

JOSÉ FRANCIS DE OLIVEIRA

**Modulação da Plasticidade Sináptica por TREK-1 e 5HT_{1A} no Estresse Crônico
Pós-Natal**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Humana do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Fisiologia Humana

Orientador: Prof. Dr. Roberto De Pasquale

Versão corrigida

São Paulo

2020

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 e verba PROEX (Programa de Excelência Acadêmica).

A FAPESP, pelo fornecimento de bolsa de estudo a nível de doutorado e financiamento do projeto cujos resultados estão aqui expostos, tornando possível a realização do mesmo (Processo nº 2016/09116-0). Esse trabalho também utilizou materiais provenientes de recursos do Auxílio Regular FAPESP nº 2011/23874-0 que estava aprovado no laboratório pelo Prof. Dr. Roberto De Pasquale.

RESUMO

DE OLIVEIRA, J. F. **Modulação da Plasticidade Sináptica por TREK-1 e 5HT_{1A} no Estresse Crônico Pós-Natal**. [Tese de Doutorado (Fisiologia Humana)]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; 2020.

O estresse está relacionado a gênese de várias doenças, como ansiedade e depressão, sendo as mulheres mais suscetíveis ao desenvolvimento de depressão. Estresse durante o período da infância e adolescência pode levar a efeitos permanentes na idade adulta, relacionados ao desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas. O sistema serotoninérgico desempenha papel fundamental na modulação da resposta ao estresse, sendo o receptor serotoninérgico 5HT_{1A} um dos mais importantes na circuitaria cerebral da resposta ao estresse. A serotonina é um neurotransmissor importante na modulação da plasticidade sináptica, a qual é um evento neuronal importante que se encontra prejudicado na depressão, e este neurotransmissor pode atuar em canais de potássio na membrana e modificar a excitabilidade neuronal. Os canais de potássio do tipo TREK-1 têm sido relacionados com a etiologia de doenças relacionadas ao estresse, e camundongos nocaute para esses canais são resilientes à depressão. Nesse trabalho, se demonstra que o estresse pós-natal presente no modelo de Separação Materna (MS) induz comportamento depressivo-símile em ratos infantis, de maneira sexo-dependente, sendo as fêmeas mais vulneráveis à MS. Alterações correlacionadas na expressão de 5HT_{1A} e TREK-1 ocorrem no córtex entorrinal em machos infantis, e estão relacionadas com um fenótipo relativamente resiliente à depressão, enquanto alterações correlacionadas no giro denteado do hipocampo estão associadas a vulnerabilidade à depressão, em fêmeas infantis. A ativação de 5HT_{1A} no córtex pré-límbico é suficiente para induzir uma depressão sináptica de longo prazo (LTD), sendo esse efeito dependente da abertura de canais TREK-1. Porém, o bloqueio de TREK-1 também é suficiente para induzir LTD no PL através de um efeito pós-sináptico. A MS altera componentes de plasticidade sináptica associados ao bloqueio de TREK-1 no córtex pré-límbico, uma vez que animais MS apresentam também um componente pré-sináptico para essa LTD. Conclui-se que o estresse pós-natal induz maior vulnerabilidade neuropsiquiátrica em fêmeas, modificando a expressão de 5HT_{1A} e TREK-1 na circuitaria corticolímbica, resultando em plasticidade sináptica alterada no córtex pré-límbico e alterações de comportamento.

Palavras-chave: Serotonina. Estresse. 5HT_{1A}. Comportamento. TREK-1.

ABSTRACT

DE OLIVEIRA, J. F. **Synaptic Plasticity Modulation by TREK-1 and 5HT_{1A} in Postnatal Chronic Stress**. [PhD Thesis (Human Physiology)]. Sao Paulo: Biomedical Sciences Institute, Sao Paulo University; 2020.

