., Leclère, J. F., Panissaud, C., & Costentin, J. (1988). Acute effects of direct dopamine agonists in the mouse behavioral despair test. *European Journal of Pharmacology*, 154(2), 185–190. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(88\)90096-9](https://doi.org/10.1016/0014-2999(88)90096-9)
- Eisch, A. J., & Petrik, D. (2012). Depression and hippocampal neurogenesis: a road to remission? *Science (New York, N.Y.)*, 338(6103), 72–75. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1222941>
- El Mestikawy, S., Wallén-Mackenzie, Å., Fortin, G. M., Descarries, L., & Trudeau, L. E. (2011). From glutamate co-release to vesicular synergy: vesicular glutamate transporters. *Nature Reviews. Neuroscience*, 12(4), 204–216. <https://doi.org/10.1038/NRN2969>
- Eliwa, H., Belzung, C., & Surget, A. (2017). Adult hippocampal neurogenesis: Is it the alpha and omega of antidepressant action? *Biochemical Pharmacology*, 141, 86–99. <https://doi.org/10.1016/J.BCP.2017.08.005>

- Estep, C. M., Galtieri, D. J., Zampese, E., Goldberg, J. A., Brichta, L., Greengard, P., & Surmeier, D. J. (2016). Transient Activation of GABAB Receptors Suppresses SK Channel Currents in Substantia Nigra Pars Compacta Dopaminergic Neurons. *PLoS One*, 11(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0169044>
- Etkin, A., Büchel, C., & Gross, J. J. (2015). The neural bases of emotion regulation. *Nature Reviews. Neuroscience*, 16(11), 693–700. <https://doi.org/10.1038/NRN4044>
- Everitt, B. J., Morris, K. A., O'Brien, A., & Robbins, T. W. (1991). The basolateral amygdala-ventral striatal system and conditioned place preference: further evidence of limbic-striatal interactions underlying reward-related processes. *Neuroscience*, 42(1), 1–18. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(91\)90145-E](https://doi.org/10.1016/0306-4522(91)90145-E)
- Ewan, E. E., & Martin, T. J. (2011a). Opioid facilitation of rewarding electrical brain stimulation is suppressed in rats with neuropathic pain. *Anesthesiology*, 114(3), 624–632. <https://doi.org/10.1097/ALN.0B013E31820A4EDB>
- Ewan, E. E., & Martin, T. J. (2011b). Rewarding electrical brain stimulation in rats after peripheral nerve injury: decreased facilitation by commonly abused prescription opioids. *Anesthesiology*, 115(6), 1271–1280. <https://doi.org/10.1097/ALN.0B013E3182330448>
- Ezzatpanah, S., Babapour, V., & Haghparast, A. (2016). Differential contribution of orexin receptors within the ventral tegmental area to modulation of persistent inflammatory pain. *European Journal of Pain (London, England)*, 20(7), 1090–1101. <https://doi.org/10.1002/EJP.833>
- Faget, L., Osakada, F., Duan, J., Ressler, R., Johnson, A. B., Proudfoot, J. A., Yoo, J. H., Callaway, E. M., & Hnasko, T. S. (2016). Afferent Inputs to Neurotransmitter-Defined Cell Types in the Ventral Tegmental Area. *Cell Reports*, 15(12), 2796–2808. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2016.05.057>
- Fallon, J. H., & Moore, R. Y. (1978). Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *The Journal of Comparative Neurology*, 180(3), 545–579. <https://doi.org/10.1002/CNE.901800310>
- Fang, H., & Beier, F. (2014). Mouse models of osteoarthritis: modelling risk factors and assessing outcomes. *Nature Reviews. Rheumatology*, 10(7), 413–421. <https://doi.org/10.1038/NRRHEUM.2014.46>
- Fardet, L., Petersen, I., & Nazareth, I. (2012). Suicidal behavior and severe neuropsychiatric disorders following glucocorticoid therapy in primary care. *The American Journal of Psychiatry*, 169(5), 491–497. <https://doi.org/10.1176/APPI.AJP.2011.11071009>
- Faure, A., Richard, J. M., & Berridge, K. C. (2010). Desire and Dread from the Nucleus Accumbens: Cortical Glutamate and Subcortical GABA Differentially Generate Motivation and Hedonic Impact in the Rat. *PLoS ONE*, 5(6). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0011223>
- Fava, M., & Davidson, K. G. (1996). Definition and epidemiology of treatment-resistant depression. *The Psychiatric Clinics of North America*, 19(2), 179–200. [https://doi.org/10.1016/S0193-953X\(05\)70283-5](https://doi.org/10.1016/S0193-953X(05)70283-5)
- Fayaz, A., Croft, P., Langford, R. M., Donaldson, L. J., & Jones, G. T. (2016). Prevalence of chronic pain in the UK: a systematic review and meta-analysis of population studies. *BMJ Open*, 6(6). <https://doi.org/10.1136/BMJOPEN-2015-010364>
- Fehrenbacher, J. C., Vasko, M. R., & Duarte, D. B. (2012). Models of Inflammation: Carrageenan- or Complete Freund's Adjuvant (CFA)-Induced Edema and Hypersensitivity in the Rat. *Current Protocols in Pharmacology*, 56(1). <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0504s6>
- Felten, D. L., & Sladek, J. R. (1983). Monoamine distribution in primate brain V. Monoaminergic nuclei: Anatomy, pathways and local organization. *Brain Research Bulletin*, 10(2), 171–284. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(83\)90045-X](https://doi.org/10.1016/0361-9230(83)90045-X)
- Ferdman, N., Murmu, R. P., Bock, J., Braun, K., & Leshem, M. (2007). Weaning age, social isolation, and gender, interact to determine adult explorative and social behavior, and dendritic and spine morphology in prefrontal cortex of rats. *Behavioural Brain Research*, 180(2), 174–182. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2007.03.011>
- Fernández-Guasti, A., Reyes, R., Martínez-Mota, L., & López-Muñoz, F. J. (2005). Influence of inflammatory nociception on the anxiolytic-like effect of diazepam and buspirone in rats. *Psychopharmacology*, 180(3), 399–407. <https://doi.org/10.1007/S00213-005-2190-X>
- Fernando, A. B. P., Urcelay, G. P., Mar, A. C., Dickinson, T. A., & Robbins, T. W. (2014). The role of the nucleus accumbens shell in the mediation of the reinforcing properties of a safety signal in free-operant avoidance: dopamine-dependent inhibitory effects of d-amphetamine. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 39(6), 1420–1430. <https://doi.org/10.1038/NPP.2013.337>
- Ferreira-Chamorro, P., Redondo, A., Riego, G., Leánez, S., & Pol, O. (2018). Sulforaphane Inhibited the Nociceptive Responses, Anxiety- and Depressive-Like Behaviors Associated With Neuropathic Pain and Improved the Anti-allodynic Effects of Morphine in Mice. *Frontiers in Pharmacology*, 9(NOV). <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2018.01332>
- Fischer, B. D., Adeyemo, A., O'Leary, M. E., & Bottaro, A. (2017). Animal models of rheumatoid pain: experimental systems and insights. *Arthritis Research & Therapy*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/S13075-017-1361-6>
- Fishbain, D. A., Cole, B., Lewis, J. E., & Gao, J. (2014). What is the evidence that neuropathic pain is present in chronic low back pain and soft tissue syndromes? An evidence-based structured review. *Pain Medicine (Malden, Mass.)*, 15(1), 4–15. <https://doi.org/10.1111/PME.12229>
- Floresco, S. B., & Phillips, A. G. (1999). Dopamine and hippocampal input to the nucleus accumbens play an essential role in the search for food in an unpredictable environment. *Psychobiology*, 27(2), 277–286. <https://doi.org/10.3758/BF03332121/METRICS>
- Floresco, S. B., Seamans, J. K., & Phillips, A. G. (1997). Selective roles for hippocampal, prefrontal cortical, and ventral striatal circuits in radial-arm maze tasks with or without a delay. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 17(5), 1880–1890. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-05-01880.1997>
- Floresco, S. B., West, A. R., Ash, B., Moorel, H., & Grace, A. A. (2003). Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission. *Nature Neuroscience*, 6(9), 968–973. <https://doi.org/10.1038/NN1103>

- Flores-Dourojeanni, J. P., Van Rijt, C., Van Den Munkhof, M. H., Boekhoudt, L., Luijendijk, M. C. M., Vanderschuren, L. J. M. J., & Adan, R. A. H. (2021). Temporally Specific Roles of Ventral Tegmental Area Projections to the Nucleus Accumbens and Prefrontal Cortex in Attention and Impulse Control. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 41(19), 4293–4304. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0477-20.2020>
- Fone, K. C. F., & Porkess, M. V. (2008). Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(6), 1087–1102. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2008.03.003>
- Fossat, P., Dobremez, E., Bouali-Benazzouz, R., Favereaux, A., Bertrand, S. S., Kilk, K., Léger, C., Cazalets, J. R., Langel, Ü., Landry, M., & Nagy, F. (2010). Knockdown of L calcium channel subtypes: differential effects in neuropathic pain. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(3), 1073–1085. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3145-09.2010>
- Foster, G. (1994). Ontogeny of catecholaminergic neurons in the central nervous system of mammalian species: general aspects. *Phylogeny and Development of Catecholamine Systems in the CNS of Vertebrates*, 405–434. <https://www.worldcat.org/title/29952121>
- Francis, T. C., Chandra, R., Friend, D. M., Finkel, E., Dayrit, G., Miranda, J., Brooks, J. M., Iñiguez, S. D., O'Donnell, P., Kravitz, A., & Lobo, M. K. (2015). Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress. *Biological Psychiatry*, 77(3), 212–222. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2014.07.021>
- Franklin, G. M., & Friedman, A. S. (2015). Work-Related Carpal Tunnel Syndrome: Diagnosis and Treatment Guideline. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 26(3), 523–537. <https://doi.org/10.1016/J.PMR.2015.04.003>
- Franklin, K. B. J., & Paxinos, G. (2013). Paxinos and Franklin's The mouse brain in stereotaxic coordinates.
- Freis, E. D. (1954). Mental depression in hypertensive patients treated for long periods with large doses of reserpine. *The New England Journal of Medicine*, 251(25), 1006–1008. <https://doi.org/10.1056/NEJM195412162512504>
- Freyd, M. (1923). The Graphic Rating Scale. *Journal of Educational Psychology*, 14(2), 83–102. <https://doi.org/10.1037/H0074329>
- Frias, B., & Merighi, A. (2016). Capsaicin, Nociception and Pain. *Molecules*, 21(6). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES21060797>
- Froeliger, B., McConnell, P. A., Stankeviciute, N., McClure, E. A., Kalivas, P. W., & Gray, K. M. (2015). The effects of N-Acetylcysteine on frontostriatal resting-state functional connectivity, withdrawal symptoms and smoking abstinence: A double-blind, placebo-controlled fMRI pilot study. *Drug and Alcohol Dependence*, 156, 234–242. <https://doi.org/10.1016/J.DRUGALCDEP.2015.09.021>
- Frye, C. A., & Wawrzycki, J. A. (2003). Effect of prenatal stress and gonadal hormone condition on depressive behaviors of female and male rats. *Hormones and Behavior*, 44(4), 319–326. [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(03\)00159-4](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(03)00159-4)
- Fu, B., Wen, S. N., Wang, B., Wang, K., Zhang, J. Y., Weng, X. C., & Liu, S. J. (2018). Gabapentin regulates dopaminergic neuron firing and theta oscillation in the ventral tegmental area to reverse depression-like behavior in chronic neuropathic pain state. *Journal of Pain Research*, 11, 2247–2256. <https://doi.org/10.2147/JPR.S170167>
- Fu, B., Weng, X. C., Wang, J., Huang, T., Wang, B., Lin, S. de, & Liu, S. J. (2016). [The impact of electrophysiology of central dopaminergic neurons and the depression-state induced by chronic neuropathic pain]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi = Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi = Chinese Journal of Applied Physiology*, 32(5), 403–407. <https://doi.org/10.13459/J.CNKI.CJAP.2016.05.005>
- Fukuhara, K., Ishikawa, K., Yasuda, S., Kishishita, Y., Kim, H. K., Kakeda, T., Yamamoto, M., Norii, T., & Ishikawa, T. (2012). Intracerebroventricular 4-methylcatechol (4-MC) ameliorates chronic pain associated with depression-like behavior via induction of brain-derived neurotrophic factor (BDNF). *Cellular and Molecular Neurobiology*, 32(6), 971–977. <https://doi.org/10.1007/S10571-011-9782-2>
- Fuxe, K., Hökfelt, T., & Ungerstedt, U. (1970). Morphological and Functional Aspects of Central Monoamine Neurons. *International Review of Neurobiology*, 13(C), 93–126. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(08\)60167-1](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(08)60167-1)
- Gai, B. M., Bortolatto, C. F., Brüning, C. A., Zborowski, V. A., Stein, A. L., Zeni, G., & Nogueira, C. W. (2014). Depression-related behavior and mechanical allodynia are blocked by 3-(4-fluorophenylselenenyl)-2,5-diphenylselenophene in a mouse model of neuropathic pain induced by partial sciatic nerve ligation. *Neuropharmacology*, 79, 580–589. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2014.01.020>
- Galan-Arriero, I., Avila-Martin, G., Ferrer-Donato, A., Gomez-Soriano, J., Bravo-Esteban, E., & Taylor, J. (2014). Oral administration of the p38 $\alpha$  MAPK inhibitor, UR13870, inhibits affective pain behavior after spinal cord injury. *Pain*, 155(10), 2188–2198. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2014.08.030>
- Gao, S. H., Shen, L. L., Wen, H. Z., Zhao, Y. D., Chen, P. H., & Ruan, H. Z. (2020). The projections from the anterior cingulate cortex to the nucleus accumbens and ventral tegmental area contribute to neuropathic pain-evoked aversion in rats. *Neurobiology of Disease*, 140, 104862. <https://doi.org/10.1016/J.NBD.2020.104862>
- Garg, S., Deshmukh, V. R., & Prasoon, P. (2017). Possible modulation of PPAR- $\gamma$  cascade against depression caused by neuropathic pain in rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 28(6), 593–600. <https://doi.org/10.1515/JBCPP-2016-0108>
- Garris, P. A., Kilpatrick, M., Bunin, M. A., Michael, D., Walker, Q. D., & Wightman, R. M. (1999). Dissociation of dopamine release in the nucleus accumbens from intracranial self-stimulation. *Nature* 1999 398:6722, 398(6722), 67–69. <https://doi.org/10.1038/18019>
- Gaston-Johansson, F. (1996). Measurement of pain: The psychometric properties of the Pain-O-Meter, a simple, inexpensive pain assessment tool that could change health care practices. *Journal of Pain and Symptom Management*, 12(3), 172–181. [https://doi.org/10.1016/0885-3924\(96\)00128-5](https://doi.org/10.1016/0885-3924(96)00128-5)
- Gaston-Johansson, F., Hofgren, C., Watson, P., & Herlitz, J. (1991). Myocardial infarction pain: systematic description and analysis. *Intensive Care Nursing*, 7(1), 3–10. [https://doi.org/10.1016/0266-612X\(91\)90028-P](https://doi.org/10.1016/0266-612X(91)90028-P)

- Gauriau, C., & Bernard, J. F. (2004). Posterior triangular thalamic neurons convey nociceptive messages to the secondary somatosensory and insular cortices in the rat. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 24(3), 752–761. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3272-03.2004>
- Geha, P. Y., Baliki, M. N., Chialvo, D. R., Harden, R. N., Paice, J. A., & Apkarian, A. V. (2007). Brain activity for spontaneous pain of postherpetic neuralgia and its modulation by lidocaine patch therapy. *Pain*, 128(1–2), 88–100. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2006.09.014>
- Geisler, S., & Zahm, D. S. (2005). Afferents of the ventral tegmental area in the rat-anatomical substratum for integrative functions. *The Journal of Comparative Neurology*, 490(3), 270–294. <https://doi.org/10.1002/CNE.20668>
- Georges, F., & Aston-Jones, G. (2001). Potent regulation of midbrain dopamine neurons by the bed nucleus of the stria terminalis. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(16). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-16-J0003.2001>
- German, D. C., & Manaye, K. F. (1993). Midbrain dopaminergic neurons (nuclei A8, A9, and A10): three-dimensional reconstruction in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 331(3), 297–309. <https://doi.org/10.1002/CNE.903310302>
- Gerrits, M. M. J. G., van Marwijk, H. W. J., van Oppen, P., van der Horst, H., & Penninx, B. W. J. H. (2015). Longitudinal association between pain, and depression and anxiety over four years. *Journal of Psychosomatic Research*, 78(1), 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2014.10.011>
- Geschwind, D. H., & Flint, J. (2015). Genetics and genomics of psychiatric disease. *Science (New York, N.Y.)*, 349(6255), 1489–1494. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAA8954>
- Ghafarimoghdam, M., Mashayekh, R., Gholami, M., Fereydani, P., Shelley-Tremblay, J., Kandezi, N., Sabouri, E., & Motaghinejad, M. (2022). A review of behavioral methods for the evaluation of cognitive performance in animal models: Current techniques and links to human cognition. *Physiology & Behavior*, 244. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2021.113652>
- Ghasemzadeh, Z., Seddighfar, M., Alijanpour, S., & Rezayof, A. (2021). Ventral tegmental area serotonin 5-HT1A receptors and corticolimbic cFos/BDNF/GFAP signaling pathways mediate dextromethorphan/morphine anti-allodynia. *Physiology & Behavior*, 239. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2021.113522>
- Giorgi, O., Lecca, D., Piras, G., Driscoll, P., & Corda, M. G. (2003). Dissociation between mesocortical dopamine release and fear-related behaviours in two psychogenetically selected lines of rats that differ in coping strategies to aversive conditions. *The European Journal of Neuroscience*, 17(12), 2716–2726. <https://doi.org/10.1046/J.1460-9568.2003.02689.X>
- Glasson, S. S., Blanchet, T. J., & Morris, E. A. (2007). The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 129/SvEv mouse. *Osteoarthritis and Cartilage*, 15(9), 1061–1069. <https://doi.org/10.1016/J.JOCA.2007.03.006>
- Goffer, Y., Xu, D., Eberle, S. E., D'amour, J., Lee, M., Tukey, D., Froemke, R. C., Ziff, E. B., & Wang, J. (2013). Calcium-permeable AMPA receptors in the nucleus accumbens regulate depression-like behaviors in the chronic neuropathic pain state. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(48), 19034–19044. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2454-13.2013>
- Goldberg, D. S., & McGee, S. J. (2011). Pain as a global public health priority. *BMC Public Health*, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-11-770>
- Golden, S. A., Covington, H. E., Berton, O., & Russo, S. J. (2011). A standardized protocol for repeated social defeat stress in mice. *Nature Protocols*, 6(8), 1183–1191. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2011.361>
- Gonçalves, L., Silva, R., Pinto-Ribeiro, F., Pêgo, J. M., Bessa, J. M., Pertovaara, A., Sousa, N., & Almeida, A. (2008). Neuropathic pain is associated with depressive behaviour and induces neuroplasticity in the amygdala of the rat. *Experimental Neurology*, 213(1), 48–56. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2008.04.043>
- Gong, L., Yin, Y., He, C., Ye, Q., Bai, F., Yuan, Y., Zhang, H., Lv, L., Zhang, H., Xie, C., & Zhang, Z. (2017). Disrupted reward circuits is associated with cognitive deficits and depression severity in major depressive disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 84, 9–17. <https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2016.09.016>
- Gong, X., Chen, Y., Chang, J., Huang, Y., Cai, M., & Zhang, M. (2018). Environmental enrichment reduces adolescent anxiety- and depression-like behaviors of rats subjected to infant nerve injury. *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S12974-018-1301-7/FIGURES/7>
- Goñi-Balentiaga, O., Perez-Tejada, J., Renteria-Dominguez, A., Lebeña, A., & Labaka, A. (2018). Social instability in female rodents as a model of stress related disorders: A systematic review. *Physiology & Behavior*, 196, 190–199. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2018.09.001>
- González-Sepúlveda, M., Pozo, O. J., Marcos, J., & Valverde, O. (2016). Chronic pain causes a persistent anxiety state leading to increased ethanol intake in CD1 mice. *Journal of Psychopharmacology*, 30(2), 188–203. <https://doi.org/10.1177/0269881115622238>
- Goodwill, H. L., Manzano-Nieves, G., Gallo, M., Lee, H. I., Oyerinde, E., Serre, T., & Bath, K. G. (2019). Early life stress leads to sex differences in development of depressive-like outcomes in a mouse model. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 44(4), 711–720. <https://doi.org/10.1038/S41386-018-0195-5>
- Goshen, I., Kreisel, T., Ben-Menachem-Zidon, O., Licht, T., Weidenfeld, J., Ben-Hur, T., & Yirmiya, R. (2008). Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression. *Molecular Psychiatry*, 13(7), 717–728. <https://doi.org/10.1038/SJ.MP.4002055>
- Grace, A. A., & Bunney, B. S. (1984a). The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 4(11), 2877–2890. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.04-11-02877.1984>
- Grace, A. A., & Bunney, B. S. (1984b). The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 4(11), 2866–2876. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.04-11-02866.1984>

- Grace, A. A., & Bunney, B. S. (1985). Opposing effects of striatonigral feedback pathways on midbrain dopamine cell activity. *Brain Research*, 333(2), 271–284. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)91581-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)91581-1)
- Grace, A. A., Floresco, S. B., Goto, Y., & Lodge, D. J. (2007). Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends in Neurosciences*, 30(5), 220–227. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2007.03.003>
- Grégoire, S., Wattiez, A. S., Etienne, M., Marchand, F., & Ardid, D. (2014). Monoarthritis-induced emotional and cognitive impairments in rats are sensitive to low systemic doses or intra-amygdala injections of morphine. *European Journal of Pharmacology*, 735(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.EJPHAR.2014.03.056>
- Grenier, P., Mailhiot, M. C., Cahill, C. M., & Olmstead, M. C. (2022). Blockade of dopamine D1 receptors in male rats disrupts morphine reward in pain naïve but not in chronic pain states. *Journal of Neuroscience Research*, 100(1), 297–308. <https://doi.org/10.1002/JNR.24553>
- Grieder, T. E., Herman, M. A., Contet, C., Tan, L. A., Vargas-Perez, H., Cohen, A., Chwalek, M., Maal-Bared, G., Freiling, J., Schlosburg, J. E., Clarke, L., Crawford, E., Koebel, P., Repunte-Canonigo, V., Sanna, P. P., Tapper, A. R., Roberto, M., Kieffer, B. L., Sawchenko, P. E., ... George, O. (2014). VTA CRF neurons mediate the aversive effects of nicotine withdrawal and promote intake escalation. *Nature Neuroscience*, 17(12), 1751–1758. <https://doi.org/10.1038/NN.3872>
- Griffin, T. M., Fermor, B., Huebner, J. L., Kraus, V. B., Rodriguiz, R. M., Wetsel, W. C., Cao, L., Setton, L. A., & Guilak, F. (2010). Diet-induced obesity differentially regulates behavioral, biomechanical, and molecular risk factors for osteoarthritis in mice. *Arthritis Research & Therapy*, 12(4), R130. <https://doi.org/10.1186/ar3068>
- Grizzell, J. A., Iarkov, A., Holmes, R., Mori, T., & Echeverria, V. (2014). Cotinine reduces depressive-like behavior, working memory deficits, and synaptic loss associated with chronic stress in mice. *Behavioural Brain Research*, 268, 55–65. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2014.03.047>
- Groenewegen, H. J. (1988). Organization of the afferent connections of the mediodorsal thalamic nucleus in the rat, related to the mediodorsal-prefrontal topography. *Neuroscience*, 24(2), 379–431. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(88\)90339-9](https://doi.org/10.1016/0306-4522(88)90339-9)
- Guan, Y., Xiao, C., Krnjević, K., Xie, G., Zuo, W., & Ye, J. H. (2012). GABAergic actions mediate opposite ethanol effects on dopaminergic neurons in the anterior and posterior ventral tegmental area. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 341(1), 33–42. <https://doi.org/10.1124/JPET.111.187963>
- Guida, F., Luongo, L., Marmo, F., Romano, R., Iannotta, M., Napolitano, F., Belardo, C., Marabese, I., D'Aniello, A., De Gregorio, D., Rossi, F., Piscitelli, F., Lattanzi, R., De Bartolomeis, A., Usiello, A., Di Marzo, V., De Novellis, V., & Maione, S. (2015). Palmitoylethanolamide reduces pain-related behaviors and restores glutamatergic synapses homeostasis in the medial prefrontal cortex of neuropathic mice. *Molecular Brain*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/S13041-015-0139-5>
- Guillemin, G. J. (2012). Quinolinic acid, the inescapable neurotoxin. *The FEBS Journal*, 279(8), 1356–1365. <https://doi.org/10.1111/J.1742-4658.2012.08485.X>
- Guilloux, J. P., Seney, M., Edgar, N., & Sibille, E. (2011). Integrated behavioral z-scoring increases the sensitivity and reliability of behavioral phenotyping in mice: relevance to emotionality and sex. *Journal of Neuroscience Methods*, 197(1), 21–31. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUMETH.2011.01.019>
- Guo, H. liang, Xiao, Y., Tian, Z., Li, X. bo, Wang, D. sheng, Wang, X. shang, Zhang, Z. wu, Zhao, M. gao, & Liu, S. bing. (2016). Anxiolytic effects of sesamin in mice with chronic inflammatory pain. *Nutritional Neuroscience*, 19(6), 231–236. <https://doi.org/10.1179/1476830515Y0000000015>
- Gureje, O., Von Korff, M., Simon, G. E., & Gater, R. (1998). Persistent pain and well-being: a World Health Organization Study in Primary Care. *JAMA*, 280(2), 147–151. <https://doi.org/10.1001/JAMA.280.2.147>
- Haapakoski, R., Mathieu, J., Ebmeier, K. P., Alenius, H., & Kivimäki, M. (2015). Cumulative meta-analysis of interleukins 6 and 1 $\beta$ , tumour necrosis factor  $\alpha$  and C-reactive protein in patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 49, 206–215. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2015.06.001>
- Hägg, O., Fritzell, P., Hedlund, R., Möller, H., Ekselius, L., & Nordwall, A. (2003). Pain-drawing does not predict the outcome of fusion surgery for chronic low-back pain: a report from the Swedish Lumbar Spine Study. *European Spine Journal : Official Publication of the European Spine Society, the European Spinal Deformity Society, and the European Section of the Cervical Spine Research Society*, 12(1), 2–11. <https://doi.org/10.1007/S00586-002-0427-5>
- Haller, J., Fuchs, E., Halász, J., & Makara, G. B. (1999). Defeat is a major stressor in males while social instability is stressful mainly in females: towards the development of a social stress model in female rats. *Brain Research Bulletin*, 50(1), 33–39. [https://doi.org/10.1016/S0361-9230\(99\)00087-8](https://doi.org/10.1016/S0361-9230(99)00087-8)
- Hamann, F. R., Zago, A. M., Rossato, M. F., Beck, V. R., Mello, C. F., de Brum, T. F., de Carvalho, L. M., Faccin, H., Oliveira, S. M., & Rubin, M. A. (2016). Antinociceptive and antidepressant-like effects of the crude extract of *Vitex megapotamica* in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 192, 210–216. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2016.07.045>
- Hamilton, J. P., Etkin, A., Furman, D. J., Lemus, M. G., Johnson, R. F., & Gotlib, I. H. (2012). Functional neuroimaging of major depressive disorder: a meta-analysis and new integration of base line activation and neural response data. *The American Journal of Psychiatry*, 169(7), 693–703. <https://doi.org/10.1176/APPI.AJP.2012.11071105>
- Hammen, C. (2018). Risk Factors for Depression: An Autobiographical Review. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-CLINPSY-050817-084811>, 14, 1–28. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-CLINPSY-050817-084811>
- Han, L. N., Zhang, L., Li, L. B., Sun, Y. N., Wang, Y., Chen, L., Guo, Y., Zhang, Y. M., Zhang, Q. J., & Liu, J. (2015). Activation of serotonin(2C) receptors in the lateral habenular nucleus increases the expression of depression-related behaviors in the hemiparkinsonian rat. *Neuropharmacology*, 93, 68–79. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2015.01.024>