Stress is associated to the etiology of several diseases, such as anxiety and depression, and women are more vulnerable to develop depression. Early-life stress, including adolescence, can lead to permanent effects at adulthood, related to neuropsychiatric illnesses development. The serotonergic system has a fundamental role in the stress response modulation, being the serotonergic receptor 5HT_{1A} one of the most important in the brain stress circuitry. Serotonin is a neurotransmitter important for synaptic plasticity, which is a key neuronal event impaired in depression, and this neurotransmitter can act on potassium channels in the membrane and alter neuronal excitability. TREK-1 potassium channels had been associated to stress related diseases, and knockout mice for these channels are depression resilient. This study demonstrated that early-life stress, present in the Maternal Separation (MS) model, is able to induce depressive-like behavior in infant rats, in a sex-dependent way, being females more vulnerable to MS. Correlated changes in 5HT_{1A} and TREK-1 expression occur in the entorhinal cortex in infant males, and are associated to a phenotype relatively resilient to depression, while correlated changes in the dentate gyrus of the hippocampus are associated to vulnerability to depression in infant females. 5HT_{1A} activation in the prelimbic cortex is sufficient to evoke a long-term synaptic depression (LTD), and this effect is dependent on the opening of TREK-1 channels. Nevertheless, TREK-1 blockage is also enough to elicit an LTD in the PL through a postsynaptic mechanism. MS alters the components of synaptic plasticity associated to this blockage, as MS animals also present a presynaptic component for this LTD. In conclusion, early-life stress produced by MS can induce increased neuropsychiatric vulnerability in females, modifying 5HT_{1A} and TREK-1 expression in the corticolimbic circuitry, resulting in altered synaptic plasticity in the prelimbic cortex and behavioral changes.

Keywords: Serotonin. Stress. 5HT_{1A}. Behavior. TREK-1.

1 INTRODUÇÃO

Situações que ameaçam a homeostase do organismo provocam alterações fisiológicas que devem resultar em alterações de comportamento, para a adaptação do organismo à alteração do ambiente. Essa resposta envolve múltiplos efetores e moduladores, e é denominada de *resposta ao estresse*, enquanto agentes que promovem distúrbios na homeostase podem ser chamados de *estressores*. O papel do sistema nervoso central na articulação dessa resposta é complexo e envolve várias redes neurais diferentes, bem como múltiplos neurotransmissores que interagem com hormônios e outras informações sensoriais, presentes durante a resposta ao estresse [1]. A prevalência de doenças e problemas de saúde relacionados ao estresse vem aumentando nas últimas décadas, tornando o estresse um tópico de estudo importante para a compreensão da fisiopatologia dessas doenças [2, 3].

O estresse tem sido apontado como fator etiológico de várias doenças, como ansiedade, depressão e doenças cardiovasculares [4, 5]. Devido a essa relação já demonstrada na literatura, tanto em estudos com humanos e com modelos animais, o estresse vem se tornando um tópico de estudo cada vez mais importante [2, 6, 7]. Algumas áreas cerebrais importantes no processamento da resposta de estresse são a amígdala, o hipocampo, o hipotálamo, os núcleos dorsais da rafe (DRN) e o córtex pré-frontal (PFC) [5, 8-10]. As ações dos mediadores liberados durante uma resposta ao estresse nessas áreas tem sido postuladas como responsáveis pelas alterações neurais vistas em estudos de estresse, e têm sido ligadas à fisiopatologia das doenças relacionadas ao estresse [2, 7, 11, 12].

1.1 O Período Perinatal e o Estresse

Durante o período perinatal, a exposição a experiências adversas pode afetar de forma duradoura o desenvolvimento cognitivo e emocional [13, 14]. Esse período é altamente sensível a vários fatores para o cérebro em desenvolvimento, tanto em humanos como em roedores. Em roedores, esse período começa imediatamente após o parto e termina com o desmame, que ocorre geralmente no dia pós-natal (PND) 21. De fato, o estresse pós-natal é considerado um agente etiológico de doenças neuropsiquiátricas pela psicologia há alguns anos, e estudos nas últimas décadas, com humanos e modelos animais, têm apresentado evidências de que a presença de estresse na infância está correlacionada com o

desenvolvimento de doenças neuropsiquiátricas no futuro [15, 16]. O papel do sistema nervoso central na articulação da resposta ao estresse pós-natal é complexo e envolve várias redes neurais diferentes [14].