- Hargreaves, K., Dubner, R., Brown, F., Flores, C., & Joris, J. (1988). A new and sensitive method for measuring thermal nociception in cutaneous hyperalgesia. *Pain*, 32(1), 77–88. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(88\)90026-7](https://doi.org/10.1016/0304-3959(88)90026-7)
- Harris, T. O., Borsanyi, S., Messari, S., Stanford, K., Cleary, S. E., Shiers, H. M., Brown, G. W., & Herbert, J. (2000). Morning cortisol as a risk factor for subsequent major depressive disorder in adult women. *British Journal of Psychiatry*, 177(6), 505–510. <https://doi.org/10.1192/bjp.177.6.505>
- Harvey, B. H., Regenass, W., Dreyer, W., & Möller, M. (2019). Social isolation rearing-induced anxiety and response to agomelatine in male and female rats: Role of corticosterone, oxytocin, and vasopressin. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 33(5), 640. <https://doi.org/10.1177/0269881119826783>
- Hasue, R. H., & Shammah-Lagnado, S. J. (2002). Origin of the dopaminergic innervation of the central extended amygdala and accumbens shell: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 454(1), 15–33. <https://doi.org/10.1002/CNE.10420>
- Hauber, W., & Sommer, S. (2009). Prefrontostriatal circuitry regulates effort-related decision making. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 19(10), 2240–2247. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHN241>
- Hayes, D. J., Chen, D. Q., Zhong, J., Lin, A., Behan, B., Walker, M., & Hodaie, M. (2017). Affective Circuitry Alterations in Patients with Trigeminal Neuralgia. *Frontiers in Neuroanatomy*, 11. <https://doi.org/10.3389/FNANA.2017.00073>
- He, Y., Tian, X., Hu, X., Porreca, F., & Wang, Z. J. (2012). Negative reinforcement reveals non-evoked ongoing pain in mice with tissue or nerve injury. *The Journal of Pain*, 13(6), 598–607. <https://doi.org/10.1016/J.JPAIN.2012.03.011>
- Hédou, G., Pryce, C., Di Iorio, L., Heidbreder, C. A., & Feldon, J. (2001). An automated analysis of rat behavior in the forced swim test. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 70(1), 65–76. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00575-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00575-5)
- Heim, C., & Binder, E. B. (2012). Current research trends in early life stress and depression: review of human studies on sensitive periods, gene-environment interactions, and epigenetics. *Experimental Neurology*, 233(1), 102–111. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2011.10.032>
- Heimer, L., & Wilson, R. (n.d.). D.(1975). The subcortical projections of the allocortex: similarities in the neural associations of the hippocampus, the piriform cortex and the neocortex. *Perspectives in Neurobiology. Golgi Centennial Symposium*, New York, NY, 177–193.
- Henn, F. A., & Vollmayr, B. (2005). Stress models of depression: forming genetically vulnerable strains. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(4–5), 799–804. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2005.03.019>
- Henny, P., Brown, M. T. C., Northrop, A., Faunes, M., Ungless, M. A., Magill, P. J., & Bolam, J. P. (2012). Structural correlates of heterogeneous in vivo activity of midbrain dopaminergic neurons. *Nature Neuroscience* 2012 15:4, 15(4), 613–619. <https://doi.org/10.1038/nn.3048>
- Herkenham, M., & Nauta, W. J. H. (1979). Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 187(1), 19–47. <https://doi.org/10.1002/CNE.901870103>
- Herzberg, U., & Sagen, J. (2001). Peripheral nerve exposure to HIV viral envelope protein gp120 induces neuropathic pain and spinal gliosis. *Journal of Neuroimmunology*, 116(1), 29–39. [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(01\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(01)00288-0)
- Hikosaka, O. (2010). The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nature Reviews Neuroscience* 2010 11:7, 11(7), 503–513. <https://doi.org/10.1038/nrn2866>
- Hill, M. N., Hellemans, K. G. C., Verma, P., Gorzalka, B. B., & Weinberg, J. (2012). Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(9), 2085–2117. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2012.07.001>
- Hirschfeld, R. M. (2000). History and evolution of the monoamine hypothesis of depression. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 61 Suppl 6, 4–6.
- Hisaoka-Nakashima, K., Ohata, K., Yoshimoto, N., Tokuda, S., Yoshii, N., Nakamura, Y., Wang, D., Liu, K., Wake, H., Yoshida, T., Ago, Y., Hashimoto, K., Nishibori, M., & Morioka, N. (2022). High-mobility group box 1-mediated hippocampal microglial activation induces cognitive impairment in mice with neuropathic pain. *Experimental Neurology*, 355, 114146–114146. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2022.114146>
- Hjelmstad, G. O., Xia, Y., Margolis, E. B., & Fields, H. L. (2013). Opioid Modulation of Ventral Pallidal Afferents to Ventral Tegmental Area Neurons. *The Journal of Neuroscience*, 33(15), 6454. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0178-13.2013>
- Hnasko, T. S., Hjelmstad, G. O., Fields, H. L., & Edwards, R. H. (2012). Ventral Tegmental Area Glutamate Neurons: Electrophysiological Properties and Projections. *The Journal of Neuroscience*, 32(43), 15076. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3128-12.2012>
- Ho Kim, S., & Mo Chung, J. (1992). An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain*, 50(3), 355–363. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(92\)90041-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(92)90041-9)
- Holsboer, F. (2000). The Corticosteroid Receptor Hypothesis of Depression. *Neuropsychopharmacology*, 23(5), 477–501. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00159-7](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00159-7)
- Hong, S., Zhou, T. C., Smith, M., Saleem, K. S., & Hikosaka, O. (2011). Negative reward signals from the lateral habenula to dopamine neurons are mediated by rostromedial tegmental nucleus in primates. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(32), 11457–11471. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1384-11.2011>
- Howland, J. G., Taepavaraprak, P., & Phillips, A. G. (2002). Glutamate Receptor-Dependent Modulation of Dopamine Efflux in the Nucleus Accumbens by Basolateral, But Not Central, Nucleus of the Amygdala in Rats. *The Journal of Neuroscience*, 22(3), 1137. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-03-01137.2002>

- Howland, M. A., Sandman, C. A., & Glynn, L. M. (2017). Developmental origins of the human hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism*, 12(5), 321–339. <https://doi.org/10.1080/17446651.2017.1356222>
- Hu, C., Luo, Y., Wang, H., Kuang, S., Liang, G., Yang, Y., Mai, S., & Yang, J. (2017). Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *PloS One*, 12(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0185129>
- Hu, H., Cui, Y., & Yang, Y. (2020). Circuits and functions of the lateral habenula in health and in disease. *Nature Reviews. Neuroscience*, 21(5), 277–295. <https://doi.org/10.1038/S41583-020-0292-4>
- Hu, Y., Yang, J., Hu, Y., Wang, Y., & Li, W. (2010). Amitriptyline rather than lornoxicam ameliorates neuropathic pain-induced deficits in abilities of spatial learning and memory. *European Journal of Anaesthesiology*, 27(2), 162–168. <https://doi.org/10.1097/EJA.0B013E328331A3D5>
- Huang, J., Gadotti, V. M., Chen, L., Souza, I. A., Huang, S., Wang, D., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Zhang, Z., & Zamponi, G. W. (2019). A neuronal circuit for activating descending modulation of neuropathic pain. *Nature Neuroscience* 2019 22:10, 22(10), 1659–1668. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0481-5>
- Huang, M., Wang, G., Lin, Y., Guo, Y., Ren, X., Shao, J., Cao, J., Zang, W., & Li, Z. (2022). Dopamine receptor D2, but not D1, mediates the reward circuit from the ventral tegmental area to the central amygdala, which is involved in pain relief. *Molecular Pain*, 18. <https://doi.org/10.1177/17448069221145096>
- Huang, P., Li, C., Fu, T., Zhao, D., Yi, Z., Lu, Q., Guo, L., & Xu, X. (2015). Flupirtine attenuates chronic restraint stress-induced cognitive deficits and hippocampal apoptosis in male mice. *Behavioural Brain Research*, 288, 1–10. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2015.04.004>
- Huang, S., Borgland, S. L., & Zamponi, G. W. (2019). Peripheral nerve injury-induced alterations in VTA neuron firing properties. *Molecular Brain*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/S13041-019-0511-Y>
- Huang, S., Zhang, Z., Gambeta, E., Xu, S. C., Thomas, C., Godfrey, N., Chen, L., M'Dahoma, S., Borgland, S. L., & Zamponi, G. W. (2020). Dopamine Inputs from the Ventral Tegmental Area into the Medial Prefrontal Cortex Modulate Neuropathic Pain-Associated Behaviors in Mice. *Cell Reports*, 31(12). <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2020.107812>
- Huang, W., Calvo, M., Pheby, T., Bennett, D. L. H., & Rice, A. S. C. (2017). A rodent model of HIV protease inhibitor indinavir induced peripheral neuropathy. *Pain*, 158(1), 75–85. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000000727>
- Huang, Y., Smith, D. E., Ibáñez-Sandoval, O., Sims, J. E., & Friedman, W. J. (2011). Neuron-specific effects of interleukin-1 $\beta$  are mediated by a novel isoform of the IL-1 receptor accessory protein. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(49), 18048–18059. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4067-11.2011>
- Hunskar, S., & Hole, K. (1987). The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, 30(1), 103–114. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(87\)90088-1](https://doi.org/10.1016/0304-3959(87)90088-1)
- Hyde, C. L., Nagle, M. W., Tian, C., Chen, X., Paciga, S. A., Wendland, J. R., Tung, J. Y., Hinds, D. A., Perlis, R. H., & Winslow, A. R. (2016). Identification of 15 genetic loci associated with risk of major depression in individuals of European descent. *Nature Genetics*, 48(9), 1031–1036. <https://doi.org/10.1038/NG.3623>
- Hyland, B. I., Reynolds, J. N. J., Hay, J., Perk, C. G., & Miller, R. (2002). Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat. *Neuroscience*, 114(2), 475–492. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(02\)00267-1](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(02)00267-1)
- Hyman, C., Juhasz, M., Jackson, C., Wright, P., Ip, N. Y., & Lindsay, R. M. (1994). Overlapping and distinct actions of the neurotrophins BDNF, NT-3, and NT-4/5 on cultured dopaminergic and GABAergic neurons of the ventral mesencephalon. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 14(1), 335–347. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-01-00335.1994>
- Hyman, S. (2014). Mental health: depression needs large human-genetics studies. *Nature*, 515(7526), 189–191. <https://doi.org/10.1038/515189A>
- Ibrahim, A., Hirschfeld, S., Cohen, M. H., Griebel, D. J., Williams, G. A., & Pazdur, R. (2004). FDA drug approval summaries: oxaliplatin. *The Oncologist*, 9(1), 8–12. <https://doi.org/10.1634/THEONCOLOGIST.9-1-8>
- Ieraci, A., Mallei, A., & Popoli, M. (2016). Social Isolation Stress Induces Anxious-Depressive-Like Behavior and Alterations of Neuroplasticity-Related Genes in Adult Male Mice. *Neural Plasticity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6212983>
- Ikemoto, S. (2005a). The supramammillary nucleus mediates primary reinforcement via GABA(A) receptors. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1088–1095. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1300660>
- Ikemoto, S. (2005b). The supramammillary nucleus mediates primary reinforcement via GABA(A) receptors. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(6), 1088–1095. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1300660>
- Ikemoto, S. (2007). Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Research Reviews*, 56(1), 27–78. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESREV.2007.05.004>
- Ikemoto, S., Murphy, J. M., & McBride, W. J. (1997). Self-infusion of GABA(A) antagonists directly into the ventral tegmental area and adjacent regions. *Behavioral Neuroscience*, 111(2), 369–380. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.111.2.369>
- Ikemoto, S., & Panksepp, J. (1999). The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: A unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews*, 31(1), 6–41. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(99\)00023-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(99)00023-5)
- Ilie, M., Caruntu, C., Tampa, M., Georgescu, S.-R., Matei, C., Negrei, C., Ion, R.-M., Constantin, C., Neagu, M., & Boda, D. (2019). Capsaicin: Physicochemical properties, cutaneous reactions and potential applications in painful and inflammatory conditions. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 18(2). <https://doi.org/10.3892/ETM.2019.7513>
- Inani, K., & Mernissi, F. (2014). [Congenital insensitivity to pain]. *The Pan African Medical Journal*, 18. <https://doi.org/10.11604/PAMJ.2014.18.197.4753>

- International Association for the Study of Pain | IASP. (n.d.). Retrieved August 9, 2023, from <https://www.iasp-pain.org/>
- Ising, M., Horstmann, S., Kloiber, S., Lucae, S., Binder, E. B., Kern, N., Künzel, H. E., Pfennig, A., Uhr, M., & Holsboer, F. (2007). Combined dexamethasone/corticotropin releasing hormone test predicts treatment response in major depression - a potential biomarker? *Biological Psychiatry*, 62(1), 47–54. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2006.07.039>
- Isingrini, E., Camus, V., Le Guisquet, A. M., Pingaud, M., Devers, S., & Belzung, C. (2010). Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. *PLoS One*, 5(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0010404>
- Ito, R., Robbins, T. W., Pennartz, C. M., & Everitt, B. J. (2008a). Functional Interaction between the Hippocampus and Nucleus Accumbens Shell Is Necessary for the Acquisition of Appetitive Spatial Context Conditioning. *The Journal of Neuroscience*, 28(27), 6950. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1615-08.2008>
- Ito, R., Robbins, T. W., Pennartz, C. M., & Everitt, B. J. (2008b). Functional Interaction between the Hippocampus and Nucleus Accumbens Shell Is Necessary for the Acquisition of Appetitive Spatial Context Conditioning. *Journal of Neuroscience*, 28(27), 6950–6959. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1615-08.2008>
- Ja, W. K., & Duman, R. S. (2008). IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(2), 751–756. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0708092105>
- Jamilloux, Y., & Henry, T. (2013). Les inflammasomes - Plates-formes de l'immunité innée. *Médecine/Sciences*, 29(11), 975–984. <https://doi.org/10.1051/MEDSCI/20132911013>
- Jamison, R. N., Gracely, R. H., Raymond, S. A., Levine, J. G., Marino, B., Herrmann, T. J., Daly, M., Fram, D., & Katz, N. P. (2002). Comparative study of electronic vs. paper VAS ratings: A randomized, crossover trial using healthy volunteers. *Pain*, 99(1–2), 341–347. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(02\)00178-1](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00178-1)
- Jarcho, J. M., Mayer, E. A., Jiang, Z. K., Feier, N. A., & London, E. D. (2012). Pain, affective symptoms, and cognitive deficits in patients with cerebral dopamine dysfunction. *Pain*, 153(4), 744–754. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2012.01.002>
- Jarcho, M. R., Massner, K. J., Eggert, A. R., & Wichelt, E. L. (2016). Behavioral and physiological response to onset and termination of social instability in female mice. *Hormones and Behavior*, 78, 135–140. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2015.11.004>
- Jasmin, L., Granato, A., & Ohara, P. T. (2004). Rostral agranular insular cortex and pain areas of the central nervous system: a tract-tracing study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 468(3), 425–440. <https://doi.org/10.1002/CNE.10978>
- Jayaraman, A., Nishimori, T., Dobner, P., & Uhl, G. R. (1990). Cholecystokinin and neurotensin mRNAs are differentially expressed in subnuclei of the ventral tegmental area. *The Journal of Comparative Neurology*, 296(2), 291–302. <https://doi.org/10.1002/CNE.902960209>
- Jayatissa, M. N., Bisgaard, C., Tingström, A., Papp, M., & Wiborg, O. (2006). Hippocampal cytochrome c correlates to escitalopram-mediated recovery in a chronic mild stress rat model of depression. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(11), 2395–2404. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1301041>
- Jensen, M. P., Karoly, P., & Braver, S. (1986). The measurement of clinical pain intensity: a comparison of six methods. *Pain*, 27(1), 117–126. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(86\)90228-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(86)90228-9)
- Jhou, T. C. (2021). The rostromedial tegmental (RMTg) “brake” on dopamine and behavior: A decade of progress but also much unfinished work. *Neuropharmacology*, 198. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2021.108763>
- Ji, G., Zhang, W., Mahimainathan, L., Narasimhan, M., Kiritoshi, T., Fan, X., Wang, J., Green, T. A., & Neugebauer, V. (2017). 5-HT2C Receptor Knockdown in the Amygdala Inhibits Neuropathic-Pain-Related Plasticity and Behaviors. *The Journal of Neuroscience*, 37(6), 1378. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2468-16.2016>
- Jia, N., Li, Q., Sun, H., Song, Q., Tang, G., Sun, Q., Wang, W., Chen, R., Li, H., & Zhu, Z. (2015). Alterations of Group I mGluRs and BDNF Associated with Behavioral Abnormality in Prenatally Stressed Offspring Rats. *Neurochemical Research*, 40(5), 1074–1082. <https://doi.org/10.1007/S11064-015-1565-6>
- Jiang, C., Yang, X., He, G., Wang, F., Wang, Z., Xu, W., Mao, Y., Ma, L., & Wang, F. (2021). CRHCeA→VTA inputs inhibit the positive ensembles to induce negative effect of opiate withdrawal. *Molecular Psychiatry* 26:11, 26(11), 6170–6186. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01321-9>
- Jiang, H. X., Ke, B. W., Liu, J., Ma, G., Hai, K. R., Gong, D. Y., Yang, Z., & Zhou, C. (2019). Inhibition of Fatty Acid Amide Hydrolase Improves Depressive-Like Behaviors Independent of Its Peripheral Antinociceptive Effects in a Rat Model of Neuropathic Pain. *Anesthesia and Analgesia*, 129(2), 587–597. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000003563>
- Joffe, M. E., Vitter, S. R., & Grueter, B. A. (2017). GluN1 deletions in D1- and A2A-expressing cell types reveal distinct modes of behavioral regulation. *Neuropharmacology*, 112(Pt A), 172–180. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2016.03.026>
- Johnson, S. W., & North, R. A. (1992). Two types of neurone in the rat ventral tegmental area and their synaptic inputs. *The Journal of Physiology*, 450(1), 455–468. <https://doi.org/10.1113/JPHYSIOL.1992.SP019136>
- Jones, S., & Kauer, J. A. (1999). Amphetamine depresses excitatory synaptic transmission via serotonin receptors in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(22), 9780–9787. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-22-09780.1999>
- Kaiser, R. H., Andrews-Hanna, J. R., Wager, T. D., & Pizzagalli, D. A. (2015). Large-scale network dysfunction in Major Depressive Disorder: Meta-analysis of resting-state functional connectivity. *JAMA Psychiatry*, 72(6), 603. <https://doi.org/10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2015.0071>

- Kalia, M. (2005). Neurobiological basis of depression: An update. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 54(5 SUPPL.), 24–27. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.01.009>
- Kami, K., Tajima, F., & Senba, E. (2018). Activation of mesolimbic reward system via laterodorsal tegmental nucleus and hypothalamus in exercise-induced hypoalgesia. *Scientific Reports* 2018 8:1, 8(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29915-4>
- Kandel, E. R., Schwartz, J. H., & Jessell, T. M. (2000). *Principles of neural science* (4th ed.). McGraw-Hill, Health Professions Division, New York.
- Kaneko, N., Kudo, K., Mabuchi, T., Takemoto, K., Fujimaki, K., Wati, H., Iguchi, H., Tezuka, H., & Kanba, S. (2006). Suppression of cell proliferation by interferon-alpha through interleukin-1 production in adult rat dentate gyrus. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(12), 2619–2626. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1301137>
- Kato, T., Ide, S., & Minami, M. (2016). Pain relief induces dopamine release in the rat nucleus accumbens during the early but not late phase of neuropathic pain. *Neuroscience Letters*, 629, 73–78. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2016.06.060>
- Kaufling, J. (2010). La queue GABAergique de l'aire tegmentale ventrale : un nouveau centre de contrôle des systèmes dopaminergiques. <http://www.Theses.Fr>. <http://www.theses.fr/2010STRA6015>
- Kaufling, J., Girard, D., Maitre, M., Leste-Lasserre, T., & Georges, F. (2017). Species-specific diversity in the anatomical and physiological organisation of the BNST-VTA pathway. *The European Journal of Neuroscience*, 45(9), 1230–1240. <https://doi.org/10.1111/EJN.13554>
- Kaufling, J., Veinante, P., Pawlowski, S. A., Freund-Mercier, M. J., & Barrot, M. (2009). Afferents to the GABAergic tail of the ventral tegmental area in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 513(6), 597–621. <https://doi.org/10.1002/CNE.21983>
- Kaufling, J., Veinante, P., Pawlowski, S. A., Freund-Mercier, M. J., & Barrot, M. (2010). gamma-Aminobutyric acid cells with cocaine-induced DeltaFosB in the ventral tegmental area innervate mesolimbic neurons. *Biological Psychiatry*, 67(1), 88–92. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2009.08.001>
- Kaufling, J., Waltisperger, E., Bourdy, R., Valera, A., Veinante, P., Freund-Mercier, M. J., & Barrot, M. (2010). Pharmacological recruitment of the GABAergic tail of the ventral tegmental area by acute drug exposure. *British Journal of Pharmacology*, 161(8), 1677–1691. <https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.2010.00984.X>
- Kawano, M., Kawasaki, A., Sakata-Haga, H., Fukui, Y., Kawano, H., Nogami, H., & Hisano, S. (2006). Particular subpopulations of midbrain and hypothalamic dopamine neurons express vesicular glutamate transporter 2 in the rat brain. *The Journal of Comparative Neurology*, 498(5), 581–592. <https://doi.org/10.1002/CNE.21054>
- Kehlet, H., Jensen, T. S., & Woolf, C. J. (2006). Persistent postsurgical pain: risk factors and prevention. *Lancet (London, England)*, 367(9522), 1618–1625. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)68700-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)68700-X)
- Kempton, M. J., Salvador, Z., Munafò, M. R., Geddes, J. R., Simmons, A., Frangou, S., & Williams, S. C. R. (2011). Structural neuroimaging studies in major depressive disorder. Meta-analysis and comparison with bipolar disorder. *Archives of General Psychiatry*, 68(7), 675–690. <https://doi.org/10.1001/ARCHGENPSYCHIATRY.2011.60>
- Kender, R. G., Harte, S. E., Munn, E. M., & Borszcz, G. S. (2008). Affective analgesia following muscarinic activation of the ventral tegmental area in rats. *The Journal of Pain*, 9(7), 597–605. <https://doi.org/10.1016/J.JPAIN.2008.01.334>
- Khalik, Z. M., & Bean, B. P. (2008). Dynamic, nonlinear feedback regulation of slow pacemaking by A-type potassium current in ventral tegmental area neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(43), 10905–10917. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2237-08.2008>
- Khalik, Z. M., & Bean, B. P. (2010). Pacemaking in dopaminergic ventral tegmental area neurons: depolarizing drive from background and voltage-dependent sodium conductances. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(21), 7401–7413. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0143-10.2010>
- Khibnik, L. A., Beaumont, M., Doyle, M., Heshmati, M., Slesinger, P. A., Nestler, E. J., & Russo, S. J. (2016). Stress and Cocaine Trigger Divergent and Cell Type-Specific Regulation of Synaptic Transmission at Single Spines in Nucleus Accumbens. *Biological Psychiatry*, 79(11), 898–905. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2015.05.022>
- Kim, H., Chen, L., Lim, G., Sung, B., Wang, S., McCabe, M. F., Rusanescu, G., Yang, L., Tian, Y., & Mao, J. (2012). Brain indoleamine 2,3-dioxygenase contributes to the comorbidity of pain and depression. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(8), 2940–2954. <https://doi.org/10.1172/JCI61884>
- Kim, J. I., Ganesan, S., Luo, S. X., Wu, Y. W., Park, E., Huang, E. J., Chen, L., & Ding, J. B. (2015). Aldehyde dehydrogenase 1a1 mediates a GABA synthesis pathway in midbrain dopaminergic neurons. *Science (New York, N.Y.)*, 350(6256), 102–106. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.AAC4690>
- Kim, K. S., & Han, P. L. (2006). Optimization of chronic stress paradigms using anxiety- and depression-like behavioral parameters. *Journal of Neuroscience Research*, 83(3), 497–507. <https://doi.org/10.1002/JNR.20754>
- Klengel, T., & Binder, E. B. (2015). Epigenetics of Stress-Related Psychiatric Disorders and Gene × Environment Interactions. *Neuron*, 86(6), 1343–1357. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2015.05.036>
- Klengel, T., Mehta, D., Anacker, C., Rex-Haffner, M., Pruessner, J. C., Pariante, C. M., Pace, T. W. W., Mercer, K. B., Mayberg, H. S., Bradley, B., Nemeroff, C. B., Holsboer, F., Heim, C. M., Ressler, K. J., Rein, T., & Binder, E. B. (2013). Allele-specific FKBP5 DNA demethylation mediates gene-childhood trauma interactions. *Nature Neuroscience*, 16(1), 33–41. <https://doi.org/10.1038/NN.3275>
- Knights, C. B., Gentry, C., & Bevan, S. (2012). Partial medial meniscectomy produces osteoarthritis pain-related behaviour in female C57BL/6 mice. *Pain*, 153(2), 281–292. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2011.09.007>