Ao longo do desenvolvimento e do crescimento, o sistema nervoso é constantemente reprogramado para responder a potenciais estressores específicos de uma certa fase da vida [17, 18]. Assim, a resposta ao estresse no período pós-natal difere quali e quantitativamente das respostas observadas na fase pré-natal ou adulta, pelo fato de o sistema nervoso reagir seletivamente aos estímulos que são relevantes nesse período [19, 20]. A separação materna (MS) e a hipotermia são consideradas estressores típicos da fase pós-natal em modelos animais: durante as duas primeiras semanas de vida, os roedores mostram elevação nos níveis plasmáticos de corticosterona e catecolaminas em resposta a esses tipos de estressores [21-23], e que também podem promover efeitos permanentes, observados na vida adulta [24-27]. Assim, modelos animais que envolvem perturbar o comportamento materno são utilizados para o estudo da etiologia e fisiopatologia das doenças neuropsiquiátricas, tais como a depressão e a ansiedade [28]. No entanto, há poucos dados a respeito de animais no período compreendido entre o PND21 (quando acontece o desmame) e o PND35 (quando o roedor é considerado adolescente), o que corresponderia a infância humana [29], visto que a maioria dos estudos empregam animais já na idade adulta.

1.2 O Papel do PFC na Regulação da Resposta ao Estresse

Das áreas cerebrais mencionadas anteriormente, o PFC desempenha um papel crucial na regulação do comportamento, atuando como mediador entre as informações sensoriais, as emoções e a memória [30]. Esta região cerebral está envolvida no planejamento de comportamentos e pensamentos complexos, como a memória de trabalho e a expressão da personalidade [1]. A atividade dessa região determina pensamentos e ações que estão em acordo com metas internas, julgando e inibindo escolhas e estratégias inadequadas e tornando-se assim fundamental para a execução de tarefas que requerem concentração e atenção, e para os comportamentos de tomada de decisão (*decision making*) [31-34]. No entanto, essa habilidade do PFC não se desenvolve apenas seguindo uma programação genética prévia: ela também exige informações sobre o ambiente externo nos estágios iniciais da vida. Daí o fato das experiências ambientais orientarem o desenvolvimento neural e

levarem a alterações irreversíveis na formação de circuitos neurais, prejudicando o desenvolvimento das funções cognitivas associadas a essa área [35, 36]. Portanto, perturbações ambientais que afetem o PFC na infância apresentam a possibilidade de modular estratégias comportamentais no futuro, podendo gerar circuitos que impeçam o indivíduo de responder adequadamente a um ambiente em constante mudança, ou induzir respostas inadequadas frente a desafios ambientais na vida adulta.

O PFC compreende várias subdivisões que desempenham funções diferentes. As subdivisões do PFC mais envolvidas na regulação do humor e em funções cognitivas se encontram no córtex medial pré-frontal (mPFC), que compreende o córtex pré-límbico (PL) e o córtex infralímbico (IL), (**Figura 1**) sendo que essas duas sub-regiões parecem desempenhar papéis diferentes no controle do estresse. As fibras que partem do PL e IL tendem a possuir alvos distintos: as projeções do IL inervam extensivamente estruturas que participam do aumento da resposta ao estresse, como o núcleo anterior da estria terminal (NAST), a amígdala medial (MeA) e central (CeA), e o núcleo do trato solitário, enquanto as projeções do PL inervam áreas envolvidas na inibição da resposta ao estresse, tais como a área pré-óptica ventrolateral e o hipotálamo dorsomedial [37-39].

No PL, o córtex é organizado em camadas, sendo a camada I por onde chegam as fibras de projeções aferentes para o PL, que se conectam com a árvore dendrítica de neurônios piramidais excitatórios situados na camada V, os quais são responsáveis pela integração das respostas no PL e pela formação das projeções eferentes [40]. A camada IV é inexistente em roedores, e a camada II/III, logo abaixo da camada I, consiste principalmente de interneurônios inibitórios. O PL e IL possuem conexões anatômicas com outras duas áreas relevantes para a compreensão da resposta ao estresse: o córtex entorrinal (ERh), o qual se projeta para o giro denteado do hipocampo (GD), formando o circuito responsável pela formação de memórias atreladas ao sistema límbico; e a amígdala, em particular a amígdala basolateral (BLA), que integra informações sensoriais e está em constante comunicação com o PFC, sendo responsável pelo gerenciamento das emoções e sua contextualização [41-43]. A amígdala consiste em uma série de núcleos que operam em conjunto. No âmbito desse trabalho, o núcleo basolateral da amígdala (BLA) foi o ponto de interesse em relação a resposta ao estresse, visto que é nele que ocorre a plasticidade dependente de estímulos ambientais, e é nesse núcleo que a integração e associação de respostas emocionais e sensoriais acontece [44].