- Knorr, U., Vinberg, M., Kessing, L. V., & Wetterslev, J. (2010). Salivary cortisol in depressed patients versus control persons: A systematic review and meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology*, 35(9), 1275–1286. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.04.001>
- Knyihár-Csillik, E., Tajti, J., Samsam, M., Sáros, G., Slezák, S., & Vécsei, L. (1997). Effect of a serotonin agonist (sumatriptan) on the peptidergic innervation of the rat cerebral dura mater and on the expression of c-fos in the caudal trigeminal nucleus in an experimental migraine model. *Journal of Neuroscience Research*, 48(5), 449–464.
- Ko, D., Wilson, C. J., Lobb, C. J., & Paladini, C. A. (2012). Detection of Bursts and Pauses in Spike Trains. *Journal of Neuroscience Methods*, 211(1), 145. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUMETH.2012.08.013>
- Ko, M. Y., Jang, E. Y., Lee, J. Y., Kim, S. P., Whang, S. H., Lee, B. H., Kim, H. Y., Yang, C. H., Cho, H. J., & Gwak, Y. S. (2018). The Role of Ventral Tegmental Area Gamma-Aminobutyric Acid in Chronic Neuropathic Pain after Spinal Cord Injury in Rats. *Journal of Neurotrauma*, 35(15), 1755–1764. <https://doi.org/10.1089/NEU.2017.5381>
- Koehler, P. J., & Endtz, L. J. (1986). The Brown-Séquard syndrome. True or false? *Archives of Neurology*, 43(9), 921–924. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.1986.00520090051015>
- Korotkova, T. M., Sergeeva, O. A., Eriksson, K. S., Haas, H. L., & Brown, R. E. (2003). Excitation of ventral tegmental area dopaminergic and nondopaminergic neurons by orexins/hypocretins. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(1), 7–11. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-01-00007.2003>
- Kraeuter, A. K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1916, 105–111. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_10)
- Krause, M., German, P. W., Taha, S. A., & Fields, H. L. (2010). A Pause in Nucleus Accumbens Neuron Firing Is Required to Initiate and Maintain Feeding. *Journal of Neuroscience*, 30(13), 4746–4756. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0197-10.2010>
- Kremer, M., Becker, L. J., Barrot, M., & Yalcin, I. (2021). How to study anxiety and depression in rodent models of chronic pain? *The European Journal of Neuroscience*, 53(1), 236–270. <https://doi.org/10.1111/EJN.14686>
- Krishnan, V., Han, M. H., Graham, D. L., Berton, O., Renthal, W., Russo, S. J., LaPlant, Q., Graham, A., Lutter, M., Lagace, D. C., Ghose, S., Reister, R., Tannous, P., Green, T. A., Neve, R. L., Chakravarty, S., Kumar, A., Eisch, A. J., Self, D. W., ... Nestler, E. J. (2007). Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*, 131(2), 391–404. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.09.018>
- Kumar, B., Kalita, J., Kumar, G., & Misra, U. K. (2009). Central poststroke pain: a review of pathophysiology and treatment. *Anesthesia and Analgesia*, 108(5), 1645–1657. <https://doi.org/10.1213/ANE.0B013E31819D644C>
- Kuramochi, M., & Nakamura, S. (2009). Effects of postnatal isolation rearing and antidepressant treatment on the density of serotonergic and noradrenergic axons and depressive behavior in rats. *Neuroscience*, 163(1), 448–455. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2009.06.017>
- Labaka, A., Gómez-Lázaro, E., Vegas, O., Pérez-Tejada, J., Arregi, A., & Garmendia, L. (2017). Reduced hippocampal IL-10 expression, altered monoaminergic activity and anxiety and depressive-like behavior in female mice subjected to chronic social instability stress. *Behavioural Brain Research*, 335, 8–18. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2017.08.002>
- LaBuda, C. J., & Little, P. J. (2005). Pharmacological evaluation of the selective spinal nerve ligation model of neuropathic pain in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 144(2), 175–181. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUMETH.2004.11.008>
- Lacey, M. G., Mercuri, N. B., & North, R. A. (1989). Two cell types in rat substantia nigra zona compacta distinguished by membrane properties and the actions of dopamine and opioids. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 9(4), 1233–1241. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.09-04-01233.1989>
- Laffray, S., Bouali-Benazzouz, R., Papon, M. A., Favereaux, A., Jiang, Y., Holm, T., Spriet, C., Desbarats, P., Fossat, P., Le Feuvre, Y., Decossas, M., Hliot, L., Langel, U., Nagy, F., & Landry, M. (2012). Impairment of GABAB receptor dimer by endogenous 14-3-3ζ in chronic pain conditions. *The EMBO Journal*, 31(15), 3239–3251. <https://doi.org/10.1038/EMBOJ.2012.161>
- Lammel, S., Hetzel, A., Häckel, O., Jones, I., Liss, B., & Roeper, J. (2008). Unique properties of mesoprefrontal neurons within a dual mesocorticolimbic dopamine system. *Neuron*, 57(5), 760–773. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2008.01.022>
- Lammel, S., Lim, B. K., Ran, C., Huang, K. W., Betley, M. J., Tye, K. M., Deisseroth, K., & Malenka, R. C. (2012). Input-specific control of reward and aversion in the ventral tegmental area. *Nature*, 491(7423), 212–217. <https://doi.org/10.1038/NATURE11527>
- Landgraf, D., Long, J., Der-Avakian, A., Streets, M., & Welsh, D. K. (2015). Dissociation of learned helplessness and fear conditioning in mice: a mouse model of depression. *PLoS One*, 10(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0125892>
- Langlais, D., Couture, C., Balsalobre, A., & Drouin, J. (2008). Regulatory Network Analyses Reveal Genome-Wide Potentiation of LIF Signaling by Glucocorticoids and Define an Innate Cell Defense Response. *PLOS Genetics*, 4(10), e1000224. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.1000224>
- Laugeray, A., Launay, J. M., Callebert, J., Mutlu, O., Guillemin, G. J., Belzung, C., & Barone, P. R. (2016). Chronic Treatment with the IDO1 Inhibitor 1-Methyl-D-Tryptophan Minimizes the Behavioural and Biochemical Abnormalities Induced by Unpredictable Chronic Mild Stress in Mice - Comparison with Fluoxetine. *PLoS One*, 11(11). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0164337>
- Laumet, G., Zhou, W., Dantzer, R., Edralin, J. D., Huo, X. J., Budac, D. P., O'Connor, J. C., Lee, A. W., Heijnen, C. J., & Kavelaars, A. (2017). Upregulation of neuronal kynurenine 3-monooxygenase mediates depression-like behavior in a mouse model of neuropathic pain. *Brain, Behavior, and Immunity*, 66, 94–102. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2017.07.008>

- Lavin, A., Nogueira, L., Lapish, C. C., Wightman, R. M., Phillips, P. E. M., & Seamans, J. K. (2005). Mesocortical Dopamine Neurons Operate in Distinct Temporal Domains Using Multimodal Signaling. *The Journal of Neuroscience*, 25(20), 5013. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0557-05.2005>
- Lawson, R. P., Nord, C. L., Seymour, B., Thomas, D. L., Dayan, P., Pilling, S., & Roiser, J. P. (2016). Disrupted habenula function in major depression. *Molecular Psychiatry* 22:2, 22(2), 202–208. <https://doi.org/10.1038/mp.2016.81>
- Le, A. M., Lee, M., Su, C., Zou, A., & Wang, J. (2014). AMPAkinase have novel analgesic properties in rat models of persistent neuropathic and inflammatory pain. *Anesthesiology*, 121(5), 1080. <https://doi.org/10.1097/ALN.0000000000000351>
- Lecca, S., Pelosi, A., Tchenio, A., Moutkine, I., Lujan, R., Hervé, D., & Mameli, M. (2016). Rescue of GABAB and GIRK function in the lateral habenula by protein phosphatase 2A inhibition ameliorates depression-like phenotypes in mice. *Nature Medicine*, 22(3), 254–261. <https://doi.org/10.1038/NM.4037>
- Lee, D. Y., Guttilla, M., Fung, K. D., McFeron, S., Yan, J., & Ranaldi, R. (2007). Rostral-caudal differences in the effects of intra-VTA muscimol on cocaine self-administration. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 86(3), 542–549. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2007.01.017>
- Lee, M. T., Peng, W. H., Wu, C. C., Kan, H. W., Wang, D. W., Teng, Y. N., & Ho, Y. C. (2023). Impaired Ventrolateral Periaqueductal Gray-Ventral Tegmental area Pathway Contributes to Chronic Pain-Induced Depression-Like Behavior in Mice. *Molecular Neurobiology*. <https://doi.org/10.1007/S12035-023-03439-Z>
- Lee, S. H., & Jung, E.-M. (2024). Adverse effects of early-life stress: focus on the rodent neuroendocrine system. *Neural Regeneration Research*, 19(2). <https://doi.org/10.4103/1673-5374.377587>
- Lee, S. H., Ripke, S., Neale, B. M., Faraone, S. V., Purcell, S. M., Perlis, R. H., Mowry, B. J., Thapar, A., Goddard, M. E., Witte, J. S., Absher, D., Agartz, I., Akil, H., Amin, F., Andreassen, O. A., Anjorin, A., Anney, R., Anttila, V., Arking, D. E., ... Wray, N. R. (2013). Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nature Genetics*, 45(9), 984–994. <https://doi.org/10.1038/NG.2711>
- Leite-Almeida, H., Cerqueira, J. J., Wei, H., Ribeiro-Costa, N., Anjos-Martins, H., Sousa, N., Pertovaara, A., & Almeida, A. (2012). Differential effects of left/right neuropathy on rats' anxiety and cognitive behavior. *Pain*, 153(11), 2218–2225. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2012.07.007>
- Leknes, S., Lee, M., Berna, C., Andersson, J., & Tracey, I. (2011). Relief as a reward: hedonic and neural responses to safety from pain. *PLoS One*, 6(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0017870>
- Leknes, S., & Tracey, I. (2008). A common neurobiology for pain and pleasure. *Nature Reviews. Neuroscience*, 9(4), 314–320. <https://doi.org/10.1038/NRN2333>
- Lesser, H., Sharma, U., LaMoreaux, L., & Poole, R. M. (2004). Pregabalin relieves symptoms of painful diabetic neuropathy: A randomized controlled trial. *Neurology*, 63(11), 2104–2110. <https://doi.org/10.1212/01.WNL.0000145767.36287.A1>
- Levy, R., & Dubois, B. (2006a). Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 16(7), 916–928. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHJ043>
- Levy, R., & Dubois, B. (2006b). Apathy and the functional anatomy of the prefrontal cortex-basal ganglia circuits. *Cerebral Cortex (New York, N.Y. : 1991)*, 16(7), 916–928. <https://doi.org/10.1093/CERCOR/BHJ043>
- Lezak, K. R., Missig, G., & Carlezon, W. A. (2017). Behavioral methods to study anxiety in rodents. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 19(2), 181. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2017.19.2/WCARLEZON>
- Li, A. L., Sibi, J. E., Yang, X., Chiao, J. C., & Peng, Y. B. (2016). Stimulation of the ventral tegmental area increased nociceptive thresholds and decreased spinal dorsal horn neuronal activity in rat. *Experimental Brain Research*, 234(6), 1505–1514. <https://doi.org/10.1007/S00221-016-4558-Z>
- Li, B., Piriz, J., Mirrione, M., Chung, C., Proulx, C. D., Schulz, D., Henn, F., & Malinow, R. (2011). Synaptic potentiation onto habenula neurons in the learned helplessness model of depression. *Nature*, 470(7335), 535–541. <https://doi.org/10.1038/NATURE09742>
- Li, K., Zhou, T., Liao, L., Yang, Z., Wong, C., Henn, F., Malinow, R., Yates, J. R., & Hu, H. (2013).  $\beta$ CaMKII in lateral habenula mediates core symptoms of depression. *Science (New York, N.Y.)*, 341(6149), 1016–1020. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1240729>
- Li, Q., Yue, N., Liu, S. Bin, Wang, Z. F., Mi, W. L., Jiang, J. W., Wu, G. C., Yu, J., & Wang, Y. Q. (2014). Effects of chronic electroacupuncture on depression- and anxiety-like behaviors in rats with chronic neuropathic pain. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : ECAM*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/158987>
- Li, X., Qi, J., Yamaguchi, T., Wang, H.-L., & Morales, M. (2013). Heterogeneous composition of dopamine neurons of the rat A10 region: molecular evidence for diverse signaling properties. *Brain Structure and Function*, 218(5), 1159–1176. <https://doi.org/10.1007/s00429-012-0452-z>
- Li, Y., Chen, C., Li, S., & Jiang, C. (2019). Ginsenoside Rf relieves mechanical hypersensitivity, depression-like behavior, and inflammatory reactions in chronic constriction injury rats. *Phytotherapy Research : PTR*, 33(4), 1095–1103. <https://doi.org/10.1002/PTR.6303>
- Li, Y., Wang, Y., Xuan, C., Li, Y., Piao, L., Li, J., & Zhao, H. (2017). Role of the lateral habenula in pain-associated depression. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 237511. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2017.00031/BIBTEX>
- Liang, C. L., Sinton, C. M., Sonsalla, P. K., & German, D. C. (1996). Midbrain dopaminergic neurons in the mouse that contain calbindin-D28k exhibit reduced vulnerability to MPTP-induced neurodegeneration. *Neurodegeneration : A Journal for Neurodegenerative Disorders, Neuroprotection, and Neuroregeneration*, 5(4), 313–318. <https://doi.org/10.1006/NEUR.1996.0042>
- Lim, B. K., Huang, K. W., Grueter, B. A., Rothwell, P. E., & Malenka, R. C. (2012). Anhedonia requires MC4R-mediated synaptic adaptations in nucleus accumbens. *Nature*, 487(7406), 183–189. <https://doi.org/10.1038/NATURE11160>

- Limmroth, V., Katsarava, Z., Liedert, B., Guehring, H., Schmitz, K., Diener, H. C., & Michel, M. C. (2001). An in vivo rat model to study calcitonin gene related peptide release following activation of the trigeminal vascular system. *Pain*, 92(1–2), 101–106. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(00\)00475-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(00)00475-9)
- Liu, D., Tang, Q. Q., Yin, C., Song, Y., Liu, Y., Yang, J. X., Liu, H., Zhang, Y. M., Wu, S. Y., Song, Y., Juarez, B., Ding, H. L., Han, M. H., Zhang, H., & Cao, J. L. (2018). Brain-derived neurotrophic factor-mediated projection-specific regulation of depressive-like and nociceptive behaviors in the mesolimbic reward circuitry. *Pain*, 159(1), 175–188. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000001083>
- Liu, M. Y., Yin, C. Y., Zhu, L. J., Zhu, X. H., Xu, C., Luo, C. X., Chen, H., Zhu, D. Y., & Zhou, Q. G. (2018). Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nature Protocols* 2018 13:7, 13(7), 1686–1698. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0011-z>
- Llorca-Torralba, M., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2018). Behavioral effects of combined morphine and MK-801 administration to the locus coeruleus of a rat neuropathic pain model. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 84(Pt A), 257–266. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2018.03.007>
- Llorca-Torralba, M., Pilar-Cuellar, F., da Silva Borges, G., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2020). Opioid receptors mRNAs expression and opioids agonist-dependent G-protein activation in the rat brain following neuropathy. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 99. <https://doi.org/10.1016/J.PNPBP.2019.109857>
- Lobb, C. J., Troyer, T. W., Wilson, C. J., & Paladini, C. A. (2011). Disinhibition bursting of dopaminergic neurons. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 5(MAY 2011). <https://doi.org/10.3389/FNSYS.2011.00025>
- Lobb, C. J., Wilson, C. J., & Paladini, C. A. (2010). A Dynamic Role for GABA Receptors on the Firing Pattern of Midbrain Dopaminergic Neurons. *Journal of Neurophysiology*, 104(1), 403. <https://doi.org/10.1152/JN.00204.2010>
- Lobb, C. J., Wilson, C. J., & Paladini, C. A. (2011). High-frequency, short-latency disinhibition bursting of midbrain dopaminergic neurons. *Journal of Neurophysiology*, 105(5), 2501–2511. <https://doi.org/10.1152/JN.01076.2010/ASSET/IMAGES/LARGE/Z9K0051107360006.JPEG>
- Lobo, M. K., Karsten, S. L., Gray, M., Geschwind, D. H., & Yang, X. W. (2006). FACS-array profiling of striatal projection neuron subtypes in juvenile and adult mouse brains. *Nature Neuroscience*, 9(3), 443–452. <https://doi.org/10.1038/nn1654>
- Lobo, M. K., Zaman, S., Damez-Werno, D. M., Koo, J. W., Bagot, R. C., DiNieri, J. A., Nugent, A., Finkel, E., Chaudhury, D., Chandra, R., Riberio, E., Rabkin, J., Mouzon, E., Cachope, R., Cheer, J. F., Han, M. H., Dietz, D. M., Self, D. W., Hurd, Y. L., ... Nestler, E. J. (2013).  $\Delta$ FosB induction in striatal medium spiny neuron subtypes in response to chronic pharmacological, emotional, and optogenetic stimuli. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(47), 18381–18395. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1875-13.2013>
- Lopez, M. F., & Laber, K. (2015). Impact of social isolation and enriched environment during adolescence on voluntary ethanol intake in C57BL/6J mice. *Physiology & Behavior*, 148, 151. <https://doi.org/10.1016/J.PHYSBEH.2014.11.012>
- Luo, S. X., & Huang, E. J. (2016). Dopaminergic Neurons and Brain Reward Pathways: From Neurogenesis to Circuit Assembly. *The American Journal of Pathology*, 186(3), 478. <https://doi.org/10.1016/J.AJP.2015.09.023>
- Lyons, D. M., Ayash, S., Schatzberg, A. F., & Müller, M. B. (2023). Ecological validity of social defeat stressors in mouse models of vulnerability and resilience. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 145. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2023.105032>
- Lyons, D. N., Kniffin, T. C., Zhang, L. P., Danaher, R. J., Miller, C. S., Bocanegra, J. L., Carlson, C. R., & Westlund, K. N. (2015). Trigeminal Inflammatory Compression (TIC) injury induces chronic facial pain and susceptibility to anxiety-related behaviors. *Neuroscience*, 295, 126–138. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2015.03.051>
- Lyons, D. N., Zhang, L., Pandya, J. D., Danaher, R. J., Ma, F., Miller, C. S., Sullivan, P. G., Sirbu, C., & Westlund, K. N. (2018). Combination Drug Therapy of Pioglitazone and D-cycloserine Attenuates Chronic Orofacial Neuropathic Pain and Anxiety by Improving Mitochondrial Function Following Trigeminal Nerve Injury. *The Clinical Journal of Pain*, 34(2), 168. <https://doi.org/10.1097/AJP.0000000000000515>
- Ma, Y., Zhao, W., Chen, D., Zhou, D., Gao, Y., Bian, Y., Xu, Y., Xia, S.-H., Fang, T., Yang, J.-X., Song, L., Liu, H., Ding, H.-L., Zhang, H., & Cao, J.-L. (2023). Disinhibition of Mesolimbic Dopamine Circuit by the Lateral Hypothalamus Regulates Pain Sensation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 43(24), 4525–4540. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2298-22.2023>
- Machado, A., Haber, S., Sears, N., Greenberg, B., Malone, D., & Rezaei, A. (2009). Functional topography of the ventral striatum and anterior limb of the internal capsule determined by electrical stimulation of awake patients. *Clinical Neurophysiology: Official Journal of the International Federation of Clinical Neurophysiology*, 120(11), 1941–1948. <https://doi.org/10.1016/J.CLINPH.2009.05.030>
- Maciel, I. S., Silva, R. B. M., Morrone, F. B., Calixto, J. B., & Campos, M. M. (2013). Synergistic Effects of Celecoxib and Bupropion in a Model of Chronic Inflammation-Related Depression in Mice. *PLOS ONE*, 8(9), e77227. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0077227>
- Maeda, H., & Mogenson, G. J. (1982). Effects of peripheral stimulation on the activity of neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and midbrain reticular formation of rats. *Brain Research Bulletin*, 8(1), 7–14. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(82\)90021-1](https://doi.org/10.1016/0361-9230(82)90021-1)
- Mague, S. D., Pliakas, A. M., Todtenkopf, M. S., Tomasiewicz, H. C., Zhang, Y., Stevens, W. C., Jones, R. M., Portoghese, P. S., & Carlezon, W. A. (2003). Antidepressant-like effects of kappa-opioid receptor antagonists in the forced swim test in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305(1), 323–330. <https://doi.org/10.1124/JPET.102.046433>
- Maier, S. F., & Seligman, M. E. P. (2016). Learned Helplessness at Fifty: Insights from Neuroscience. *Psychological Review*, 123(4), 349. <https://doi.org/10.1037/REV0000033>
- Malfait, A. M., & Schnitzer, T. J. (2013). Towards a mechanism-based approach to pain management in osteoarthritis. *Nature Reviews. Rheumatology*, 9(11), 654–664. <https://doi.org/10.1038/NRRHEUM.2013.138>