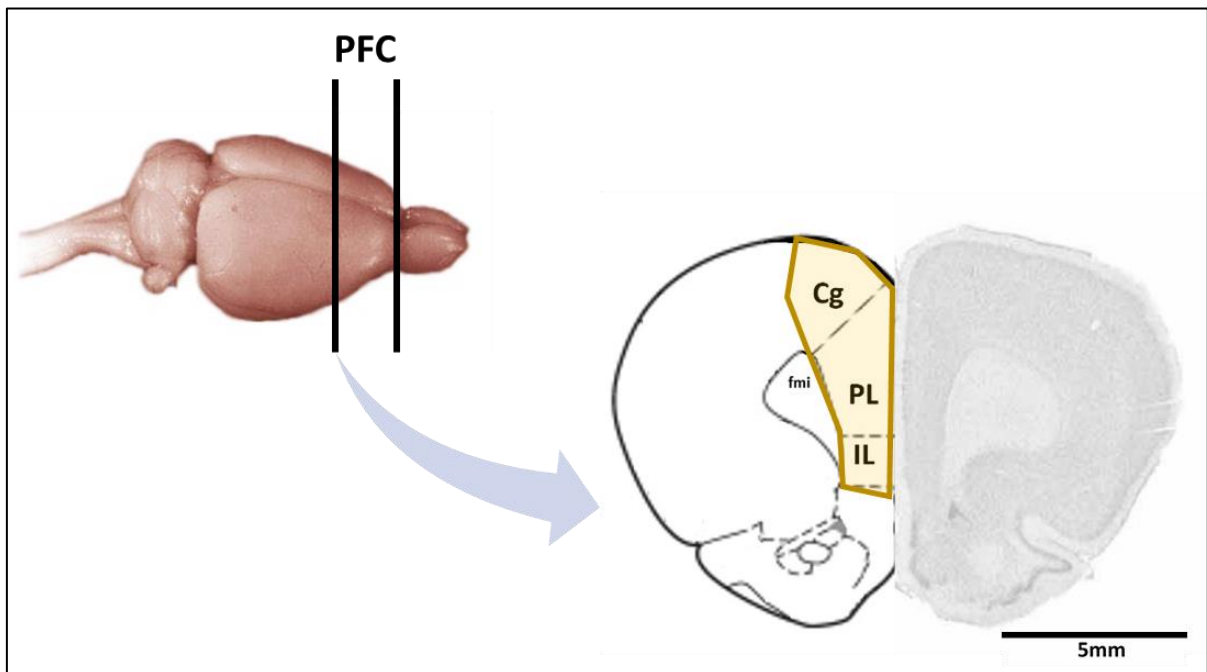


Figura 1. Anatomia do Córtex Pré-Frontal medial. A figura ilustra o local onde se deve realizar uma secção com o objetivo de isolar o córtex pré-frontal (PFC) das demais áreas cerebrais, em um cérebro de rato. Um corte coronal no primeiro traço ilustra a região chamada mPFC (córtex medial pré-frontal), demarcada na área colorida em amarelo, onde podem ser definidas as subdivisões: córtex pré-límbico (PL), córtex infralímbico (IL) e córtex cingulado (Cg). fmi = *fórceps minor*.

De acordo com achados anatômicos, alguns estudos indicaram que o PL poderia atuar como inibidor da resposta de estresse, enquanto o IL teria o papel contrário, ativando tais respostas. Apesar do NAST receber mais projeções do IL, o PL tem um controle inibitório sobre o núcleo paraventricular do hipotálamo (PVN) através do NAST: uma subpopulação de neurônios piramidais do PL inerva um grupo de neurônios do NAST que secretam como neurotransmissor o ácido γ -aminobutírico (GABA), que inibe o núcleo paraventricular (PVN) e, conseqüentemente, reduz a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) induzida pelo estresse [45]. Lesões no PL causam aumento da expressão de mRNA para *c-fos* no PVN, aumento da liberação do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e de secreção de corticosterona quando da exposição a situações estressoras [46-48]. Por outro lado, animais com lesões no IL do hemisfério direito apresentam diminuição de ACTH e corticosterona durante a resposta ao estresse, e atenuam a secreção de ACTH induzida pela injeção de interleucina-1 β [49, 50]. Isso sugere que o IL é o responsável por efetuar a resposta ao estresse, ao passo que o PL atua como um contensor dessa resposta.