- Mannella, F., Gurney, K., & Baldassarre, G. (2013). The nucleus accumbens as a nexus between values and goals in goal-directed behavior: A review and a new hypothesis. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7(OCT), 51817. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2013.00135/BIBTEX>
- Manning, C. E., Fritz, M., & Kauer, J. A. (2022). Function of Excitatory Periaqueductal Gray Synapses in the Ventral Tegmental Area following Inflammatory Injury. *ENeuro*, 9(6). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0324-22.2022>
- Marais, L., van Rensburg, S. J., van Zyl, J. M., Stein, D. J., & Daniels, W. M. U. (2008). Maternal separation of rat pups increases the risk of developing depressive-like behavior after subsequent chronic stress by altering corticosterone and neurotrophin levels in the hippocampus. *Neuroscience Research*, 61(1), 106–112. <https://doi.org/10.1016/J.NEURES.2008.01.011>
- Margolis, E. B., Hjelmstad, G. O., Bonci, A., & Fields, H. L. (2003). Kappa-opioid agonists directly inhibit midbrain dopaminergic neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(31), 9981–9986. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-31-09981.2003>
- Margolis, E. B., Lock, H., Chefer, V. D., Shippenberg, T. S., Hjelmstad, G. O., & Fields, H. L. (2006). Kappa opioids selectively control dopaminergic neurons projecting to the prefrontal cortex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(8), 2938–2942. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0511159103>
- Margolis, E. B., Toy, B., Himmels, P., Morales, M., & Fields, H. L. (2012). Identification of rat ventral tegmental area GABAergic neurons. *PLoS One*, 7(7). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0042365>
- Margolis, R. B., Tait, R. C., & Krause, S. J. (1986). A rating system for use with patient pain drawings. *Pain*, 24(1), 57–65. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(86\)90026-6](https://doi.org/10.1016/0304-3959(86)90026-6)
- Marinelli, M., & McCutcheon, J. E. (2014). Heterogeneity of dopamine neuron activity across traits and states. *Neuroscience*, 282, 176–197. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.07.034>
- Martin, A. L., & Brown, R. E. (2010). The lonely mouse: verification of a separation-induced model of depression in female mice. *Behavioural Brain Research*, 207(1), 196–207. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2009.10.006>
- Masri, R., Quito, R. L., Lucas, J. M., Murray, P. D., Thompson, S. M., & Keller, A. (2009). Zona incerta: a role in central pain. *Journal of Neurophysiology*, 102(1), 181–191. <https://doi.org/10.1152/JN.00152.2009>
- Massengill, J. S., & Kittredge, J. L. (2014). Practical considerations in the pharmacological treatment of postherpetic neuralgia for the primary care provider. *Journal of Pain Research*, 7, 125–132. <https://doi.org/10.2147/JPR.S57242>
- Matsui, A., Jarvie, B. C., Robinson, B. G., Hentges, S. T., & Williams, J. T. (2014). Separate GABA afferents to dopamine neurons mediate acute action of opioids, development of tolerance, and expression of withdrawal. *Neuron*, 82(6), 1346–1356. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.04.030>
- Matsui, A., & Williams, J. T. (2011). Opioid-sensitive GABA inputs from rostromedial tegmental nucleus synapse onto midbrain dopamine neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(48), 17729–17735. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4570-11.2011>
- Matsumoto, M., & Hikosaka, O. (2007). Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons. *Nature*, 447(7148), 1111–1115. <https://doi.org/10.1038/NATURE05860>
- Mauduit, C., Prévot, E., Dangoumau, L., Martin, P., Hamon, M., & Adrien, J. (1997). Antidepressant treatment in helpless rats: Effect on the electrophysiological activity of raphe dorsalis serotonergic neurons. *Psychopharmacology*, 130(3), 269–275. <https://doi.org/10.1007/S002130050239/METRICS>
- Maxwell, S. D., Fineberg, A. M., Drabick, D. A., Murphy, S. K., & Ellman, L. M. (2018). Maternal Prenatal Stress and Other Developmental Risk Factors for Adolescent Depression: Spotlight on Sex Differences. *Journal of Abnormal Child Psychology*, 46(2), 381–397. <https://doi.org/10.1007/S10802-017-0299-0>
- McCarberg, B., D'Arcy, Y., Parsons, B., Sadosky, A., Thorpe, A., & Behar, R. (2017). Neuropathic pain: a narrative review of etiology, assessment, diagnosis, and treatment for primary care providers. *Current Medical Research and Opinion*, 33(8), 1361–1369. <https://doi.org/10.1080/03007995.2017.1321532>
- McEwen, B. S. (2005). Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain. *Metabolism*, 54(5), 20–23. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.01.008>
- McLaughlin, R. J., & Floresco, S. B. (2007). The role of different subregions of the basolateral amygdala in cue-induced reinstatement and extinction of food-seeking behavior. *Neuroscience*, 146(4), 1484–1494. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2007.03.025>
- McNamara, C. G., Tejero-Cantero, Á., Trouche, S., Campo-Urriza, N., & Dupret, D. (2014). Dopaminergic neurons promote hippocampal reactivation and spatial memory persistence. *Nature Neuroscience*, 17(12), 1658–1660. <https://doi.org/10.1038/NN.3843>
- Meaney, M. J. (2001). Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations. *Annual Review of Neuroscience*, 24, 1161–1192. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.NEURO.24.1.1161>
- Melis, M., Carboni, E., Caboni, P., & Acquas, E. (2015). Key role of salsolinol in ethanol actions on dopamine neuronal activity of the posterior ventral tegmental area. *Addiction Biology*, 20(1), 182–193. <https://doi.org/10.1111/ADB.12097>
- Melis, M., Enrico, P., Peana, A. T., & Diana, M. (2007). Acetaldehyde mediates alcohol activation of the mesolimbic dopamine system. *The European Journal of Neuroscience*, 26(10), 2824–2833. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2007.05887.X>
- Melo-Carrillo, A., & Lopez-Avila, A. (2013). A chronic animal model of migraine, induced by repeated meningeal nociception, characterized by a behavioral and pharmacological approach. *Cephalgia: An International Journal of Headache*, 33(13), 1096–1105. <https://doi.org/10.1177/0333102413486320>

- Melzack, R. (1975). The McGill Pain Questionnaire: major properties and scoring methods. *Pain*, 1(3), 277–299. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(75\)90044-5](https://doi.org/10.1016/0304-3959(75)90044-5)
- Melzack, R., & Wall, P. D. (1965). Pain Mechanisms: A New Theory. *Science*, 150(3699), 971–979. <https://doi.org/10.1126/science.150.3699.971>
- Meng, H., Wang, Y., Huang, M., Lin, W., Wang, S., & Zhang, B. (2011). Chronic deep brain stimulation of the lateral habenula nucleus in a rat model of depression. *Brain Research*, 1422, 32–38. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRES.2011.08.041>
- Mercuri, N., Calabresi, P., Stanzione, P., & Bernardi, G. (1985). Electrical stimulation of mesencephalic cell groups (A9-A10) produces monosynaptic excitatory potentials in rat frontal cortex. *Brain Research*, 338(1), 192–195. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(85\)90267-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(85)90267-7)
- Merikangas, K. R., Angst, J., & Isler, H. (1990). Migraine and psychopathology. Results of the Zurich cohort study of young adults. *Archives of General Psychiatry*, 47(9), 849–853. <https://doi.org/10.1001/ARCHPSYC.1990.01810210057008>
- Mert, T., Sahin, E., Yaman, S., & Sahin, M. (2018). Pain-Relieving Effectiveness of Co-Treatment with Local Tramadol and Systemic Minocycline in Carrageenan-Induced Inflammatory Pain Model. *Inflammation*, 41(4), 1238–1249. <https://doi.org/10.1007/S10753-018-0771-1>
- Messaoud, A., Mensi, R., Douki, W., Neffati, F., Najjar, M. F., Gobbi, G., Valtorta, F., Gaha, L., & Comai, S. (2019). Reduced peripheral availability of tryptophan and increased activation of the kynurenine pathway and cortisol correlate with major depression and suicide. *The World Journal of Biological Psychiatry: The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 20(9), 703–711. <https://doi.org/10.1080/15622975.2018.1468031>
- Miedel, C. J., Patton, J. M., Miedel, A. N., Miedel, E. S., & Levenson, J. M. (2017). Assessment of spontaneous alternation, novel object recognition and limb clasping in transgenic mouse models of amyloid- $\beta$  and tau neuropathology. *Journal of Visualized Experiments*, 2017(123). <https://doi.org/10.3791/55523>
- Miller, A. L., & Leach, M. C. (2015). The Mouse Grimace Scale: A Clinically Useful Tool? *PloS One*, 10(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0136000>
- Mingote, S., Chuhma, N., Kusnoor, S. V., Field, B., Deutch, A. Y., & Rayport, S. (2015). Functional Connectome Analysis of Dopamine Neuron Glutamatergic Connections in Forebrain Regions. *Journal of Neuroscience*, 35(49), 16259–16271. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1674-15.2015>
- Mirenowicz, J., & Schultz, W. (1996). Preferential activation of midbrain dopamine neurons by appetitive rather than aversive stimuli. *Nature*, 379(6564), 449–451. <https://doi.org/10.1038/379449A0>
- Mistry, N., Wass, J., & Turner, M. R. (2009). When to consider thyroid dysfunction in the neurology clinic. *Practical Neurology*, 9(3), 145–156. <https://doi.org/10.1136/JNNP.2008.167163>
- Miyaoka, H., Otsubo, T., Kamijima, K., Ishii, M., Onuki, M., & Mitamura, K. (1999). Depression from interferon therapy in patients with hepatitis C. *The American Journal of Psychiatry*, 156(7), 1120. <https://doi.org/10.1176/AJP.156.7.1120>
- Mobarakeh, J. I., Sakurada, S., Katsuyama, S., Kutsuwa, M., Kuramasu, A., Lin, Z. Y., Watanabe, T., Hashimoto, Y., Watanabe, T., & Yanai, K. (2000). Role of histamine H(1) receptor in pain perception: a study of the receptor gene knockout mice. *European Journal of Pharmacology*, 391(1–2), 81–89. [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(00\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(00)00060-1)
- Mogenson, G. J., Jones, D. L., & Yim, C. Y. (1980). From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology*, 14(2–3), 69–97. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(80\)90018-0](https://doi.org/10.1016/0301-0082(80)90018-0)
- Mohebi, A., Collins, V. L., & Berke, J. D. (2023). Accumbens cholinergic interneurons dynamically promote dopamine release and enable motivation. *ELife*, 12. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.85011>
- Molendijk, M. L., Spinhoven, P., Polak, M., Bus, B. A. A., Penninx, B. W. J. H., & Elzinga, B. M. (2014). Serum BDNF concentrations as peripheral manifestations of depression: evidence from a systematic review and meta-analyses on 179 associations (N=9484). *Molecular Psychiatry*, 19(7), 791–800. <https://doi.org/10.1038/MP.2013.105>
- Molinoff, P. B., & Axelrod, J. (1971). Biochemistry of catecholamines. *Annual Review of Biochemistry*, 40, 465–500. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.BI.40.070171.002341>
- Mongia, S., Yamaguchi, T., Liu, B., Zhang, S., Wang, H., & Morales, M. (2019). The Ventral Tegmental Area has calbindin neurons with the capability to co-release glutamate and dopamine into the nucleus accumbens. *The European Journal of Neuroscience*, 50(12), 3968–3984. <https://doi.org/10.1111/EJN.14493>
- Monje, M. L., Toda, H., & Palmer, T. D. (2003). Inflammatory blockade restores adult hippocampal neurogenesis. *Science (New York, N.Y.)*, 302(5651), 1760–1765. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1088417>
- Montano, N., Conforti, G., Di Bonaventura, R., Meglio, M., Fernandez, E., & Papacci, F. (2015). Advances in diagnosis and treatment of trigeminal neuralgia. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 11, 289–299. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S37592>
- Moradi, M., Fatahi, Z., & Haghparast, A. (2015). Blockade of D1-like dopamine receptors within the ventral tegmental area and nucleus accumbens attenuates antinociceptive responses induced by chemical stimulation of the lateral hypothalamus. *Neuroscience Letters*, 599, 61–66. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2015.05.047>
- Morales, M., & Margolis, E. B. (2017). Ventral tegmental area: cellular heterogeneity, connectivity and behaviour. *Nature Reviews. Neuroscience*, 18(2), 73–85. <https://doi.org/10.1038/NRN.2016.165>
- Morales, M., & Root, D. H. (2014). Glutamate neurons within the midbrain dopamine regions. *Neuroscience*, 282, 60–68. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.05.032>

- Moreau, J.-L., Scherschlicht, R., Jenck, F., & Martin, J. R. (1995). Chronic mild stress-induced anhedonia model of depression; sleep abnormalities and curative effects of electroshock treatment. *Behavioural Pharmacology*, 6(7), 682–687.
- Moreines, J. L., Owrutsky, Z. L., Gagnon, K. G., & Grace, A. A. (2017). Divergent effects of acute and repeated quetiapine treatment on dopamine neuron activity in normal vs. chronic mild stress induced hypodopaminergic states. *Translational Psychiatry* 2017 7:12, 7(12), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41398-017-0039-9>
- Morel, C., Fernandez, S. P., Pantouli, F., Meye, F. J., Marti, F., Tolu, S., Parnaudeau, S., Marie, H., Tronche, F., Maskos, U., Moretti, M., Gotti, C., Han, M. H., Bailey, A., Mameli, M., Barik, J., & Faure, P. (2018). Nicotinic receptors mediate stress-nicotine detrimental interplay via dopamine cells' activity. *Molecular Psychiatry*, 23(7), 1597–1605. <https://doi.org/10.1038/MP.2017.145>
- Mori, T., Kanbara, T., Harumiya, M., Iwase, Y., Masumoto, A., Komiya, S., Nakamura, A., Shibasaki, M., Kanemasa, T., Sakaguchi, G., & Suzuki, T. (2014). Establishment of opioid-induced rewarding effects under oxaliplatin- and Paclitaxel-induced neuropathy in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 126(1), 47–55. <https://doi.org/10.1254/JPHS.14134FP>
- Morikawa, H., & Paladini, C. A. (2011). Dynamic regulation of midbrain dopamine neuron activity: intrinsic, synaptic, and plasticity mechanisms. *Neuroscience*, 198, 95–111. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2011.08.023>
- Morley-Fletcher, S., Darnaudery, M., Koehl, M., Casolini, P., Van Reeth, O., & Maccari, S. (2003). Prenatal stress in rats predicts immobility behavior in the forced swim test: Effects of a chronic treatment with tianeptine. *Brain Research*, 989(2), 246–251. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)03293-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)03293-1)
- Morozova, E. O., Myroshnychenko, M., Zakharov, D., di Volo, M., Gutkin, B., Lapish, C. C., & Kuznetsov, A. (2016). Contribution of synchronized GABAergic neurons to dopaminergic neuron firing and bursting. *Journal of Neurophysiology*, 116(4), 1900–1923. <https://doi.org/10.1152/JN.00232.2016>
- Morris, J. S., Smith, K. A., Cowen, P. J., Friston, K. J., & Dolan, R. J. (1999). Covariation of Activity in Habenula and Dorsal Raphé Nuclei Following Tryptophan Depletion. *NeuroImage*, 10(2), 163–172. <https://doi.org/10.1006/NIMG.1999.0455>
- Mul, J. D., Zheng, J., & Goodyear, L. J. (2016). Validity Assessment of 5 Day Repeated Forced-Swim Stress to Model Human Depression in Young-Adult C57BL/6J and BALB/cJ Mice. *ENeuro*, 3(6). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0201-16.2016>
- Muley, M. M., Krustev, E., & Mcdougall, J. J. (2016). Preclinical Assessment of Inflammatory Pain. *CNS Neuroscience & Therapeutics*, 22(2), 88–101. <https://doi.org/10.1111/CNS.12486>
- Muneoka, K., Oda, Y., Iwata, M., Iyo, M., Hashimoto, K., & Shirayama, Y. (2020). Monoaminergic balances predict non-depression-like phenotype in Learned Helplessness Paradigm. *Neuroscience*, 440, 290–298. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2020.03.033>
- Muneoka, K., Shirayama, Y., Horio, M., Iyo, M., & Hashimoto, K. (2013). Differential levels of brain amino acids in rat models presenting learned helplessness or non-learned helplessness. *Psychopharmacology*, 229(1), 63–71. <https://doi.org/10.1007/S00213-013-3080-2>
- Munro, G., Jansen-Olesen, I., & Olesen, J. (2017). Animal models of pain and migraine in drug discovery. *Drug Discovery Today*, 22(7), 1103–1111. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2017.04.016>
- Mutschler, I., Ball, T., Wankerl, J., & Strigo, I. A. (2012). Pain and emotion in the insular cortex: evidence for functional reorganization in major depression. *Neuroscience Letters*, 520(2), 204–209. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2012.03.095>
- Mutso, A. A., Radzicki, D., Baliki, M. N., Huang, L., Banisadr, G., Centeno, M. V., Radulovic, J., Martina, M., Miller, R. J., & Vania Apkarian, A. (2012). Abnormalities in Hippocampal Functioning with Persistent Pain. *Journal of Neuroscience*, 32(17), 5747–5756. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0587-12.2012>
- Nair-Roberts, R. G., Chatelain-Badie, S. D., Benson, E., White-Cooper, H., Bolam, J. P., & Ungless, M. A. (2008). Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience*, 152(4), 1024–1031. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2008.01.046>
- Nakamura, A., Narita, M., Miyoshi, K., Shindo, K., Okutsu, D., Suzuki, M., Higashiyama, K., & Suzuki, T. (2008). Changes in the rewarding effects induced by tramadol and its active metabolite M1 after sciatic nerve injury in mice. *Psychopharmacology*, 200(3), 307–316. <https://doi.org/10.1007/S00213-008-1180-1>
- Namboodiri, V. M. K., Otis, J. M., van Heeswijk, K., Voets, E. S., Alghorazi, R. A., Rodriguez-Romaguera, J., Mihalas, S., & Stuber, G. D. (2019). Single-cell activity tracking reveals that orbitofrontal neurons acquire and maintain a long-term memory to guide behavioral adaptation. *Nature Neuroscience*, 22(7), 1110. <https://doi.org/10.1038/S41593-019-0408-1>
- Nandakumar, K. S., Svensson, L., & Holmdahl, R. (2003). Collagen Type II-Specific Monoclonal Antibody-Induced Arthritis in Mice : Description of the Disease and the Influence of Age, Sex, and Genes. *The American Journal of Pathology*, 163(5), 1827. [https://doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63542-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63542-0)
- Naneix, F., Tantot, F., Glangetas, C., Kaufling, J., Jantakhin, Y., Boitard, C., De Smedt-Peyrusse, V., Pape, J. R., Vancassel, S., Trifilieff, P., Georges, F., Coutureau, E., & Ferreira, G. (2017). Impact of Early Consumption of High-Fat Diet on the Mesolimbic Dopaminergic System. *ENeuro*, 4(3). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0120-17.2017>
- Narita, M., Kaneko, C., Miyoshi, K., Nagumo, Y., Kuzumaki, N., Nakajima, M., Nanjo, K., Matsuzawa, K., Yamazaki, M., & Suzuki, T. (2005). Chronic Pain Induces Anxiety with Concomitant Changes in Opioidergic Function in the Amygdala. *Neuropsychopharmacology* 2006 31:4, 31(4), 739–750. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300858>
- Narita, M., Kishimoto, Y., Ise, Y., Yajima, Y., Misawa, K., & Suzuki, T. (2005). Direct evidence for the involvement of the mesolimbic kappa-opioid system in the morphine-induced rewarding effect under an inflammatory pain-like state. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(1), 111–118. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1300527>

- Narita, M., Kuzumaki, N., Narita, M., Kaneko, C., Hareyama, N., Miyatake, M., Shindo, K., Miyoshi, K., Nakajima, M., Nagumo, Y., Sato, F., Wachi, H., Seyama, Y., & Suzuki, T. (2006). Chronic pain-induced emotional dysfunction is associated with astrogliosis due to cortical  $\delta$ -opioid receptor dysfunction. *Journal of Neurochemistry*, 97(5), 1369–1378. <https://doi.org/10.1111/J.1471-4159.2006.03824.X>
- Narita, M., Suzuki, M., Imai, S., Narita, M., Ozaki, S., Kishimoto, Y., Oe, K., Yajima, Y., Yamazaki, M., & Suzuki, T. (2004a). Molecular mechanism of changes in the morphine-induced pharmacological actions under chronic pain-like state: Suppression of dopaminergic transmission in the brain. *Life Sciences*, 74(21), 2655–2673. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2004.01.006>
- Narita, M., Suzuki, M., Imai, S., Narita, M., Ozaki, S., Kishimoto, Y., Oe, K., Yajima, Y., Yamazaki, M., & Suzuki, T. (2004b). Molecular mechanism of changes in the morphine-induced pharmacological actions under chronic pain-like state: Suppression of dopaminergic transmission in the brain. *Life Sciences*, 74(21), 2655–2673. <https://doi.org/10.1016/J.LFS.2004.01.006>
- Nauta, W. J. H. (1958). Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat. *Brain: A Journal of Neurology*, 81(3), 319–340. <https://doi.org/10.1093/BRAIN/81.3.319>
- Nauta, W. J. H., Smith, G. P., Faull, R. L. M., & Domesick, V. B. (1978a). Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience*, 3(4–5), 385–401. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(78\)90041-6](https://doi.org/10.1016/0306-4522(78)90041-6)
- Nauta, W. J. H., Smith, G. P., Faull, R. L. M., & Domesick, V. B. (1978b). Efferent connections and nigral afferents of the nucleus accumbens septi in the rat. *Neuroscience*, 3(4–5), 385–401. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(78\)90041-6](https://doi.org/10.1016/0306-4522(78)90041-6)
- Navratilova, E., Xie, J. Y., Okun, A., Qu, C., Eyde, N., Ci, S., Ossipov, M. H., King, T., Fields, H. L., & Porreca, F. (2012). Pain relief produces negative reinforcement through activation of mesolimbic reward-valuation circuitry. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(50), 20709–20713. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1214605109>
- Nees, T. A., Wang, N., Adamek, P., Verkest, C., Schaefer, I., Virnich, J., Balkaya, S., Prato, V., Morelli, C., Zeitzschel, N., Begay, V., Lee, Y. J., Lewin, G. R., Heppenstall, P. A., Taberner, F. J., & Lechner, S. G. (2022). The molecular mechanism and physiological role of silent nociceptor activation. *BioRxiv*, 2022.04.07.486730. <https://doi.org/10.1101/2022.04.07.486730>
- Nemeroff, C. B., Widerlöv, E., Bissette, G., Walléus, H., Karlsson, I., Eklund, K., Kilts, C. D., Loosen, P. T., & Vale, W. (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science (New York, N.Y.)*, 226(4680), 1342–1344. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.6334362>
- Nestler, E. J., & Carlezon, W. A. (2006). The mesolimbic dopamine reward circuit in depression. *Biological Psychiatry*, 59(12), 1151–1159. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2005.09.018>
- Nguyen, C., Mondoloni, S., Le Borgne, T., Centeno, I., Come, M., Jehl, J., Solié, C., Reynolds, L. M., Durand-de Cuttoli, R., Tolu, S., Valverde, S., Didiene, S., Hanneke, B., Fiancette, J. F., Pons, S., Maskos, U., Deroche-Gamonet, V., Dalkara, D., Hardelin, J. P., ... Faure, P. (2021). Nicotine inhibits the VTA-to-amygdala dopamine pathway to promote anxiety. *Neuron*, 109(16), 2604-2615.e9. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2021.06.013>
- Niikura, K., Narita, M., Narita, M., Nakamura, A., Okutsu, D., Ozeki, A., Kurahashi, K., Kobayashi, Y., Suzuki, M., & Suzuki, T. (2008). Direct evidence for the involvement of endogenous beta-endorphin in the suppression of the morphine-induced rewarding effect under a neuropathic pain-like state. *Neuroscience Letters*, 435(3), 257–262. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2008.02.059>
- Nishio, T., Furukawa, S., Akiguchi, I., & Sunohara, N. (1998). Medial nigral dopamine neurons have rich neurotrophin support in humans. *Neuroreport*, 9(12), 2847–2851. <https://doi.org/10.1097/00001756-199808240-00030>
- Niv, Y. (2007). Cost, benefit, tonic, phasic: what do response rates tell us about dopamine and motivation? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1104, 357–376. <https://doi.org/10.1196/ANNALS.1390.018>
- Oades, R. D., & Halliday, G. M. (1987). Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Research*, 434(2), 117–165. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(87\)90011-7](https://doi.org/10.1016/0165-0173(87)90011-7)
- O'Callaghan, J. P., & Holtzman, S. G. (1975). Quantification of the analgesic activity of narcotic antagonists by a modified hot-plate procedure. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 192(3), 497–505.
- O'Connor, J. C., André, C., Wang, Y., Lawson, M. A., Szegedi, S. S., Lestage, J., Castanon, N., Kelley, K. W., & Dantzer, R. (2009). Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to bacillus Calmette-Guerin. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 29(13), 4200–4209. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5032-08.2009>
- O'Donnell, K. J., Glover, V., Barker, E. D., & O'Connor, T. G. (2014). The persisting effect of maternal mood in pregnancy on childhood psychopathology. *Development and Psychopathology*, 26(2), 393–403. <https://doi.org/10.1017/S0954579414000029>
- Ogawa, S., Fujii, T., Koga, N., Hori, H., Teraishi, T., Hattori, K., Noda, T., Higuchi, T., Motohashi, N., & Kunugi, H. (2014). Plasma L-tryptophan concentration in major depressive disorder: new data and meta-analysis. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 75(9), e906–e915. <https://doi.org/10.4088/JCP.13R08908>
- Okbay, A., Baselmans, B. M. L., De Neve, J. E., Turley, P., Nivard, M. G., Fontana, M. A., Meddens, S. F. W., Linnér, R. K., Rietveld, C. A., Derringer, J., Gratten, J., Lee, J. J., Liu, J. Z., De Vlaming, R., SAhluwalia, T., Buchwald, J., Cavadino, A., Frazier-Wood, A. C., Furlotte, N. A., ... Cesarini, D. (2016). Genetic variants associated with subjective well-being, depressive symptoms, and neuroticism identified through genome-wide analyses. *Nature Genetics* 2016 48:6, 48(6), 624–633. <https://doi.org/10.1038/ng.3552>
- Olds, J., & Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47(6), 419–427. <https://doi.org/10.1037/h0058775>
- Olson, V. G., & Nestler, E. J. (2007). Topographical organization of GABAergic neurons within the ventral tegmental area of the rat. *Synapse (New York, N.Y.)*, 61(2), 87–95. <https://doi.org/10.1002/SYN.20345>