1.3 Impacto do Estresse Pós-Natal na Plasticidade Sináptica no PFC

As consequências fisiológicas e moleculares da exposição pós-natal ao estresse envolvem alterações neurobiológicas no PFC e no hipocampo, as quais se correlacionam com alterações comportamentais que podem persistir até a idade adulta, sugerindo que os estímulos estressores no período pós-natal podem prejudicar a plasticidade sináptica durante o desenvolvimento [51]. No entanto, a maioria dos estudos que abordaram essa questão limitaram-se a observar unicamente no organismo adulto as consequências de um protocolo de estresse que foi aplicado no período pós-natal [22, 52-54]. Portanto, o que ocorre durante os períodos que compreendem o PND0 ao PND35 em resposta ao estresse ainda foi pouco investigado.

Para que a plasticidade sináptica ocorra, é necessária uma alteração na expressão de receptores glutamatérgicos ionotrópicos na membrana neuronal, permitindo uma maior ou menor despolarização do neurônio. Os receptores de glutamato podem ser divididos em dois tipos: receptores de ácido α -amino-3-hidroxi-metil-5-4-isoxazolpropiónico (AMPA), e receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) [55]. Ambos podem ser modulados através de vias de sinalização intracelular que envolvem a proteína quinase A (PKA), a cálcio-calmodulina quinase do tipo II (CaMKII) e a proteína quinase C (PKC), entre outras [56] (**Figura 2**). Há alguns estudos que investigaram o hipocampo, apontando que o estresse pós-natal causa diminuição da expressão de receptores que levam a excitação neuronal, tais como os receptores de NMDA, sugerindo uma redução da potenciação sináptica que poderia estar na base das alterações comportamentais provocadas pela exposição a estresse [57, 58]. Os mecanismos moleculares responsáveis por esses efeitos podem envolver alterações na expressão e/ou função de diversos receptores, bem como proteínas envolvidas nas vias de sinalização que interagem com esses receptores e canais iônicos relevantes para a excitabilidade neuronal. Duas formas clássicas de plasticidade sináptica são a potenciação sináptica de longo prazo (LTP), um fenômeno de plasticidade sináptica onde uma determinada sinapse apresenta uma resposta aumentada frente a um estímulo que antes promovia uma resposta de menor intensidade, e a depressão sináptica de longo prazo (LTD), onde ocorre o inverso. Ambas LTP e LTD permitem que as redes neuronais se reorganizem de acordo com a experiência.