- Omorogbe, O., Ajayi, A. M., Ben-Azu, B., Oghwere, E. E., Adebessin, A., Aderibigbe, A. O., Okubena, O., & Umukoro, S. (2018). Jobelyn® attenuates inflammatory responses and neurobehavioural deficits associated with complete Freund-adjuvant-induced arthritis in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 98, 585–593. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.12.098>
- Ortiz, V., Costa Campos, R., Fofo, H., Fernandez, S. P., & Barik, J. (2022). Nicotinic receptors promote susceptibility to social stress in female mice linked with neuroadaptations within VTA dopamine neurons. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 47(9), 1587–1596. <https://doi.org/10.1038/S41386-022-01314-4>
- Österberg, A., Boivie, J., & Thuomas, K. Å. (2005). Central pain in multiple sclerosis—prevalence and clinical characteristics. *European Journal of Pain (London, England)*, 9(5), 531. <https://doi.org/10.1016/J.EJPAIN.2004.11.005>
- Otte, C., Gold, S. M., Penninx, B. W., Pariante, C. M., Etkin, A., Fava, M., Mohr, D. C., & Schatzberg, A. F. (2016). Major depressive disorder. *Nature Reviews Disease Primers*, 2(1), 16065. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.65>
- Otte, C., Hinkelmann, K., Moritz, S., Yassouridis, A., Jahn, H., Wiedemann, K., & Kellner, M. (2010). Modulation of the mineralocorticoid receptor as add-on treatment in depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled proof-of-concept study. *Journal of Psychiatric Research*, 44(6), 339–346. <https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2009.10.006>
- Otte, C., Wingenfeld, K., Kuehl, L. K., Kaczmarczyk, M., Richter, S., Quante, A., Regen, F., Bajbouj, M., Zimmermann-Viehoff, F., Wiedemann, K., & Hinkelmann, K. (2015). Mineralocorticoid receptor stimulation improves cognitive function and decreases cortisol secretion in depressed patients and healthy individuals. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 40(2), 386–393. <https://doi.org/10.1038/NPP.2014.181>
- Owesson-White, C. A., Cheer, J. F., Beyene, M., Carelli, R. M., & Wightman, R. M. (2008). Dynamic changes in accumbens dopamine correlate with learning during intracranial self-stimulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(33), 11957–11962. <https://doi.org/10.1073/PNAS.0803896105>
- Ozaki, S., Narita, M., Narita, M., Iino, M., Sugita, J., Matsumura, Y., & Suzuki, T. (2002). Suppression of the morphine-induced rewarding effect in the rat with neuropathic pain: implication of the reduction in mu-opioid receptor functions in the ventral tegmental area. *Journal of Neurochemistry*, 82(5), 1192–1198. <https://doi.org/10.1046/J.1471-4159.2002.01071.X>
- Ozaki, S., Narita, M., Narita, M., Ozaki, M., Khotib, J., & Suzuki, T. (2004). Role of extracellular signal-regulated kinase in the ventral tegmental area in the suppression of the morphine-induced rewarding effect in mice with sciatic nerve ligation. *Journal of Neurochemistry*, 88(6), 1389–1397. <https://doi.org/10.1046/J.1471-4159.2003.02272.X>
- Paladini, C. A., Celada, P., & Tepper, J. M. (1999). Striatal, pallidal, and pars reticulata evoked inhibition of nigrostriatal dopaminergic neurons is mediated by GABAA receptors in vivo. *Neuroscience*, 89(3), 799–812. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(98\)00355-8](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(98)00355-8)
- Paladini, C. A., Iribe, Y., & Tepper, J. M. (1999). GABAA receptor stimulation blocks NMDA-induced bursting of dopaminergic neurons in vitro by decreasing input resistance. *Brain Research*, 832(1–2), 145–151. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(99\)01484-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(99)01484-5)
- Paladini, C. A., & Roeper, J. (2014). Generating bursts (and pauses) in the dopamine midbrain neurons. *Neuroscience*, 282, 109–121. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.07.032>
- Paladini, C. A., & Tepper, J. M. (1999). GABAA and GABAB antagonists differentially affect the firing pattern of substantia nigra dopaminergic neurons in vivo. *Synapse*, 32(3), 165–176. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(19990601\)32:3<165::AID-SYN3>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(19990601)32:3<165::AID-SYN3>3.0.CO;2-N)
- Palma, B. D., Suchecki, D., & Tufik, S. (2000). Differential effects of acute cold and footshock on the sleep of rats. *Brain Research*, 861(1), 97–104. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02024-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02024-2)
- Pan, W. X., & Hyland, B. I. (2005). Pedunculo-pontine tegmental nucleus controls conditioned responses of midbrain dopamine neurons in behaving rats. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 25(19), 4725–4732. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0277-05.2005>
- Pan, W., Zhang, G. F., Li, H. H., Ji, M. H., Zhou, Z. Q., Li, K. Y., & Yang, J. J. (2018). Ketamine differentially restores diverse alterations of neurexins in brain regions in a rat model of neuropathic pain-induced depression. *NeuroReport*, 29(10), 863–869. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001045>
- Parent, A. J., Beaudet, N., Beaudry, H., Bergeron, J., Bérubé, P., Drolet, G., Sarret, P., & Gendron, L. (2012). Increased anxiety-like behaviors in rats experiencing chronic inflammatory pain. *Behavioural Brain Research*, 229(1), 160–167. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2012.01.001>
- Pariante, C. M. (2003). Depression, stress and the adrenal axis. *Journal of Neuroendocrinology*, 15(8), 811–812. <https://doi.org/10.1046/J.1365-2826.2003.01058.X>
- Pariante, C. M. (2017). Why are depressed patients inflamed? A reflection on 20 years of research on depression, glucocorticoid resistance and inflammation. *European Neuropsychopharmacology : The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 27(6), 554–559. <https://doi.org/10.1016/J.EURONEURO.2017.04.001>
- Park, J., Bucher, E. S., Budygin, E. A., & Mark Wightman, R. (2015). Norepinephrine and dopamine transmission in 2 limbic regions differentially respond to acute noxious stimulation. *Pain*, 156(2), 318–327. <https://doi.org/10.1097/01.J.PAIN.0000460312.79195.ED>
- Park, M. J., Seo, B. A., Lee, B., Shin, H. S., & Kang, M. G. (2018). Stress-induced changes in social dominance are scaled by AMPA-type glutamate receptor phosphorylation in the medial prefrontal cortex. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-018-33410-1>
- Pascoli, V., Terrier, J., Hiver, A., & Lüscher, C. (2015). Sufficiency of Mesolimbic Dopamine Neuron Stimulation for the Progression to Addiction. *Neuron*, 88(5), 1054–1066. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2015.10.017>
- Paulson, P. E., Gorman, A. L., Yeziarski, R. P., Casey, K. L., & Morrow, T. J. (2005). Differences in forebrain activation in two strains of rat at rest and after spinal cord injury. *Experimental Neurology*, 196(2), 413–421. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2005.08.015>

- Paulson, P. E., Wiley, J. W., & Morrow, T. J. (2007). Concurrent Activation of the Somatosensory Forebrain and Deactivation of Periaqueductal Grey Associated With Diabetes-Induced Neuropathic Pain. *Experimental Neurology*, 208(2), 305. <https://doi.org/10.1016/J.EXPNEUROL.2007.09.001>
- Pawl, R. Phillip. (1979). *Chronic pain primer*. 206.
- Pellicer, F., Ortega-Legaspi, J. M., Martín, R., Solís-Nájera, S., Magis-Weinberg, L., León-Olea, M., Graff-Guerrero, A., de la Fuente-Sandoval, C., & Rodríguez, A. O. (2022). Tracking the Temporal Footprint Effect of Thermoception and Denervation on the Brain's Pain Matrix: fMRI and BOLD Study in Rats. *Journal of Pain Research*, 15, 857. <https://doi.org/10.2147/JPR.S349840>
- Pennartz, C. M. A., Groenewegen, H. J., & Lopes da Silva, F. H. (1994). The nucleus accumbens as a complex of functionally distinct neuronal ensembles: an integration of behavioural, electrophysiological and anatomical data. *Progress in Neurobiology*, 42(6), 719–761. [https://doi.org/10.1016/0301-0082\(94\)90025-6](https://doi.org/10.1016/0301-0082(94)90025-6)
- Perrotti, L. I., Bolaños, C. A., Choi, K. H., Russo, S. J., Edwards, S., Ulery, P. G., Wallace, D. L., Self, D. W., Nestler, E. J., & Barrot, M. (2005). DeltaFosB accumulates in a GABAergic cell population in the posterior tail of the ventral tegmental area after psychostimulant treatment. *The European Journal of Neuroscience*, 21(10), 2817–2824. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2005.04110.X>
- Phillipson, O. T. (1979a). A Golgi study of the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 187(1), 99–115. <https://doi.org/10.1002/CNE.901870107>
- Phillipson, O. T. (1979b). Afferent projections to the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus: a horseradish peroxidase study in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 187(1), 117–143. <https://doi.org/10.1002/CNE.901870108>
- Phillipson, O. T. (1979c). The cytoarchitecture of the interfascicular nucleus and ventral tegmental area of Tsai in the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 187(1), 85–98. <https://doi.org/10.1002/CNE.901870106>
- Phillipson, O. T., & Griffiths, A. C. (1985). The topographic order of inputs to nucleus accumbens in the rat. *Neuroscience*, 16(2), 275–296. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(85\)90002-8](https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90002-8)
- Pickel, V. M., Joh, T. H., & Reis, D. J. (1976). Monoamine-synthesizing enzymes in central dopaminergic, noradrenergic and serotonergic neurons. Immunocytochemical localization by light and electron microscopy. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 24(7), 792–792. <https://doi.org/10.1177/24.7.8567>
- Pickel, V. M., Towle, A. C., Joh, T. H., & Chan, J. (1988). Gamma-aminobutyric acid in the medial rat nucleus accumbens: ultrastructural localization in neurons receiving monosynaptic input from catecholaminergic afferents. *The Journal of Comparative Neurology*, 272(1), 1–14. <https://doi.org/10.1002/CNE.902720102>
- Pijnenburg, A. J. J., & van Rossum, J. M. (1973). Letter: Stimulation of locomotor activity following injection of dopamine into the nucleus accumbens. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 25(12), 1003–1005. <https://doi.org/10.1111/J.2042-7158.1973.TB09995.X>
- Pitcher, G. M., Ritchie, J., & Henry, J. L. (1999a). Nerve constriction in the rat: Model of neuropathic, surgical and central pain. *Pain*, 83(1), 37–46. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00085-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00085-8)
- Pitcher, G. M., Ritchie, J., & Henry, J. L. (1999b). Nerve constriction in the rat: Model of neuropathic, surgical and central pain. *Pain*, 83(1), 37–46. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(99\)00085-8](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(99)00085-8)
- Place, D. E., & Kanneganti, T.-D. (2018). Recent advances in inflammasome biology. *Current Opinion in Immunology*, 50, 32–38. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2017.10.011>
- Plattner, F., Hayashi, K., Hernández, A., Benavides, D. R., Tassin, T. C., Tan, C., Day, J., Fina, M. W., Yuen, E. Y., Yan, Z., Goldberg, M. S., Nairn, A. C., Greengard, P., Nestler, E. J., Taussig, R., Nishi, A., Houslay, M. D., & Bibb, J. A. (2015). The role of ventral striatal cAMP signaling in stress-induced behaviors. *Nature Neuroscience*, 18(8), 1094–1100. <https://doi.org/10.1038/NN.4066>
- Poirier, L. J., Giguère, M., & Marchand, R. (1983). Comparative morphology of the substantia nigra and ventral tegmental area in the monkey, cat and rat. *Brain Research Bulletin*, 11(3), 371–397. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(83\)90173-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(83)90173-9)
- Porreca, F., & Navratilova, E. (2017). Reward, motivation, and emotion of pain and its relief. *Pain*, 158 Suppl 1(Suppl 1), S43–S49. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000000798>
- Porsolt, R. D., Anton, G., Blavet, N., & Jalfre, M. (1978). Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 47(4), 379–391. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(78\)90118-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(78)90118-8)
- Proudman, D., Greenberg, P., & Nellesen, D. (2021). The Growing Burden of Major Depressive Disorders (MDD): Implications for Researchers and Policy Makers. *Pharmacoeconomics*, 39(6), 619. <https://doi.org/10.1007/S40273-021-01040-7>
- Pryce, C. R., Azzinnari, D., Sigrist, H., Gschwind, T., Lesch, K.-P., & Seifritz, E. (2012). Establishing a learned-helplessness effect paradigm in C57BL/6 mice: Behavioural evidence for emotional, motivational and cognitive effects of aversive uncontrollability per se. *Neuropharmacology*, 62(1), 358–372. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.08.012>
- Puthongkham, P., & Venton, B. J. (2020). Recent Advances in Fast-Scan Cyclic Voltammetry. *The Analyst*, 145(4), 1087. <https://doi.org/10.1039/C9AN01925A>
- Qi, G., Zhang, P., Li, T., Li, M., Zhang, Q., He, F., Zhang, L., Cai, H., Lv, X., Qiao, H., Chen, X., Ming, J., & Tian, B. (2022). NAc-VTA circuit underlies emotional stress-induced anxiety-like behavior in the three-chamber vicarious social defeat stress mouse model. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/S41467-022-28190-2>
- Qiao, H., Yang, S., Xu, C., Ma, X. M., & An, S. C. (2020). Involvement of D2 receptor in the NAc in chronic unpredictable stress-induced depression-like behaviors. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, 23(3), 318–327. <https://doi.org/10.1080/10253890.2019.1673361>

- Qiao, Y., Zhang, C. K., Li, Z. H., Niu, Z. H., Li, J., & Li, J. L. (2019). Collateral Projections from the Lateral Parabrachial Nucleus to the Central Amygdaloid Nucleus and the Ventral Tegmental Area in the Rat. *Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)*, 302(7), 1178–1186. <https://doi.org/10.1002/AR.23983>
- Quessy, F., Bittar, T., Blanchette, L. J., Lévesque, M., & Labonté, B. (2021). Stress-induced alterations of mesocortical and mesolimbic dopaminergic pathways. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-021-90521-Y>
- Raboisson, P., & Dallel, R. (2004). The orofacial formalin test. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 28(2), 219–226. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.12.003>
- Raison, C. L., Dantzer, R., Kelley, K. W., Lawson, M. A., Woolwine, B. J., Vogt, G., Spivey, J. R., Saito, K., & Miller, A. H. (2010). CSF concentrations of brain tryptophan and kynurenines during immune stimulation with IFN- $\alpha$ : relationship to CNS immune responses and depression. *Molecular Psychiatry*, 15(4), 393–403. <https://doi.org/10.1038/MP.2009.116>
- Ray, J. P., & Price, J. L. (1993). The organization of projections from the mediodorsal nucleus of the thalamus to orbital and medial prefrontal cortex in macaque monkeys. *The Journal of Comparative Neurology*, 337(1), 1–31. <https://doi.org/10.1002/CNE.903370102>
- Refsgaard, L. K., Hoffmann-Petersen, J., Sahlholt, M., Pickering, D. S., & Andreassen, J. T. (2016). Modelling affective pain in mice: Effects of inflammatory hypersensitivity on place escape/avoidance behaviour, anxiety and hedonic state. *Journal of Neuroscience Methods*, 262, 85–92. <https://doi.org/10.1016/J.JNEUMETH.2016.01.019>
- Ren, K., & Dubner, R. (1999). Inflammatory Models of Pain and Hyperalgesia. *ILAR Journal*, 40(3), 111–118. <https://doi.org/10.1093/ILAR.40.3.111>
- Reynolds, S. M., & Berridge, K. C. (2008). Emotional environments retune the valence of appetitive versus fearful functions in nucleus accumbens. *Nature Neuroscience*, 11(4), 423–425. <https://doi.org/10.1038/NN2061>
- Ribak, C. E., Vaughn, J. E., & Roberts, E. (1980). Gabaergic nerve terminals decrease in the substantia nigra following hemitransections of the striatonigral and pallidonigral pathways. *Brain Research*, 192(2), 413–420. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(80\)90893-8](https://doi.org/10.1016/0006-8993(80)90893-8)
- Ribak, C. E., Vaughn, J. E., Saito, K., Barber, R., & Roberts, E. (1976). Immunocytochemical localization of glutamate decarboxylase in rat substantia nigra. *Brain Research*, 116(2), 287–298. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(76\)90906-9](https://doi.org/10.1016/0006-8993(76)90906-9)
- Rice, C. J., Sandman, C. A., Lenjavi, M. R., & Baram, T. Z. (2008). A novel mouse model for acute and long-lasting consequences of early life stress. *Endocrinology*, 149(10), 4892–4900. <https://doi.org/10.1210/EN.2008-0633>
- Rice, D., & Barone, S. (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environmental Health Perspectives*, 108(suppl 3), 511–533. <https://doi.org/10.1289/ehp.00108s3511>
- Richards, C. D., Shiroyama, T., & Kitai, S. T. (1997). Electrophysiological and immunocytochemical characterization of GABA and dopamine neurons in the substantia nigra of the rat. *Neuroscience*, 80(2), 545–557. [https://doi.org/10.1016/S0306-4522\(97\)00093-6](https://doi.org/10.1016/S0306-4522(97)00093-6)
- Riedel, G., Harrington, N. R., Hall, G., & Macphail, E. M. (1997). Nucleus accumbens lesions impair context, but not cue, conditioning in rats. *Neuroreport*, 8(11), 2477–2481. <https://doi.org/10.1097/00001756-199707280-00013>
- Rincón-Cortés, M., & Grace, A. A. (2017). Sex-Dependent Effects of Stress on Immobility Behavior and VTA Dopamine Neuron Activity: Modulation by Ketamine. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 20(10), 823–832. <https://doi.org/10.1093/IJNP/PYX048>
- Rivera-Irizarry, J. K., Skelly, M. J., & Pleil, K. E. (2020). Social Isolation Stress in Adolescence, but not Adulthood, Produces Hypersocial Behavior in Adult Male and Female C57BL/6J Mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14. <https://doi.org/10.3389/FNBEH.2020.00129>
- Rodd, Z. A., Bell, R. L., Kuc, K. A., Zhang, Y., Murphy, J. M., & McBride, W. J. (2005). Intracranial self-administration of cocaine within the posterior ventral tegmental area of Wistar rats: evidence for involvement of serotonin-3 receptors and dopamine neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 313(1), 134–145. <https://doi.org/10.1124/JPET.104.075952>
- Rodd, Z. A., Bell, R. L., Zharag, Y., Murphy, J. M., Goldstein, A., Zaffaroni, A., Li, T. K., & McBride, W. J. (2005). Regional heterogeneity for the intracranial self-administration of ethanol and acetaldehyde within the ventral tegmental area of alcohol-preferring (P) rats: involvement of dopamine and serotonin. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 30(2), 330–338. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1300561>
- Rodd-Henricks, Z. A., McKinzie, D. L., Crile, R. S., Murphy, J. M., & McBride, W. J. (2000). Regional heterogeneity for the intracranial self-administration of ethanol within the ventral tegmental area of female Wistar rats. *Psychopharmacology*, 149(3), 217–224. <https://doi.org/10.1007/S002139900347>
- Rodd-Henricks, Z. A., McKinzie, D. L., Melendez, R. I., Berry, N., Murphy, J. M., & McBride, W. J. (2003). Effects of serotonin-3 receptor antagonists on the intracranial self-administration of ethanol within the ventral tegmental area of Wistar rats. *Psychopharmacology*, 165(3), 252–259. <https://doi.org/10.1007/S00213-002-1300-2>
- Roeper, J. (2013). Dissecting the diversity of midbrain dopamine neurons. *Trends in Neurosciences*, 36(6), 336–342. <https://doi.org/10.1016/J.TINS.2013.03.003>
- Roeska, K., Ceci, A., Treede, R. D., & Doods, H. (2009). Effect of high trait anxiety on mechanical hypersensitivity in male rats. *Neuroscience Letters*, 464(3), 160–164. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2009.08.031>
- Roiser, J. P., Levy, J., Fromm, S. J., Nugent, A. C., Talagala, S. L., Hasler, G., Henn, F. A., Sahakian, B. J., & Drevets, W. C. (2009). The Effects of Tryptophan Depletion on Neural Responses to Emotional Words in Remitted Depression. *Biological Psychiatry*, 66(5), 441–450. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.05.002>

- Roitman, M. F., Wheeler, R. A., Tiesinga, P. H. E., Roitman, J. D., & Carelli, R. M. (2010). Hedonic and nucleus accumbens neural responses to a natural reward are regulated by aversive conditioning. *Learning & Memory (Cold Spring Harbor, N.Y.)*, 17(11), 539–546. <https://doi.org/10.1101/LM.1869710>
- Romeo, R. D., Mueller, A., Sisti, H. M., Ogawa, S., McEwen, B. S., & Brake, W. G. (2003). Anxiety and fear behaviors in adult male and female C57BL/6 mice are modulated by maternal separation. *Hormones and Behavior*, 43(5), 561–567. [https://doi.org/10.1016/S0018-506X\(03\)00063-1](https://doi.org/10.1016/S0018-506X(03)00063-1)
- Root, D. H., Mejias-Aponte, C. A., Zhang, S., Wang, H.-L., Hoffman, A. F., Lupica, C. R., & Morales, M. (2014). Single rodent mesohabenular axons release glutamate and GABA. *Nature Neuroscience*, 17(11), 1543–1551. <https://doi.org/10.1038/nn.3823>
- Roy, S., Arif Ansari, M., Choudhary, K., & Singh, S. (2023). NLRP3 inflammasome in depression: A review. *International Immunopharmacology*, 117. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2023.109916>
- Rudyk, C., Dwyer, Z., McNeill, J., Salmaso, N., Farmer, K., Prowse, N., & Hayley, S. (2019). Chronic unpredictable stress influenced the behavioral but not the neurodegenerative impact of paraquat. *Neurobiology of Stress*, 11. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2019.100179>
- Rush, A. J., Trivedi, M. H., Wisniewski, S. R., Nierenberg, A. A., Stewart, J. W., Warden, D., Niederehe, G., Thase, M. E., Lavori, P. W., Lebowitz, B. D., McGrath, P. J., Rosenbaum, J. F., Sackeim, H. A., Kupfer, D. J., Luther, J., & Fava, M. (2006). Acute and longer-term outcomes in depressed outpatients requiring one or several treatment steps: a STAR\*D report. *The American Journal of Psychiatry*, 163(11), 1905–1917. <https://doi.org/10.1176/AJP.2006.163.11.1905>
- Rygula, R., Abumaria, N., Flügge, G., Fuchs, E., Rütger, E., & Havemann-Reinecke, U. (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behavioural Brain Research*, 162(1), 127–134. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2005.03.009>
- Saddoris, M. P., Cacciapaglia, F., Wightman, R. M., & Carelli, R. M. (2015). Differential Dopamine Release Dynamics in the Nucleus Accumbens Core and Shell Reveal Complementary Signals for Error Prediction and Incentive Motivation. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 35(33), 11572–11582. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2344-15.2015>
- Sadosky, A., McDermott, A. M., Brandenburg, N. A., & Strauss, M. (2008). A review of the epidemiology of painful diabetic peripheral neuropathy, postherpetic neuralgia, and less commonly studied neuropathic pain conditions. *Pain Practice : The Official Journal of World Institute of Pain*, 8(1), 45–56. <https://doi.org/10.1111/J.1533-2500.2007.00164.X>
- Safari-Sandiani, E., Rahimitabar, N., Rezaee, L., Behnaz, M., & Haghparast, A. (2020). The contribution of orexin receptors within the ventral tegmental area to modulation of antinociception induced by chemical stimulation of the lateral hypothalamus in the animal model of orofacial pain in the rats. *Behavioural Pharmacology*, 31(5), 500–509. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000531>
- Sagheddu, C., Aroni, S., De Felice, M., Lecca, S., Luchicchi, A., Melis, M., Muntoni, A. L., Romano, R., Palazzo, E., Guida, F., Maione, S., & Pistis, M. (2015). Enhanced serotonin and mesolimbic dopamine transmissions in a rat model of neuropathic pain. *Neuropharmacology*, 97, 383–393. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2015.06.003>
- Salaberry, N. L., & Mendoza, J. (2016). Insights into the role of the habenular circadian clock in addiction. *Frontiers in Psychiatry*, 6(JAN), 165522. <https://doi.org/10.3389/FPSYT.2015.00179/BIBTEX>
- Salomon, B., Rhee, L., Bour-Jordan, H., Hsin, H., Montag, A., Soliven, B., Arcella, J., Girvin, A. M., Miller, S. D., & Bluestone, J. A. (2001). Development of spontaneous autoimmune peripheral polyneuropathy in B7-2-deficient NOD mice. *The Journal of Experimental Medicine*, 194(5), 677–684. <https://doi.org/10.1084/JEM.194.5.677>
- Samineni, V. K., Grajales-Reyes, J. G., Copits, B. A., O'Brien, D. E., Trigg, S. L., Gomez, A. M., Bruchas, M. R., & Gereau, R. W. (2017). Divergent Modulation of Nociception by Glutamatergic and GABAergic Neuronal Subpopulations in the Periaqueductal Gray. *ENeuro*, 4(2). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0129-16.2017>
- Samuels, B. A., & Hen, R. (2011). Novelty-Suppressed Feeding in the Mouse (pp. 107–121). [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-313-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-313-4_7)
- Sanchez-Catalan, M. J., Kauffling, J., Georges, F., Veinante, P., & Barrot, M. (2014). The antero-posterior heterogeneity of the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 282, 198–216. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.09.025>
- Sang, K., Bao, C., Xin, Y., Hu, S., Gao, X., Wang, Y., Bodner, M., Zhou, Y. Di, & Dong, X. W. (2018). Plastic change of prefrontal cortex mediates anxiety-like behaviors associated with chronic pain in neuropathic rats. *Molecular Pain*, 14. [https://doi.org/10.1177/1744806918783931/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_1744806918783931-FIG5.JPEG](https://doi.org/10.1177/1744806918783931/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1744806918783931-FIG5.JPEG)
- Sarnyai, Z., Sibille, E. L., Pavlides, C., Fenster, R. J., McEwen, B. S., & Tóth, M. (2000). Impaired hippocampal-dependent learning and functional abnormalities in the hippocampus in mice lacking serotonin(1A) receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(26), 14731–14736. <https://doi.org/10.1073/PNAS.97.26.14731>
- Sartorius, A., & Henn, F. A. (2007). Deep brain stimulation of the lateral habenula in treatment resistant major depression. *Medical Hypotheses*, 69(6), 1305–1308. <https://doi.org/10.1016/J.MEHY.2007.03.021>
- Sartorius, A., Kiening, K. L., Kirsch, P., von Gall, C. C., Haberkorn, U., Unterberg, A. W., Henn, F. A., & Meyer-Lindenberg, A. (2010). Remission of major depression under deep brain stimulation of the lateral habenula in a therapy-refractory patient. *Biological Psychiatry*, 67(2). <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2009.08.027>
- Satterthwaite, T. D., Kable, J. W., Vandekar, L., Katchmar, N., Bassett, D. S., Baldassano, C. F., Ruparel, K., Elliott, M. A., Sheline, Y. I., Gur, R. C., Gur, R. E., Davatzikos, C., Leibenluft, E., Thase, M. E., & Wolf, D. H. (2015). Common and Dissociable Dysfunction of the Reward System in Bipolar and Unipolar Depression. *Neuropsychopharmacology*, 40(9), 2258. <https://doi.org/10.1038/NPP.2015.75>
- Schatzberg, A. F. (2015). Anna-Monika Award Lecture, DGPPN Kongress, 2013: the role of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in the pathogenesis of psychotic major depression. *The World Journal of Biological Psychiatry : The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 16(1), 2–11. <https://doi.org/10.3109/15622975.2014.916414>

- Schiffrinet, E., Bowen, S. E., & Borszcz, G. S. (2014). Separating analgesia from reward within the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 263, 72–87. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROSCIENCE.2014.01.009>
- Schmaal, L., Veltman, D. J., Van Erp, T. G. M., Smann, P. G., Frodl, T., Jahanshad, N., Loehrer, E., Tiemeier, H., Hofman, A., Niessen, W. J., Vernooij, M. W., Ikram, M. A., Wittfeld, K., Grabe, H. J., Block, A., Hegenscheid, K., Völzke, H., Hoehn, D., Czisch, M., ... Hibar, D. P. (2016). Subcortical brain alterations in major depressive disorder: findings from the ENIGMA Major Depressive Disorder working group. *Molecular Psychiatry*, 21(6), 806–812. <https://doi.org/10.1038/MP.2015.69>
- Schmidt, R. F. (2007). Silent Nociceptor. *Encyclopedia of Pain*, 2171–2173. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-29805-2\\_4001](https://doi.org/10.1007/978-3-540-29805-2_4001)
- Schricker, I. F., Nayman, S., Reinhard, I., & Kuehner, C. (2023). Trait and state effects of different modes of thinking on salivary cortisol in daily life in patients with recurrent major depression and healthy individuals. *Psychoneuroendocrinology*, 155. <https://doi.org/10.1016/J.PSYNEUEN.2023.106307>
- Schultz, W. (1997). Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Current Opinion in Neurobiology*, 7(2), 191–197. [https://doi.org/10.1016/S0959-4388\(97\)80007-4](https://doi.org/10.1016/S0959-4388(97)80007-4)
- Schultz, W. (1998). The phasic reward signal of primate dopamine neurons. *Advances in Pharmacology (San Diego, Calif.)*, 42(C), 686–690. [https://doi.org/10.1016/S1054-3589\(08\)60841-8](https://doi.org/10.1016/S1054-3589(08)60841-8)
- Schultz, W. (2013). Updating dopamine reward signals. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(2), 229–238. <https://doi.org/10.1016/J.CONB.2012.11.012>
- Schultz, W. (2016). Dopamine reward prediction error coding. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 18(1), 23. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2016.18.1/WSCHULTZ>
- Schwarcz, R., Bruno, J. P., Muchowski, P. J., & Wu, H. Q. (2012). Kynurenines in the mammalian brain: when physiology meets pathology. *Nature Reviews. Neuroscience*, 13(7), 465–477. <https://doi.org/10.1038/NRN3257>
- Seedat, S., Scott, K. M., Angermeyer, M. C., Berglund, P., Bromet, E. J., Brugha, T. S., Demyttenaere, K., De Girolamo, G., Haro, J. M., Jin, R., Karam, E. G., Kovess-Masfety, V., Levinson, D., Medina Mora, M. E., Ono, Y., Ormel, J., Pennell, B. E., Posada-Villa, J., Sampson, N. A., ... Kessler, R. C. (2009). Cross-national associations between gender and mental disorders in the World Health Organization World Mental Health Surveys. *Archives of General Psychiatry*, 66(7), 785–795. <https://doi.org/10.1001/ARCHGENPSYCHIATRY.2009.36>
- Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 96. <https://doi.org/10.3791/52434>
- Seifert, C. L., Magon, S., Sprenger, T., Lang, U. E., Huber, C. G., Denier, N., Vogel, M., Schmidt, A., Radue, E. W., Borgwardt, S., & Walter, M. (2015). Reduced volume of the nucleus accumbens in heroin addiction. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 265(8), 637–645. <https://doi.org/10.1007/S00406-014-0564-Y>
- Seldenrijk, A., Van Hout, H. P. J., Van Marwijk, H. W. J., De Groot, E., Gort, J., Rustemeijer, C., Diamant, M., & Penninx, B. W. J. H. (2011). Neuropsychological safety of nucleus accumbens deep brain stimulation for major depression: effects of 12-month stimulation. *The World Journal of Biological Psychiatry : The Official Journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry*, 12(7), 516–527. <https://doi.org/10.3109/15622975.2011.583940>
- Seligman, M. E., & Beagley, G. (1975). Learned helplessness in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 88(2), 534–541. <https://doi.org/10.1037/H0076430>
- Sellmeijer, J., Mathis, V., Hugel, S., Li, U. H., Song, Q., Chen, Q. Y., Barthas, F., Lutz, P. E., Karatas, M., Luthi, A., Veinante, P., Aertsen, A., Barrot, M., Zhuo, M., & Yalcin, I. (2018). Hyperactivity of Anterior Cingulate Cortex Areas 24a/24b Drives Chronic Pain-Induced Anxiodepressive-like Consequences. *The Journal of Neuroscience*, 38(12), 3102. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3195-17.2018>
- Seltzer, Z., Dubner, R., & Shir, Y. (1990). A novel behavioral model of neuropathic pain disorders produced in rats by partial sciatic nerve injury. *Pain*, 43(2), 205–218. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(90\)91074-S](https://doi.org/10.1016/0304-3959(90)91074-S)
- Seminowicz, D. A., Laferriere, A. L., Millicamps, M., Yu, J. S. C., Coderre, T. J., & Bushnell, M. C. (2009). MRI structural brain changes associated with sensory and emotional function in a rat model of long-term neuropathic pain. *NeuroImage*, 47(3), 1007–1014. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROIMAGE.2009.05.068>
- Sequeira-Cordero, A., Salas-Bastos, A., Fornaguera, J., & Brenes, J. C. (2019). Behavioural characterisation of chronic unpredictable stress based on ethologically relevant paradigms in rats. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-019-53624-1>
- Seroogy, K., Ceccatelli, S., Schalling, M., Hökfelt, T., Frey, P., Walsh, J., Dockray, G., Brown, J., Buchan, A., & Goldstein, M. (1988). A subpopulation of dopaminergic neurons in rat ventral mesencephalon contains both neurotensin and cholecystokinin. *Brain Research*, 455(1), 88–98. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(88\)90117-5](https://doi.org/10.1016/0006-8993(88)90117-5)
- Setiawan, E., Wilson, A. A., Mizrahi, R., Rusjan, P. M., Miler, L., Rajkowska, G., Suridjan, I., Kennedy, J. L., Rekkas, P. V., Houle, S., & Meyer, J. H. (2015). Role of translocator protein density, a marker of neuroinflammation, in the brain during major depressive episodes. *JAMA Psychiatry*, 72(3), 268–275. <https://doi.org/10.1001/JAMAPSYCHIATRY.2014.2427>
- Shabel, S. J., Proulx, C. D., Piriz, J., & Malinow, R. (2014). Mood regulation. GABA/glutamate co-release controls habenula output and is modified by antidepressant treatment. *Science (New York, N.Y.)*, 345(6203), 1494–1498. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1250469>
- Shah, N. H., & Aizenman, E. (2014). Voltage-gated potassium channels at the crossroads of neuronal function, ischemic tolerance, and neurodegeneration. *Translational Stroke Research*, 5(1), 38–58. <https://doi.org/10.1007/S12975-013-0297-7>
- Sharpey-Schäfer, E. A. (1900). *Text-book of Physiology (Issue vol. 2)*. Y. J. Pentland. <https://books.google.fr/books?id=pb8RAAAAYAAJ>

- Shen, W., Flajolet, M., Greengard, P., & Surmeier, D. J. (2008). Dichotomous dopaminergic control of striatal synaptic plasticity. *Science (New York, N.Y.)*, 321(5890), 848–851. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1160575>
- Shepherd, J. K., Grewal, S. S., Fletcher, A., Bill, D. J., & Dourish, C. T. (1994). Behavioural and pharmacological characterisation of the elevated “zero-maze” as an animal model of anxiety. *Psychopharmacology*, 116(1), 56–64. <https://doi.org/10.1007/BF02244871>
- Shiflett, M. W., & Balleine, B. W. (2010). At the limbic-motor interface: disconnection of basolateral amygdala from nucleus accumbens core and shell reveals dissociable components of incentive motivation. *The European Journal of Neuroscience*, 32(10), 1735–1743. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2010.07439.X>
- Shirayama, Y., & Chaki, S. (2006). Neurochemistry of the nucleus accumbens and its relevance to depression and antidepressant action in rodents. *Current Neuropharmacology*, 4(4), 277–291. <https://doi.org/10.2174/157015906778520773>
- Siahposht-Khachaki, A., Nazari-Serenjeh, F., Rezaee, L., Haghighparast, A., Rashvand, M., & Haghighparast, A. (2021). Dopaminergic receptors in the ventral tegmental area modulated the lateral hypothalamic stimulation-induced antinociception in an animal model of tonic pain. *Neuroscience Letters*, 751. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2021.135827>
- Sickmann, H. M., Arentzen, T. S., Dyrby, T. B., Plath, N., & Kristensen, M. P. (2015). Prenatal stress produces sex-specific changes in depression-like behavior in rats: implications for increased vulnerability in females. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease*, 6(5), 462–474. <https://doi.org/10.1017/S2040174415001282>
- Siddall, P. J., McClelland, J. M., Rutkowski, S. B., & Cousins, M. J. (2003). A longitudinal study of the prevalence and characteristics of pain in the first 5 years following spinal cord injury. *Pain*, 103(3), 249–257. [https://doi.org/10.1016/S0304-3959\(02\)00452-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3959(02)00452-9)
- Siddall, P., Ling Xu, C., & Cousins, M. (1995). Allodynia following traumatic spinal cord injury in the rat. *Neuroreport*, 6(9), 1241–1244. <https://doi.org/10.1097/00001756-199506090-00003>
- Sieberg, C. B., Taras, C., Gomaa, A., Nickerson, C., Wong, C., Ward, C., Baskozos, G., Bennett, D. L. H., Ramirez, J. D., Themistocleous, A. C., Rice, A. S. C., Shillo, P. R., Tesfaye, S., Edwards, R. R., Andrews, N. A., Berde, C., & Costigan, M. (2018). Neuropathic pain drives anxiety behavior in mice, results consistent with anxiety levels in diabetic neuropathy patients. *Pain Reports*, 3(3). <https://doi.org/10.1097/PR9.0000000000000651>
- Smeets, W. J. A. J., & González, A. (2000). Catecholamine systems in the brain of vertebrates: New perspectives through a comparative approach. *Brain Research Reviews*, 33(2–3), 308–379. [https://doi.org/10.1016/S0165-0173\(00\)00034-5](https://doi.org/10.1016/S0165-0173(00)00034-5)
- Smith, D. J., Escott-Price, V., Davies, G., Bailey, M. E. S., Colodro-Conde, L., Ward, J., Vedernikov, A., Marioni, R., Cullen, B., Lyall, D., Hagenaaars, S. P., Liewald, D. C. M., Luciano, M., Gale, C. R., Ritchie, S. J., Hayward, C., Nicholl, B., Bulik-Sullivan, B., Adams, M., ... O'Donovan, M. C. (2016). Genome-wide analysis of over 106 000 individuals identifies 9 neuroticism-associated loci. *Molecular Psychiatry*, 21(6), 749–757. <https://doi.org/10.1038/MP.2016.49>
- Sophie, M., & Ford, B. (2012). Management of pain in Parkinson's disease. *CNS Drugs*, 26(11), 937–948. <https://doi.org/10.1007/S40263-012-0005-2>
- Sotocinal, S. G., Sorge, R. E., Zaloum, A., Tuttle, A. H., Martin, L. J., Wieskopf, J. S., Mapplebeck, J. C. S., Wei, P., Zhan, S., Zhang, S., McDougall, J. J., King, O. D., & Mogil, J. S. (2011). The Rat Grimace Scale: a partially automated method for quantifying pain in the laboratory rat via facial expressions. *Molecular Pain*, 7. <https://doi.org/10.1186/1744-8069-7-55>
- Sotres-Bayón, F., Torres-López, E., López-vila, A., del ngel, R., & Pellicer, F. (2001). Lesion and electrical stimulation of the ventral tegmental area modify persistent nociceptive behavior in the rat. *Brain Research*, 898(2), 342–349. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(01\)02213-2](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(01)02213-2)
- Spijker, J., De Graaf, R., Bijl, R. V., Beekman, A. T. F., Ormel, J., & Nolen, W. A. (2002). Duration of major depressive episodes in the general population: results from The Netherlands Mental Health Survey and Incidence Study (NEMESIS). *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 181(SEPT.), 208–213. <https://doi.org/10.1192/BJP.181.3.208>
- St. Onge, J. R., Ahn, S., Phillips, A. G., & Floresco, S. B. (2012). Dynamic Fluctuations in Dopamine Efflux in the Prefrontal Cortex and Nucleus Accumbens during Risk-Based Decision Making. *The Journal of Neuroscience*, 32(47), 16880. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3807-12.2012>
- Steeds, C. E. (2016). The anatomy and physiology of pain. *Surgery (Oxford)*, 34(2), 55–59. <https://doi.org/10.1016/J.MPSUR.2015.11.005>
- Steiner, J., Bielau, H., Brisch, R., Danos, P., Ullrich, O., Mawrin, C., Bernstein, H. G., & Bogerts, B. (2008). Immunological aspects in the neurobiology of suicide: elevated microglial density in schizophrenia and depression is associated with suicide. *Journal of Psychiatric Research*, 42(2), 151–157. <https://doi.org/10.1016/J.JPSYCHIRES.2006.10.013>
- Stephenson-Jones, M., Floros, O., Robertson, B., & Grillner, S. (2012). Evolutionary conservation of the habenular nuclei and their circuitry controlling the dopamine and 5-hydroxytryptophan (5-HT) systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(3). <https://doi.org/10.1073/PNAS.1119348109>
- Stratford, T. R., & Kelley, A. E. (1999). Evidence of a functional relationship between the nucleus accumbens shell and lateral hypothalamus subserving the control of feeding behavior. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 19(24), 11040–11048. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.19-24-11040.1999>
- Stratinaki, M., Varidaki, A., Mitsi, V., Ghose, S., Magida, J., Dias, C., Russo, S. J., Vialou, V., Caldarone, B. J., Tamminga, C. A., Nestler, E. J., & Zachariou, V. (2013). Regulator of G protein signaling is a crucial modulator of antidepressant drug action in depression and neuropathic pain models. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(20), 8254–8259. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1214696110/-/DCSUPPLEMENTAL/PNAS.201214696SI.PDF>

- Strekalova, T., Spanagel, R., Bartsch, D., Henn, F. A., & Gass, P. (2004). Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(11), 2007–2017. <https://doi.org/10.1038/SJ.NPP.1300532>
- Stuber, G. D., Hnasko, T. S., Britt, J. P., Edwards, R. H., & Bonci, A. (2010). Dopaminergic terminals in the nucleus accumbens but not the dorsal striatum corelease glutamate. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 30(24), 8229–8233. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1754-10.2010>
- Subedi, B., & Grossberg, G. T. (2011). Phantom limb pain: mechanisms and treatment approaches. *Pain Research and Treatment*, 2011. <https://doi.org/10.1155/2011/864605>
- Sublette, M. E., Galfalvy, H. C., Fuchs, D., Lapidus, M., Grunebaum, M. F., Oquendo, M. A., John Mann, J., & Postolache, T. T. (2011). Plasma kynurenine levels are elevated in suicide attempters with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 25(6), 1272–1278. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2011.05.002>
- Sufka, K. J. (1994). Conditioned place preference paradigm: a novel approach for analgesic drug assessment against chronic pain. *Pain*, 58(3), 355–366. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90130-9](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90130-9)
- Sugam, J. A., Day, J. J., Wightman, R. M., & Carelli, R. M. (2012). Phasic nucleus accumbens dopamine encodes risk-based decision-making behavior. *Biological Psychiatry*, 71(3), 199–205. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2011.09.029>
- Sun, T., Wang, J., Li, X., Li, Y. J., Feng, D., Shi, W. L., Zhao, M. G., Wang, J. B., & Wu, Y. M. (2016). Gastrodin relieved complete Freund's adjuvant-induced spontaneous pain by inhibiting inflammatory response. *International Immunopharmacology*, 41, 66–73. <https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2016.10.020>
- Suzuki, T., Amata, M., Sakaue, G., Nishimura, S., Inoue, T., Shibata, M., & Mashimo, T. (2007). Experimental neuropathy in mice is associated with delayed behavioral changes related to anxiety and depression. *Anesthesia and Analgesia*, 104(6), 1570–1577. <https://doi.org/10.1213/01.ANE.0000261514.19946.66>
- Svendsen, K. B., Jensen, T. S., Overvad, K., Hansen, H. J., Koch-Henriksen, N., & Bach, F. W. (2003). Pain in patients with multiple sclerosis: a population-based study. *Archives of Neurology*, 60(8), 1089–1094. <https://doi.org/10.1001/ARCHNEUR.60.8.1089>
- Swanson, L. W. (1982). The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Research Bulletin*, 9(1–6), 321–353. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(82\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0361-9230(82)90145-9)
- Takahashi, D., Asaoka, Y., Kimura, K., Hara, R., Arakaki, S., Sakasai, K., Suzuki, H., Yamauchi, N., Nomura, H., Amano, T., & Minami, M. (2019). Tonic Suppression of the Mesolimbic Dopaminergic System by Enhanced Corticotropin-Releasing Factor Signaling Within the Bed Nucleus of the Stria Terminalis in Chronic Pain Model Rats. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 39(42), 8376–8385. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3047-18.2019>
- Takamori, K., Yoshida, S., & Okuyama, S. (2001). Repeated treatment with imipramine, fluvoxamine and tranylcypromine decreases the number of escape failures by activating dopaminergic systems in a rat learned helplessness test. *Life Sciences*, 69(16), 1919–1926. [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(01\)01279-6](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(01)01279-6)
- Tan, K. R., Yvon, C., Turiault, M., Mirzabekov, J. J., Doehner, J., Labouèbe, G., Deisseroth, K., Tye, K. M., & Lüscher, C. (2012). GABA neurons of the VTA drive conditioned place aversion. *Neuron*, 73(6), 1173–1183. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2012.02.015>
- Tanaka, K. F., & Hamaguchi, T. (2019). Translational approach to apathy-like behavior in mice: From the practical point of view. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 73(11), 685–689. <https://doi.org/10.1111/PCN.12915>
- Tang, D., Kang, R., Coyne, C. B., Zeh, H. J., & Lotze, M. T. (2012). PAMPs and DAMPs: signal 0s that spur autophagy and immunity. *Immunological Reviews*, 249(1), 158–175. <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2012.01146.x>
- Tanimoto, H., Heisenberg, M., & Gerber, B. (2004). Experimental psychology: event timing turns punishment to reward. *Nature*, 430(7003), 983. <https://doi.org/10.1038/430983A>
- Taylor, A. M. W., Murphy, N. P., Evans, C. J., & Cahill, C. M. (2014). Correlation between ventral striatal catecholamine content and nociceptive thresholds in neuropathic mice. *The Journal of Pain*, 15(8), 878–885. <https://doi.org/10.1016/J.JPAIN.2014.05.006>
- Taylor, S. R., Badurek, S., Dileone, R. J., Nashmi, R., Minichiello, L., & Picciotto, M. R. (2014). GABAergic and Glutamatergic Efferents of the Mouse Ventral Tegmental Area. *The Journal of Comparative Neurology*, 522(14), 3308. <https://doi.org/10.1002/CNE.23603>
- Tecuapetla, F., Patel, J. C., Xenias, H., English, D., Tadros, I., Shah, F., Berlin, J., Deisseroth, K., Rice, M. E., Tepper, J. M., & Koos, T. (2010). Glutamatergic Signaling by Mesolimbic Dopamine Neurons in the Nucleus Accumbens. *The Journal of Neuroscience*, 30(20), 7105. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0265-10.2010>
- Tepper, J. M., Martin, L. P., & Anderson, D. R. (1995). GABAA receptor-mediated inhibition of rat substantia nigra dopaminergic neurons by pars reticulata projection neurons. *Journal of Neuroscience*, 15(4), 3092–3103. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.15-04-03092.1995>
- Tesfaye, S., Vileikyte, L., Rayman, G., Sindrup, S. H., Perkins, B. A., Baconja, M., Vinik, A. I., & Boulton, A. J. M. (2011). Painful diabetic peripheral neuropathy: consensus recommendations on diagnosis, assessment and management. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 27(7), 629–638. <https://doi.org/10.1002/DMRR.1225>
- Thase, M. E., Friedman, E. S., Biggs, M. M., Wisniewski, S. R., Trivedi, M. H., Luther, J. F., Fava, M., Nierenberg, A. A., McGrath, P. J., Warden, D., Niederehe, G., Hollon, S. D., & Rush, A. J. (2007). Cognitive therapy versus medication in augmentation and switch strategies as second-step treatments: a STAR\*D report. *The American Journal of Psychiatry*, 164(5), 739–752. <https://doi.org/10.1176/AJP.2007.164.5.739>

- Thompson, S. J., Pitcher, M. H., Stone, L. S., Tarum, F., Niu, G., Chen, X., Kiesewetter, D. O., Schweinhardt, P., & Catherine Bushnell, M. (2018). Chronic neuropathic pain reduces opioid receptor availability with associated anhedonia in rat. *Pain*, 159(9), 1856–1866. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000001282>
- Tian, J., Tian, Z., Qin, S. I., Zhao, P. Y., Jiang, X., & Tian, Z. (2017). Anxiolytic-like effects of  $\alpha$ -asarone in a mouse model of chronic pain. *Metabolic Brain Disease*, 32(6), 2119–2129. <https://doi.org/10.1007/S11011-017-0108-Z>
- Tiplady, B., Crompton, G. K., & Brackenridge, D. (1995). Electronic diaries for asthma. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 310(6992), 1469. <https://doi.org/10.1136/BMJ.310.6992.1469>
- Tirabassi, R. S., Flanagan, J. F., Wu, T., Kislauskis, E. H., Birckbichler, P. J., & Guberski, D. L. (2004). The BBZDR/Wor rat model for investigating the complications of type 2 diabetes mellitus. *ILAR Journal*, 45(3), 292–302. <https://doi.org/10.1093/ILAR.45.3.292>
- Todd, A. J. (2010). Neuronal circuitry for pain processing in the dorsal horn. *Nature Reviews. Neuroscience*, 11(12), 823–836. <https://doi.org/10.1038/NRN2947>
- Tominaga, M., & Tominaga, T. (2005). Structure and function of TRPV1. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, 451(1), 143–150. <https://doi.org/10.1007/S00424-005-1457-8>
- Tong, Z.-Y., Overton, P. G., & Clark, D. (1996). Stimulation of the prefrontal cortex in the rat induces patterns of activity in midbrain dopaminergic neurons which resemble natural burst events. *Synapse*, 22(3), 195–208. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199603\)22:3<195::AID-SYN1>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199603)22:3<195::AID-SYN1>3.0.CO;2-7)
- Toth, M., Mikics, E., Tulogdi, A., Aliczki, M., & Haller, J. (2011). Post-weaning social isolation induces abnormal forms of aggression in conjunction with increased glucocorticoid and autonomic stress responses. *Hormones and Behavior*, 60(1), 28–36. <https://doi.org/10.1016/J.YHBEH.2011.02.003>
- Treede, R. D., Rief, W., Barke, A., Aziz, Q., Bennett, M. I., Benoliel, R., Cohen, M., Evers, S., Finnerup, N. B., First, M. B., Giambardino, M. A., Kaasa, S., Kosek, E., Lavand'homme, P., Nicholas, M., Perrot, S., Scholz, J., Schug, S., Smith, B. H., ... Wang, S. J. (2015). A classification of chronic pain for ICD-11. *Pain*, 156(6), 1003–1007. <https://doi.org/10.1097/J.PAIN.0000000000000160>
- Tritsch, N. X., Oh, W. J., Gu, C., & Sabatini, B. L. (2014). Midbrain dopamine neurons sustain inhibitory transmission using plasma membrane uptake of GABA, not synthesis. *eLife*, 2014(3). <https://doi.org/10.7554/ELIFE.01936>
- Tsai, C. (1925). The optic tracts and centers of the opossum. *Didelphis virginiana*. *Journal of Comparative Neurology*, 39(2), 173–216. <https://doi.org/10.1002/CNE.900390202>
- Tsai, Y. H., Yuan, R., Patel, D., Chandrasekaran, S., Weng, H. H., Yang, J. T., Lin, C. P., & Biswal, B. B. (2018). Altered structure and functional connection in patients with classical trigeminal neuralgia. *Human Brain Mapping*, 39(2), 609–621. <https://doi.org/10.1002/HBM.23696>
- Tsankova, N. M., Berton, O., Renthal, W., Kumar, A., Neve, R. L., & Nestler, E. J. (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nature Neuroscience*, 9(4), 519–525. <https://doi.org/10.1038/NN1659>
- Tye, K. M., Mirzabekov, J. J., Warden, M. R., Ferenczi, E. A., Tsai, H. C., Finkelstein, J., Kim, S. Y., Adhikari, A., Thompson, K. R., Andalman, A. S., Gunaydin, L. A., Witten, I. B., & Deisseroth, K. (2013). Dopamine neurons modulate neural encoding and expression of depression-related behaviour. *Nature*, 493(7433), 537–541. <https://doi.org/10.1038/NATURE11740>
- Uchimura, N., Cherubini, E., & North, R. A. (1989). Inward rectification in rat nucleus accumbens neurons. *Journal of Neurophysiology*, 62(6), 1280–1286. <https://doi.org/10.1152/JN.1989.62.6.1280>
- Ullsperger, M., & Von Cramon, D. Y. (2003). Error monitoring using external feedback: specific roles of the habenular complex, the reward system, and the cingulate motor area revealed by functional magnetic resonance imaging. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 23(10), 4308–4314. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-10-04308.2003>
- Ungless, M. A., Magill, P. J., & Bolam, J. P. (2004). Uniform inhibition of dopamine neurons in the ventral tegmental area by aversive stimuli. *Science (New York, N.Y.)*, 303(5666), 2040–2042. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1093360>
- Urban, R., Scherrer, G., Goulding, E. H., Tecott, L. H., & Basbaum, A. I. (2011). Behavioral indices of ongoing pain are largely unchanged in male mice with tissue or nerve injury-induced mechanical hypersensitivity. *Pain*, 152(5), 990–1000. <https://doi.org/10.1016/J.PAIN.2010.12.003>
- Van Bodegom, M., Homberg, J. R., & Henckens, M. J. A. G. (2017). Modulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis by Early Life Stress Exposure. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2017.00087>
- Van Zessen, R., Phillips, J. L., Budygin, E. A., & Stuber, G. D. (2012). Activation of VTA GABA neurons disrupts reward consumption. *Neuron*, 73(6), 1184–1194. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2012.02.016>
- Vergara, F., Sardi, N. F., Pescador, A. C., Guaita, G. O., Jark Stern, C. A., Chichorro, J. G., & Fischer, L. (2020). Contribution of mesolimbic dopamine and kappa opioid systems to the transition from acute to chronic pain. *Neuropharmacology*, 178. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2020.108226>
- Verma, S., Estanislao, L., & Simpson, D. (2005). HIV-associated neuropathic pain: epidemiology, pathophysiology and management. *CNS Drugs*, 19(4), 325–334. <https://doi.org/10.2165/00023210-200519040-00005>
- Vialou, V., Robison, A. J., Laplant, Q. C., Covington, H. E., Dietz, D. M., Ohnishi, Y. N., Mouzon, E., Rush, A. J., Watts, E. L., Wallace, D. L., Íguez, S. D., Ohnishi, Y. H., Steiner, M. A., Warren, B. L., Krishnan, V., Bolões, C. A., Neve, R. L., Ghose, S., Berton, O., ... Nestler, E. J. (2010). DeltaFosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. *Nature Neuroscience*, 13(6), 745–752. <https://doi.org/10.1038/NN.2551>

- Vollmayr, B., Bachteler, D., Vengeliene, V., Gass, P., Spanagel, R., & Henn, F. (2004). Rats with congenital learned helplessness respond less to sucrose but show no deficits in activity or learning. *Behavioural Brain Research*, 150(1–2), 217–221. [https://doi.org/10.1016/S0166-4328\(03\)00259-6](https://doi.org/10.1016/S0166-4328(03)00259-6)
- Von Korff, M., & Simon, G. (1996). The relationship between pain and depression. *The British Journal of Psychiatry. Supplement*, 30, 101–108.
- Vorhees, C. V., & Williams, M. T. (2006). Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. *Nature Protocols*, 1(2), 848. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2006.116>
- Vranken, J. (2009). Mechanisms and treatment of neuropathic pain. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry*, 9(1), 71–78. <https://doi.org/10.2174/187152409787601932>
- Wagner, F., Stroh, T., & Veh, R. W. (2014). Correlating habenular subnuclei in rat and mouse by using topographic, morphological, and cytochemical criteria. *The Journal of Comparative Neurology*, 522(11), 2650–2662. <https://doi.org/10.1002/CNE.23554>
- Wall, P. D., Devor, M., Inbal, R., Scadding, J. W., Schonfeld, D., Seltzer, Z., & Tomkiewicz, M. M. (1979). Autotomy following peripheral nerve lesions: experimental anaesthesia dolorosa. *Pain*, 7(2), 103–113. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(79\)90002-2](https://doi.org/10.1016/0304-3959(79)90002-2)
- Wallace, V. C. J., Norbury, T. A., & Rice, A. S. C. (2005). Ultrasound vocalisation by rodents does not correlate with behavioural measures of persistent pain. *European Journal of Pain (London, England)*, 9(4), 445. <https://doi.org/10.1016/J.EJPAIN.2004.10.006>
- Walsh, J. J., Friedman, A. K., Sun, H., Heller, E. A., Ku, S. M., Juarez, B., Burnham, V. L., Mazei-Robison, M. S., Ferguson, D., Golden, S. A., Koo, J. W., Chaudhury, D., Christoffel, D. J., Pomeranz, L., Friedman, J. M., Russo, S. J., Nestler, E. J., & Han, M. H. (2014). Stress and CRF gate neural activation of BDNF in the mesolimbic reward pathway. *Nature Neuroscience*, 17(1), 27–29. <https://doi.org/10.1038/NN.3591>
- Wang, C. C., & Shyu, B. C. (2004). Differential projections from the mediodorsal and centrolateral thalamic nuclei to the frontal cortex in rats. *Brain Research*, 995(2), 226–235. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2003.10.006>
- Wang, D. sheng, Tian, Z., Guo, Y. yan, Guo, H. liang, Kang, W. bo, Li, S., Den, Y. ting, Li, X. bo, Feng, B., Feng, D., Zhao, J. ning, Liu, G., & Zhao, M. gao. (2015). Anxiolytic-like effects of translocator protein (TSPO) ligand ZBD-2 in an animal model of chronic pain. *Molecular Pain*, 11(1). [https://doi.org/10.1186/S12990-015-0013-6/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1186\\_S12990-015-0013-6-FIG6.JPEG](https://doi.org/10.1186/S12990-015-0013-6/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1186_S12990-015-0013-6-FIG6.JPEG)
- Wang, G., & Thompson, S. M. (2008). Maladaptive homeostatic plasticity in a rodent model of central pain syndrome: thalamic hyperexcitability after spinothalamic tract lesions. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(46), 11959–11969. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3296-08.2008>
- Wang, H. R., Hu, S. W., Zhang, S., Song, Y., Wang, X. Y., Wang, L., Li, Y. Y., Yu, Y. M., Liu, H., Liu, D., Ding, H. L., & Cao, J. L. (2021). KCNQ Channels in the Mesolimbic Reward Circuit Regulate Nociception in Chronic Pain in Mice. *Neuroscience Bulletin*, 37(5), 597–610. <https://doi.org/10.1007/S12264-021-00668-X>
- Wang, N., Shen, X., Bao, S., Feng, S. W., Wang, W., Liu, Y., Wang, Y., Wang, X., Guo, X., Shen, R., Wu, H., Lei, L., Xu, S., & Wang, F. (2016). Dopaminergic inhibition by G9a/Glp complex on tyrosine hydroxylase in nerve injury-induced hypersensitivity. *Molecular Pain*, 12. <https://doi.org/10.1177/1744806916663731>
- Wang, W., Li, C., Cai, Y., & Pan, Z. Z. (2017). Pain vulnerability and DNA methyltransferase 3a involved in the affective dimension of chronic pain. *Molecular Pain*, 13. [https://doi.org/10.1177/1744806917726713/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177\\_1744806917726713-FIG6.JPEG](https://doi.org/10.1177/1744806917726713/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1744806917726713-FIG6.JPEG)
- Wang, X., Ma, S., Wu, H., Shen, X., Xu, S., Guo, X., Bolick, M. L., Wu, S., & Wang, F. (2018). Macrophage migration inhibitory factor mediates peripheral nerve injury-induced hypersensitivity by curbing dopaminergic descending inhibition. *Experimental & Molecular Medicine*, 50(2). <https://doi.org/10.1038/EMM.2017.271>
- Wang, X., Zhang, G., Jia, M., Xie, Z., Yang, J., Shen, J., & Zhou, Z. (2019). Environmental enrichment improves pain sensitivity, depression-like phenotype, and memory deficit in mice with neuropathic pain: role of NPAS4. *Psychopharmacology*, 236(7), 1999–2014. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-5187-6>
- Watabe-Uchida, M., Zhu, L., Ogawa, S. K., Vamanrao, A., & Uchida, N. (2012). Whole-brain mapping of direct inputs to midbrain dopamine neurons. *Neuron*, 74(5), 858–873. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2012.03.017>
- Watanabe, M., Narita, M., Hamada, Y., Yamashita, A., Tamura, H., Ikegami, D., Kondo, T., Shinzato, T., Shimizu, T., Fukuchi, Y., Muto, A., Okano, H., Yamanaka, A., Tawfik, V. L., Kuzumaki, N., Navratilova, E., Porreca, F., & Narita, M. (2018). Activation of ventral tegmental area dopaminergic neurons reverses pathological allodynia resulting from nerve injury or bone cancer. *Molecular Pain*, 14. <https://doi.org/10.1177/1744806918756406>
- Watanabe, S., Omran, A. Al, Shao, A. S., & Liang, J. (2022). Social Isolation Model: A Noninvasive Rodent Model of Stress and Anxiety. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 2022(189), e64567. <https://doi.org/10.3791/64567>
- Watson, B. D., Dietrich, W. D., Busto, R., Wachtel, M. S., & Ginsberg, M. D. (1985). Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. *Annals of Neurology*, 17(5), 497–504. <https://doi.org/10.1002/ANA.410170513>
- Weinstock, M. (2016). Prenatal stressors in rodents: Effects on behavior. *Neurobiology of Stress*, 6, 3–13. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2016.08.004>
- Weiss, I. C., Pryce, C. R., Jongen-Rêlo, A. L., Nanz-Bahr, N. I., & Feldon, J. (2004). Effect of social isolation on stress-related behavioural and neuroendocrine state in the rat. *Behavioural Brain Research*, 152(2), 279–295. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.015>
- Williams, W. O., Riskin, D. K., & Mott, K. M. (2008). Ultrasonic Sound as an Indicator of Acute Pain in Laboratory Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 47(1), 8. <https://doi.org/10.1016/j.jaalas.2008.01.001>

- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52(2), 90–110. <https://doi.org/10.1159/000087097>
- Willner, P. (2016). The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiology of Stress*, 6, 78–93. <https://doi.org/10.1016/J.YNSTR.2016.08.002>
- 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(3), 358–364. <https://doi.org/10.1007/BF00187257>
- Winter, C. A., Risley, E. A., & Nuss, G. W. (1962). Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.), 111(3), 544–547. <https://doi.org/10.3181/00379727-111-27849>
- Wirtshafter, D., Asin, K. E., & Pitzer, M. R. (1994). Dopamine agonists and stress produce different patterns of Fos-like immunoreactivity in the lateral habenula. *Brain Research*, 633(1–2), 21–26. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(94\)91517-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(94)91517-2)
- Wong, M. L., & Licinio, J. (2001). Research and treatment approaches to depression. *Nature Reviews. Neuroscience*, 2(5), 343–351. <https://doi.org/10.1038/35072566>
- Woo, H., Hong, C. J., Jung, S., Choe, S., & Yu, S. W. (2018). Chronic restraint stress induces hippocampal memory deficits by impairing insulin signaling. *Molecular Brain*, 11(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S13041-018-0381-8/FIGURES/6>
- Wook Koo, J., Labonté, B., Engmann, O., Calipari, E. S., Juarez, B., Lorsch, Z., Walsh, J. J., Friedman, A. K., Yorgason, J. T., Han, M. H., & Nestler, E. J. (2016). Essential Role of Mesolimbic Brain-Derived Neurotrophic Factor in Chronic Social Stress-Induced Depressive Behaviors. *Biological Psychiatry*, 80(6), 469–478. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2015.12.009>
- Woolf, C. J. (2010). What is this thing called pain? *The Journal of Clinical Investigation*, 120(11), 3742–3744. <https://doi.org/10.1172/JCI45178>
- Woolfe, G., & MacDonald, A. D. (1944). THE EVALUATION OF THE ANALGESIC ACTION OF PETHIDINE HYDROCHLORIDE (DEMEROL). *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 80(3).
- Wright-Williams, S., Flecknell, P. A., & Roughan, J. V. (2013). Comparative effects of vasectomy surgery and buprenorphine treatment on faecal corticosterone concentrations and behaviour assessed by manual and automated analysis methods in C57 and C3H mice. *PloS One*, 8(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0075948>
- Wu, J., Zhao, Z., Sabirzhanov, B., Stoica, B. A., Kumar, A., Luo, T., Skovira, J., & Faden, A. I. (2014). Spinal Cord Injury Causes Brain Inflammation Associated with Cognitive and Affective Changes: Role of Cell Cycle Pathways. *Journal of Neuroscience*, 34(33), 10989–11006. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5110-13.2014>
- Xie, Z.-M., Wang, X.-M., Xu, N., Wang, J., Pan, W., Tang, X.-H., Zhou, Z.-Q., Hashimoto, K., & Yang, J.-J. (2017). Alterations in the inflammatory cytokines and brain-derived neurotrophic factor contribute to depression-like phenotype after spared nerve injury: improvement by ketamine. *Scientific Reports*, 7(1), 3124. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03590-3>
- Xu, P., Wang, K., Lu, C., Dong, L., Chen, Y., Wang, Q., Shi, Z., Yang, Y., Chen, S., & Liu, X. (2017). Effects of the chronic restraint stress induced depression on reward-related learning in rats. *Behavioural Brain Research*, 321, 185–192. <https://doi.org/10.1016/J.BBR.2016.12.045>
- Yalcin, I., Bohren, Y., Waltisperger, E., Sage-Ciocca, D., Yin, J. C., Freund-Mercier, M. J., & Barrot, M. (2011). A time-dependent history of mood disorders in a murine model of neuropathic pain. *Biological Psychiatry*, 70(10), 946–953. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2011.07.017>
- Yalcin, I., Megat, S., Barthas, F., Waltisperger, E., Kremer, M., Salvat, E., & Barrot, M. (2014). The sciatic nerve cuffing model of neuropathic pain in mice. *Journal of Visualized Experiments*, 89. <https://doi.org/10.3791/51608>
- Yam, M. F., Loh, Y. C., Tan, C. S., Adam, S. K., Manan, N. A., & Basir, R. (2018). General Pathways of Pain Sensation and the Major Neurotransmitters Involved in Pain Regulation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(8). <https://doi.org/10.3390/IJMS19082164>
- Yamaguchi, T., Qi, J., Wang, H. L., Zhang, S., & Morales, M. (2015). Glutamatergic and dopaminergic neurons in the mouse ventral tegmental area. *The European Journal of Neuroscience*, 41(6), 760–772. <https://doi.org/10.1111/EJN.12818>
- Yamaguchi, T., Sheen, W., & Morales, M. (2007). Glutamatergic neurons are present in the rat ventral tegmental area. *The European Journal of Neuroscience*, 25(1), 106. <https://doi.org/10.1111/J.1460-9568.2006.05263.X>
- Yamaguchi, T., Wang, H. L., Li, X., Ng, T. H., & Morales, M. (2011). Mesocorticolimbic glutamatergic pathway. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 31(23), 8476–8490. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1598-11.2011>
- Yamamoto, S., & Seto, E. S. (2014). Dopamine Dynamics and Signaling in *Drosophila*: An Overview of Genes, Drugs and Behavioral Paradigms. *Experimental Animals*, 63(2), 107–119. <https://doi.org/10.1538/expanim.63.107>
- Yang, C., Fang, X., Zhan, G., Huang, N., Li, S., Bi, J., Jiang, R., Yang, L., Miao, L., Zhu, B., Luo, A., & Hashimoto, K. (2019). Key role of gut microbiota in anhedonia-like phenotype in rodents with neuropathic pain. *Translational Psychiatry* 2019 9:1, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0379-8>
- Yang, H., de Jong, J. W., Cerniauskas, I., Peck, J. R., Lim, B. K., Gong, H., Fields, H. L., & Lammel, S. (2021). Pain modulates dopamine neurons via a spino-parabrachio-mesencephalic circuit. *Nature Neuroscience*, 24(10), 1402. <https://doi.org/10.1038/S41593-021-00903-8>
- Yang, H., de Jong, J. W., Tak, Y. E., Peck, J., Bateup, H. S., & Lammel, S. (2018). Nucleus Accumbens Subnuclei Regulate Motivated Behavior via Direct Inhibition and Disinhibition of VTA Dopamine Subpopulations. *Neuron*, 97(2), 434–449.e4. <https://doi.org/10.1016/J.NEURON.2017.12.022>

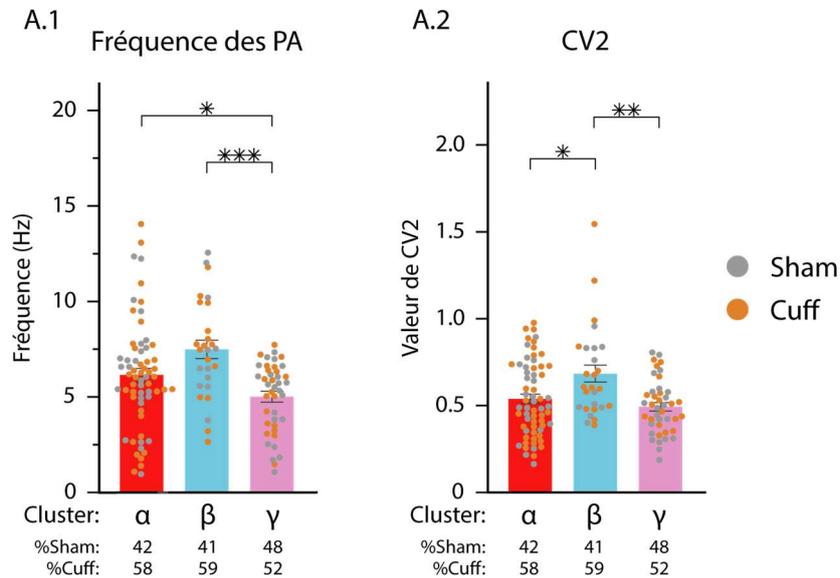
- Yang, H., Hurwitz, E. L., Li, J., de Luca, K., Tavares, P., Green, B., & Haldeman, S. (2023). Bidirectional Comorbid Associations between Back Pain and Major Depression in US Adults. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2023, Vol. 20, Page 4217, 20(5), 4217. <https://doi.org/10.3390/IJERPH20054217>
- Yang, M., Rainone, A., Shi, X. Q., Fournier, S., & Zhang, J. (2014). A new animal model of spontaneous autoimmune peripheral polyneuropathy: implications for Guillain-Barré syndrome. *Acta Neuropathologica Communications*, 2(1), 5. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-5>
- Yang, M., Silverman, J. L., & Crawley, J. N. (2011). Automated Three-Chambered Social Approach Task for Mice. *Current Protocols in Neuroscience* / Editorial Board, Jacqueline N. Crawley ... [et Al.], CHAPTER 8(SUPPL. 56), Unit. <https://doi.org/10.1002/0471142301.NS0826S56>
- Yang, Y., Cui, Y., Sang, K., Dong, Y., Ni, Z., Ma, S., & Hu, H. (2018). Ketamine blocks bursting in the lateral habenula to rapidly relieve depression. *Nature*, 554(7692), 317–322. <https://doi.org/10.1038/NATURE25509>
- Yankelevitch-Yahav, R., Franko, M., Huly, A., & Doron, R. (2015). The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 2015(97). <https://doi.org/10.3791/52587>
- Yen, C. T., Conley, M., Hendry, S. H. C., & Jones, E. G. (1985). The morphology of physiologically identified GABAergic neurons in the somatic sensory part of the thalamic reticular nucleus in the cat. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 5(8), 2254–2268. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.05-08-02254.1985>
- Yohn, C. N., Ashamalla, S. A., Bokka, L., Gergues, M. M., Garino, A., & Samuels, B. A. (2019). Social instability is an effective chronic stress paradigm for both male and female mice. *Neuropharmacology*, 160. <https://doi.org/10.1016/J.NEUROPHARM.2019.107780>
- Yoon, C., Young Wook, Y., Heung Sik, N., Sun Ho, K., & Jin Mo, C. (1994). Behavioral signs of ongoing pain and cold allodynia in a rat model of neuropathic pain. *Pain*, 59(3), 369–376. [https://doi.org/10.1016/0304-3959\(94\)90023-X](https://doi.org/10.1016/0304-3959(94)90023-X)
- Yorgason, J. T., Calipari, E. S., Ferris, M. J., Karkhanis, A. N., Fordahl, S. C., Weiner, J. L., & Jones, S. R. (2016). Social isolation rearing increases dopamine uptake and psychostimulant potency in the striatum. *Neuropharmacology*, 101, 471–479. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.10.025>
- Yoshida, K., Drew, M. R., Kono, A., Mimura, M., Takata, N., & Tanaka, K. F. (2021). Chronic social defeat stress impairs goal-directed behavior through dysregulation of ventral hippocampal activity in male mice. *Neuropsychopharmacology : Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 46(9), 1606–1616. <https://doi.org/10.1038/S41386-021-00990-Y>
- Yu, T., Guo, M., Garza, J., Rendon, S., Sun, X. L., Zhang, W., & Lu, X. Y. (2011). Cognitive and neural correlates of depression-like behaviour in socially defeated mice: an animal model of depression with cognitive dysfunction. *The International Journal of Neuropsychopharmacology / Official Scientific Journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum (CINP)*, 14(3), 303. <https://doi.org/10.1017/S1461145710000945>
- Yuan, J., Ge, H., Liu, W., Zhu, H., Chen, Y., Zhang, X., Yang, Y., Yin, Y., Chen, W., Wu, W., Yang, Y., & Lin, J. (2017). M2 microglia promotes neurogenesis and oligodendrogenesis from neural stem/progenitor cells via the PPAR $\gamma$  signaling pathway. *Oncotarget*, 8(12), 19855. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.15774>
- Yue, J., Wang, X. shang, Guo, Y. yan, Zheng, K. yin, Liu, H. yan, Hu, L. ning, Zhao, M. gao, & Liu, S. bing. (2018). Anxiolytic effect of CPEB1 knockdown on the amygdala of a mouse model of inflammatory pain. *Brain Research Bulletin*, 137, 156–165. <https://doi.org/10.1016/J.BRAINRESBULL.2017.12.002>
- Záborszky, L., Alheid, G. F., Beinfeld, M. C., Eiden, L. E., Heimer, L., & Palkovits, M. (1985). Cholecystokinin innervation of the ventral striatum: a morphological and radioimmunological study. *Neuroscience*, 14(2). [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(85\)90302-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(85)90302-1)
- Zahm, D. S. (2000). An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(1), 85–105. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(99\)00065-2](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(99)00065-2)
- Zahm, D. S., & Root, D. H. (2017). Review of the cytology and connections of the lateral habenula, an avatar of adaptive behaving. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 162, 3. <https://doi.org/10.1016/J.PBB.2017.06.004>
- Zahm, D. S., & Trimble, M. (2008). The dopaminergic projection system, basal forebrain macrosystems, and conditioned stimuli. *CNS Spectrums*, 13(1), 32–40. <https://doi.org/10.1017/S1092852900016138>
- Zangen, A., Ikemoto, S., Zadina, J. E., & Wise, R. A. (2002). Rewarding and psychomotor stimulant effects of endomorphin-1: anteroposterior differences within the ventral tegmental area and lack of effect in nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(16), 7225–7233. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-16-07225.2002>
- Zangen, A., Solinas, M., Ikemoto, S., Goldberg, S. R., & Wise, R. A. (2006). Two brain sites for cannabinoid reward. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 26(18), 4901–4907. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3554-05.2006>
- Zhang, G. F., Wang, J., Han, J. F., Guo, J., Xie, Z. M., Pan, W., Yang, J. J., & Sun, K. J. (2016). Acute single dose of ketamine relieves mechanical allodynia and consequent depression-like behaviors in a rat model. *Neuroscience Letters*, 631, 7–12. <https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2016.08.006>
- Zhang, H., Chaudhury, D., Nectow, A. R., Friedman, A. K., Zhang, S., Juarez, B., Liu, H., Pfau, M. L., Aleyasin, H., Jiang, C., Crumiller, M., Calipari, E. S., Ku, S. M., Morel, C., Tzavaras, N., Montgomery, S. E., He, M., Salton, S. R., Russo, S. J., ... Han, M. H. (2019).  $\alpha$ 1- and  $\beta$ 3-Adrenergic Receptor-Mediated Mesolimbic Homeostatic Plasticity Confers Resilience to Social Stress in Susceptible Mice. *Biological Psychiatry*, 85(3), 226–236. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.08.020>
- Zhang, H., Qian, Y. L., Li, C., Liu, D., Wang, L., Wang, X. Y., Liu, M. J., Liu, H., Zhang, S., Guo, X. Y., Yang, J. X., Ding, H. L., Koo, J. W., Mouzon, E., Deisseroth, K., Nestler, E. J., Zachariou, V., Han, M. H., & Cao, J. L. (2017). Brain-Derived Neurotrophic Factor in the Mesolimbic

- Reward Circuitry Mediates Nociception in Chronic Neuropathic Pain. *Biological Psychiatry*, 82(8), 608–618. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPSYCH.2017.02.1180>
- Zhang, L., Wang, J., Niu, C., Zhang, Y., Zhu, T., Huang, D., Ma, J., Sun, H., Gamper, N., Du, X., & Zhang, H. (2021). Activation of parabrachial nucleus - ventral tegmental area pathway underlies the comorbid depression in chronic neuropathic pain in mice. *Cell Reports*, 37(5). <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2021.109936>
- Zhang, S., & Li, C. S. R. (2018). Ventral striatal dysfunction in cocaine dependence - difference mapping for subregional resting state functional connectivity. *Translational Psychiatry*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/S41398-018-0164-0>
- Zhang, S., Qi, J., Li, X., Wang, H. L., Britt, J. P., Hoffman, A. F., Bonci, A., Lupica, C. R., & Morales, M. (2015). Dopaminergic and glutamatergic microdomains in a subset of rodent mesoaccumbens axons. *Nature Neuroscience*, 18(3), 386–396. <https://doi.org/10.1038/NN.3945>
- Zhang, W. W., Chen, T., Li, S. Y., Wang, X. Y., Liu, W. B., Wang, Y. Q., Mi, W. L., Mao-Ying, Q. L., Wang, Y. Q., & Chu, Y. X. (2023). Tachykinin receptor 3 in the lateral habenula alleviates pain and anxiety comorbidity in mice. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2023.1049739/FULL>
- Zhang, X. J., Zhang, T. W., Hu, S. J., & Xu, H. (2011). Behavioral assessments of the aversive quality of pain in animals. *Neuroscience Bulletin*, 27(1), 61. <https://doi.org/10.1007/S12264-011-1035-3>
- Zhang, X. M., Wang, L. Z., He, B., Xiang, Y. K., Fan, L. X., Wang, Q., & Tao, L. (2019). The gap junction inhibitor INI-0602 attenuates mechanical allodynia and depression-like behaviors induced by spared nerve injury in rats. *NeuroReport*, 30(5), 369–377. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000001209>
- Zhang, Z. J., Jiang, B. C., & Gao, Y. J. (2017). Chemokines in neuron–glial cell interaction and pathogenesis of neuropathic pain. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2017 74:18, 74(18), 3275–3291. <https://doi.org/10.1007/S00018-017-2513-1>
- Zheng, L. S., Hitoshi, S., Kaneko, N., Takao, K., Miyakawa, T., Tanaka, Y., Xia, H., Kalinke, U., Kudo, K., Kanba, S., Ikenaka, K., & Sawamoto, K. (2014). Mechanisms for interferon- $\alpha$ -induced depression and neural stem cell dysfunction. *Stem Cell Reports*, 3(1), 73–84. <https://doi.org/10.1016/J.STEMCR.2014.05.015>
- Zheng, Y., Fan, W., Zhang, X., & Dong, E. (2016). Gestational stress induces depressive-like and anxiety-like phenotypes through epigenetic regulation of BDNF expression in offspring hippocampus. *Epigenetics*, 11(2), 150–162. <https://doi.org/10.1080/15592294.2016.1146850>
- Zhong, P., Vickstrom, C. R., Liu, X., Hu, Y., Yu, L., Yu, H. G., & Liu, Q. S. (2018). HCN2 channels in the ventral tegmental area regulate behavioral responses to chronic stress. *ELife*, 7. <https://doi.org/10.7554/ELIFE.32420>
- Zhou, W., Dantzer, R., Budac, D. P., Walker, A. K., Mao-Ying, Q. L., Lee, A. W., Heijnen, C. J., & Kavelaars, A. (2015). Peripheral indoleamine 2,3-dioxygenase 1 is required for comorbid depression-like behavior but does not contribute to neuropathic pain in mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 46, 147–153. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2015.01.013>
- Zhou, W. L., Kim, K., Ali, F., Pittenger, S. T., Calarco, C. A., Mineur, Y. S., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Kwan, A. C., & Picciotto, M. R. (2022). Activity of a direct VTA to ventral pallidum GABA pathway encodes unconditioned reward value and sustains motivation for reward. *Science Advances*, 8(42). <https://doi.org/10.1126/SCIADV.ABM5217>
- Zhuang, Z. F., Wu, H. Y., Song, Y. Y., Li, L., Cui, X., Yang, J., Xu, X. Q., & Cui, W. Q. (2022). N-Methyl D-aspartate receptor subtype 2B/Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II signaling in the lateral habenula regulates orofacial allodynia and anxiety-like behaviors in a mouse model of trigeminal neuralgia. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 16, 981190. <https://doi.org/10.3389/FNCEL.2022.981190/BIBTEX>
- Ziółkowska, B. (2021). The Role of Mesostriatal Dopamine System and Corticostriatal Glutamatergic Transmission in Chronic Pain. *Brain Sciences*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/BRAINSCI11101311>
- Zweifel, L. S., Fadok, J. P., Argilli, E., Garelick, M. G., Jones, G. L., Dickerson, T. M. K., Allen, J. M., Mizumori, S. J. Y., Bonci, A., & Palmiter, R. D. (2011). Activation of dopamine neurons is critical for aversive conditioning and prevention of generalized anxiety. *Nature Neuroscience*, 14(5), 620–628. <https://doi.org/10.1038/NN.2808>

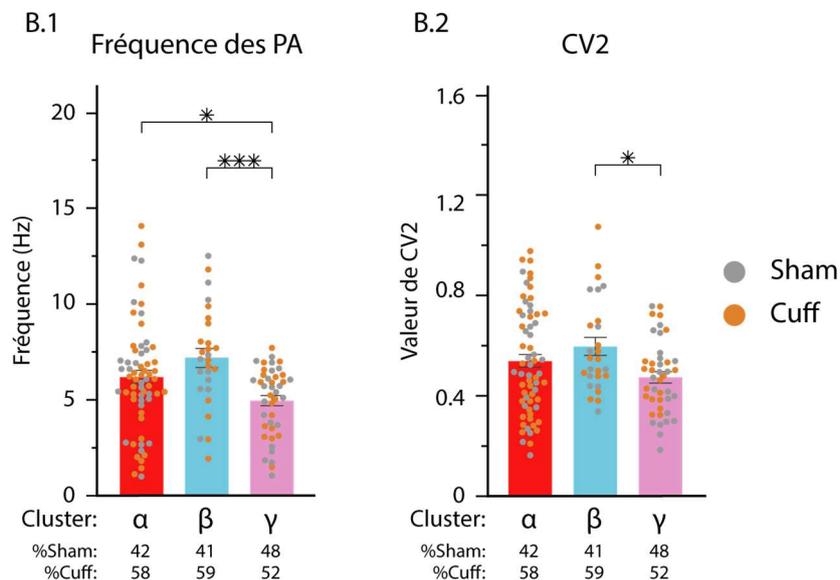
## Annexes

### Supplément : Analyses des paramètres électrophysiologiques des clusters identifiés par la PCA1

#### A Activité totale

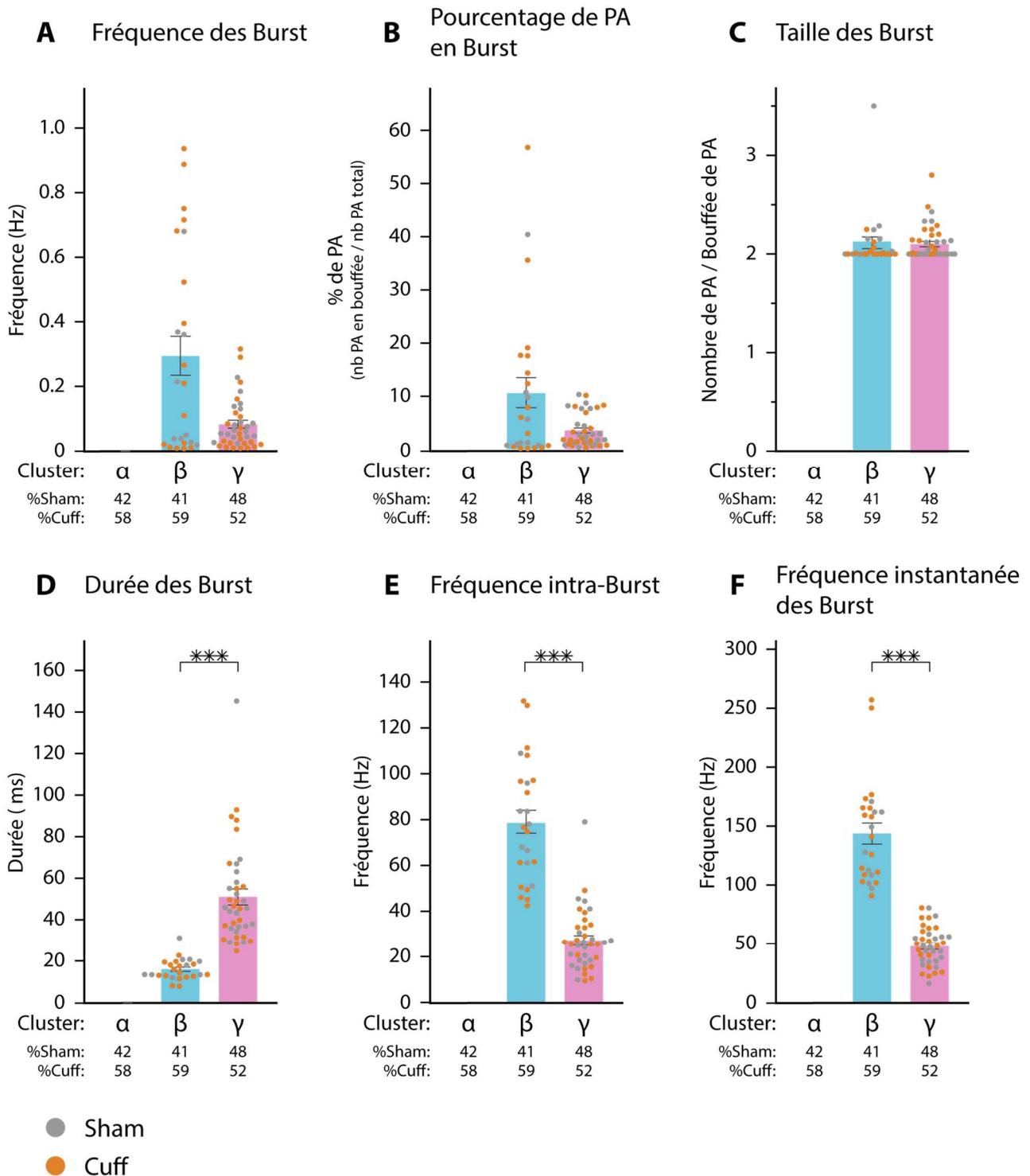


#### B Activité tonique réelle



#### Supplément 1. Activité totale et tonique réelle des clusters de neurones DA de la VTA (PCA1).

**A) Activité totale des clusters de neurones. A.1)** La fréquence des PA des neurones du cluster  $\gamma$  est plus basse que celles des neurones des deux autres clusters. **A.2)** Les neurones du cluster  $\beta$  sont moins réguliers (CV2 plus élevé) que les neurones des deux autres clusters. **B) Activité tonique réelle des clusters de neurones. B.1)** Les résultats statistiques concernant la fréquence des PA sont similaires à ceux de l'activité totale. La fréquence des PA des neurones du cluster  $\gamma$  est plus basse que celles des neurones des deux autres clusters. **B.2)** Les neurones du cluster  $\beta$  sont moins réguliers (CV2 plus élevé) que ceux du cluster  $\gamma$ . (\*\*\*)  $p < 0,05$  ; (\*\*)  $p < 0,01$  ; (\*\*\*)  $p < 0,001$ .



**Supplément 2. Paramètres de l'activité phasique des clusters de neurones DA de la VTA (PCA1).**

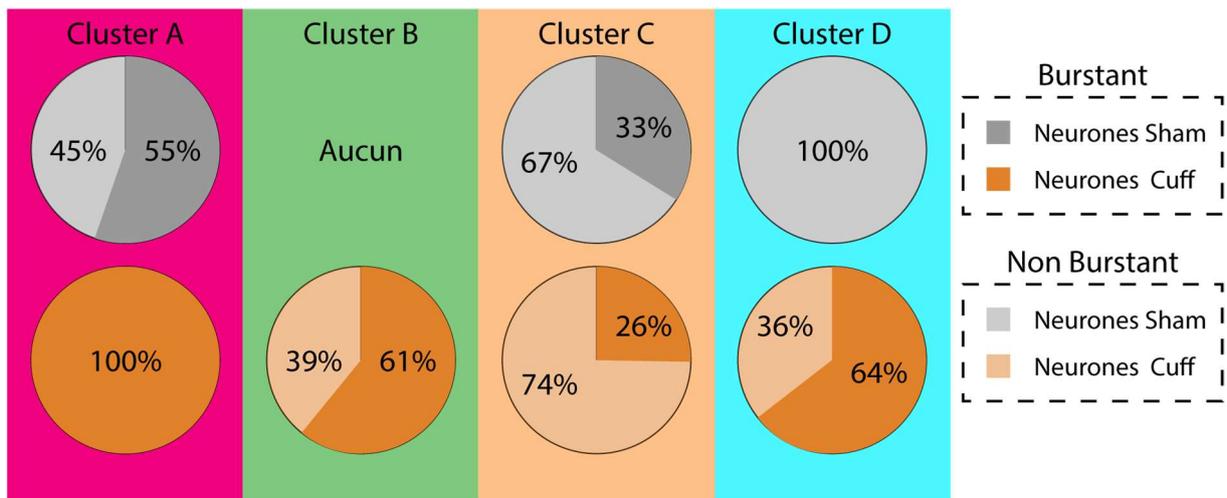
Le cluster  $\alpha$  ne comprend pas de neurones en burst. **A, B, C** Aucune différence significative n'est observée entre les clusters  $\beta$  et  $\gamma$  concernant la fréquence des burst (**A**), le pourcentage de PA en burst (**B**) et la taille des burst (**C**). **D, E, F** Les neurones du cluster  $\beta$  ont une durée de burst plus courte que celle des neurones du cluster  $\gamma$  et une fréquence intra-Burst (**E**) et instantanée des burst (**F**) supérieures à celles des neurones du cluster  $\gamma$ . (\*\*\*)  $p < 0.001$ .

### Activité totale et tonique réelle des sous-populations de neurones DA de la VTA en fonction des clusters de la PCA1

L'analyse PCA des paramètres électrophysiologiques révèle la présence de 3 clusters de neurones. La fréquence des PA de l'activité totale est significativement différente entre ces clusters ( $F_{(2,130)} = 8,01, p = 5,22 \times 10^{-4}$ ) (**Fig.1supp A.1**). Les neurones du cluster  $\gamma$  ont une fréquence de PA moyenne ( $5,08 \pm 0,28$  Hz) significativement plus basse que ceux des clusters  $\alpha$  ( $6,15 \pm 0,36$  Hz, *post-hoc*  $< 0,05$ ) et  $\beta$  ( $7,49 \pm 0,5$  Hz, *post-hoc*  $< 0,001$ ). Les clusters présentent également des différences de régularité d'activité totale, quantifiée grâce au CV2 ( $F_{(2,130)} = 6,9, p = 1,31 \times 10^{-3}$ ) (**Fig.1supp A.2**) pour lequel les neurones du cluster  $\beta$  ( $0,68 \pm 0,05$ ) ont une valeur de CV2 plus élevée que ceux des cluster  $\alpha$  ( $0,59 \pm 0,03$ , *post-hoc*  $< 0,05$ ) et  $\gamma$  ( $0,49 \pm 0,02$ , *post-hoc*  $< 0,01$ ). De manière attendue, ces différences se retrouvent dans l'activité tonique réelle des neurones, que ce soit pour la fréquence des PA ( $F_{(2,130)} = 6,93, p = 1,387 \times 10^{-3}$ ) (**Fig.1supp B.1**) ou le CV2 ( $F_{(2,130)} = 3,55, p = 3,17 \times 10^{-2}$ ) (**Fig.1supp B.2**). Les neurones du cluster  $\gamma$  ( $4,93 \pm 0,026$  Hz) présentent une fréquence de décharge plus basse que ceux des cluster  $\alpha$  ( $6,15 \pm 0,36$  Hz, *post hoc*  $< 0,05$ ) et  $\beta$  ( $7,18 \pm 0,5$  Hz, *post hoc*  $< 0,001$ ). La valeur de CV2 réelle des neurones du cluster  $\beta$  ( $0,6 \pm 0,04$ ) est plus élevée que celle du cluster  $\gamma$  ( $0,47 \pm 0,02$ , *post hoc*  $< 0,05$ ), mais ne présente pas de différence avec le cluster  $\alpha$  ( $0,54 \pm 0,03$ ). Ces trois clusters de neurones présentent donc des propriétés électrophysiologiques de l'activité tonique différentes, et les neurones burstant de la VTA ne constituent pas un ensemble unique de neurones mais au moins deux populations distinctes autant par leur activité que par leur régularité.

### Activité phasique des sous-populations de neurones DA de la VTA en fonction des clusters de la PCA1

Nous avons ensuite caractérisé les propriétés de l'activité phasique des neurones des clusters  $\beta$  et  $\gamma$  (le cluster  $\alpha$  ne possédant pas de neurones « burstant ») (**Fig.2supp**). Les neurones du cluster  $\beta$  présentent une fréquence des burst ( $0,3 \pm 0,06$  Hz) sans différence significative avec ceux du cluster  $\gamma$  ( $0,09 \pm 0,01$  Hz) bien qu'une tendance soit observable (**Fig.2supp A**). De façon similaire, les neurones du cluster  $\beta$  présentent une tendance non significative à un pourcentage de PA en burst ( $10,58 \pm 2,9\%$ ) plus élevé que ceux du cluster  $\gamma$  ( $3,57 \pm 0,05\%$ ) (**Fig.2supp B**). La taille des burst est identique entre les deux clusters de neurones ( $\beta$  :  $2,11 \pm 0,06$  PA ;  $\gamma$  :  $2,11 \pm 0,03$  PA) (**Fig.1supp C**). De manière surprenante, la durée des burst est quant à elle plus faible pour les neurones du cluster  $\beta$  ( $15,950 \pm 1,014$  ms) que pour ceux du cluster  $\gamma$  ( $51,08 \pm 3,79$  ms, *mwu* = 1128,  $p = 5,82 \times 10^{-12}$ ) (**Fig.2supp D**). La fréquence intraburst est significativement plus élevée pour les neurones du cluster  $\beta$  ( $78,84 \pm 5,25$  Hz) que pour ceux du cluster  $\gamma$  ( $27,18 \pm 2,16$  Hz, *mwu* = 31,  $p = 4,58 \times 10^{-11}$ ) (**Fig.2supp E**), de même que la fréquence instantanée des burst (cluster  $\beta$  :  $143,75 \pm 8,67$  Hz, cluster  $\gamma$  :  $47,83 \pm 2,64$  Hz, *mwu* = 0,  $p = 3,29 \times 10^{-12}$ ) (**Fig.2supp F**). Les deux populations de neurones burstant présentent donc des caractéristiques de leur activité phasique distinctes, sous-tendant la présence de patrons d'activité spécifiques dans ces sous-populations.



**Supplément 3. Caractérisation des proportions de neurones burstant et non burstant par cluster.**  
 Pour chaque cluster la proportion de neurones burstant chez les animaux du groupes « Sham » et « Cuff » a été estimée. Aucune différence significative entre les proportions de neurones n'est observable dans chacun des clusters.

**Supplément Table.1 : Résultats des dosages des neurotransmetteurs par spectrométrie de masse**

VTA								
Neurotransmetteur	Méthode de dosage	Moyenne ± SEM (pmol/gr de protéine)		n Cuff	n Sham	Statistique		
		Cuff	Sham			test	Valeur du test	pval
DOPAC	dns	56,31±7,01	54,72±5,14	14	14	t-test	-0,183	0,856
Dopamine	dns	55,31±7,66	45,79±5,92	14	13	t-test	-0,972	0,340
Dopamine	q-taq	62,91±9,06	54,3±4,92	14	14	t-test	-0,835	0,412
HVA	dns	92,76±12,8	89,62±10,98	14	14	Mann-Whitney	101	0,909
Ratio DOPAC/Dopamine	dns	1,09±0,11	1,32±0,1	14	13	t-test	-1,553	0,133
Ratio HVA/Dopamine	dns	2,01±0,36	2,17±0,37	14	13	Man-Whitney	80	0,610
Ratio DOPAC/HVA	dns	0,66±0,08	0,71±0,09	14	14	t-test	-0,414	0,682
Ratio (DOPAC + HVA)/Dopamine	dns	3,1±0,41	3,49±0,41	14	13	Man Whitney	69	0,297
Gaba	q-taq	1,11E+03±0,07E+03	1,13E+03±0,06E+03	14	14	t-test	0,127	0,900
Glutamate	q-taq	1,09E+03±0,06E+03	0,98E+03±0,05E+03	14	14	t-test	-1,427	0,165
Noradrénaline	q-taq	66,36±6,07	58,04±3	14	14	t-test	-1,229	0,230
SHT	q-taq	41,56±4,11	36,26±3,5	14	14	Mann-Whitney	76	0,323
SHIAA	q-taq	202,11±11,99	201,39±13,56	14	14	t-test	-0,040	0,969
Ratio SHIAA/SHT	q-taq	5,51±0,59	6,07±0,6	14	14	t-test	-0,667	0,510

Nac								
Neurotransmetteur	Méthode de dosage	Moyenne ± SEM (pmol/gr de protéine)		n Cuff	n Sham	Statistique		
		Cuff	Sham			test	Valeur du test	pval
Dopamine	dns	425,69±36,8	454,35±64,15	14	14	Mann-Whitney	96	0,945
Dopamine	q-taq	462,97±39,28	512,85±72,33	14	14	Mann-Whitney	98	1,000
HVA	dns	141,96±9,62	158,8±17,59	14	14	t-test	0,840	0,409
Ratio DOPAC/Dopamine	dns	0,76±0,07	0,79±0,07	14	14	t-test	-0,358	0,723
Ratio HVA/Dopamine	dns	0,4±0,08	0,38±0,03	14	14	Man-Whitney	85	0,566
Ratio DOPAC/HVA	dns	2,39±0,3	2,21±0,18	14	14	t-test	0,504	0,618
Ratio (DOPAC + HVA)/Dopamine	dns	1,16±0,1	1,17±0,09	14	14	Man Whitney	97	0,982
Gaba	q-taq	1,11E+03±0,10E+03	1,08E+03±0,08E+03	14	14	Mann-Whitney	105	0,765
Glutamate	q-taq	0,99E+03±0,05E+03	1,04E+03±0,09E+03	14	14	t-test	0,568	0,575
Noradrénaline	q-taq	107,55±19,88	92,75±15,35	14	14	t-test	-0,589	0,561
SHT	q-taq	41,99±3,63	34,32±3,49	14	14	t-test	-1,522	0,140
SHIAA	q-taq	107,41±6,58	108,93±8,04	14	14	t-test	0,146	0,885
Ratio SHIAA/SHT	q-taq	2,78±0,25	3,37±0,25	14	14	t-test	-1,672	0,107

**Altérations de la voie**

**dopaminergique mésolimbique dans un modèle murin de  
dépression induite par la douleur chronique**

**Résumé**

La douleur neuropathique augmente considérablement le risque de développer un épisode dépressif caractérisé et de nombreuses études suggèrent l'implication du système dopaminergique (DA) mésolimbique, et en particulier de l'aire tegmentale ventrale (VTA), dans l'expression de cette comorbidité douleur-dépression. Cette thèse combine des approches comportementales, physiologiques et moléculaires afin d'étudier les altérations de ce système dans un modèle de souris exprimant la comorbidité douleur-dépression. Nous mettons notamment en évidence une sous-population de neurones DA de la VTA antérieure dont l'activité électrophysiologique est diminuée dans le modèle. L'étude de la dynamique de libération de la dopamine dans le noyau accumbens révèle des altérations lors de la mise en place des comportements de type dépressif. Dans l'ensemble ces données révèlent la complexité des altérations lors de la mise en place et de l'expression de la comorbidité douleur-dépression.

Mot-clés : aire tegmentale ventrale, noyau accumbens, douleur, dépression

**Résumé en anglais**

Neuropathic pain significantly increases the risk of developing a major depressive disorder, and several studies suggest the implication of the mesolimbic dopaminergic (DA) system and in particular the ventral tegmental area (VTA) in the expression of this pain-depression comorbidity. This thesis combines behavioral, physiological and molecular approaches to study alterations in this system in a mouse model of chronic pain induces depression. In particular, we highlight a decrease in the electrophysiological activity of a subpopulation of DA neurons in the anterior VTA. Moreover, the study of dopamine release dynamics in the nucleus accumbens reveals alterations during the onset of depressive-type behaviours. Taken together, these data reflect the complexity of alterations in the development and expression of pain-depression comorbidity.

Key word : ventral tegmentale area, nucleus accumbens, pain, depression