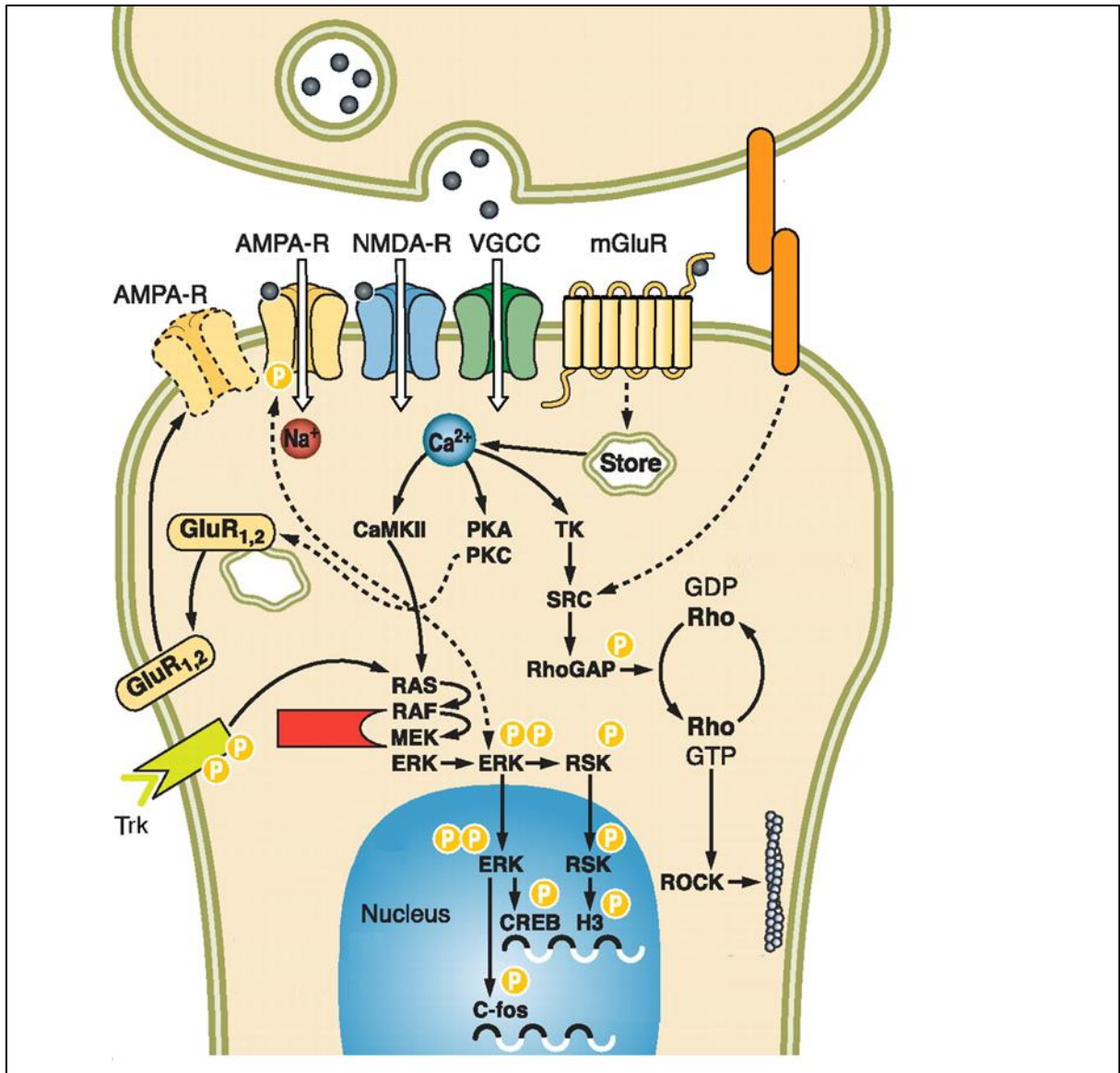


Figura 2. Modulação da Plasticidade Sináptica por diferentes vias de sinalização intracelular. Um dos principais sinais importantes para a indução de plasticidade é o cálcio intracelular, o qual por sua vez inicia a ativação de vias de sinalização pela CaMKII, PKA e PKC. Essas cinases também podem ser ativadas por receptores acoplados a proteína G. Além disso, outros mecanismos também podem desempenhar papéis importantes, como observado na figura a via da Rho GTPase e receptores Trk (Fonte: Pape, H. C. e D. Pare, 2010) [59].

Uma primeira indicação da relação entre plasticidade sináptica e estresse vem da observação de que as alterações comportamentais induzidas pelo estresse são frequentemente acompanhadas por alterações da transmissão excitatória neuronal. Especificamente, em animais adultos foi observado que as mudanças induzidas pela exposição repetida ao estresse causam deficiências nos mecanismos de plasticidade [51]. Tanto no hipocampo quanto no PFC, o estresse está associado a prejuízos na indução ou manutenção da LTP. No hipocampo, o estresse crônico é capaz de inibir a LTP, produzindo atrofia dendrítica e prejudicando a formação de novas conexões sinápticas [60-63]. Também foi observado que

a administração de glicocorticoides atenua a LTP, reproduzindo dessa forma os efeitos que o estresse provoca na plasticidade e sugerindo mecanismos dependentes de corticosteroides [63].

Ainda, no que se refere ao PFC, o PL parece ser particularmente influenciado pela exposição ao estresse. O estresse agudo potencializa as correntes sinápticas excitatórias dos receptores glutamatérgicos AMPA e NMDA no PL, e facilita os comportamentos que são mediados pelo PL [64]. No entanto, o estresse crônico diminui a densidade de espinhos dendríticos do PL, afetando negativamente a transmissão sináptica nessa área [45, 62, 65, 66], sugerindo um efeito temporal da resposta ao estresse sobre a plasticidade sináptica. O estresse crônico também modifica a morfologia dendrítica da subpopulação de neurônios do PL que inibem a resposta ao estresse estimulando os neurônios GABAérgicos (neurônios que liberam GABA) do NAST [67]. Nessa subpopulação de células, o estresse crônico causa uma substituição dos espinhos dendríticos do tipo *mushroom* por espinhos de tamanho menor, resultando numa redução de volume e superfície da árvore dendrítica [67]. Contudo, não foram observadas modificações nos espinhos dendríticos do IL após exposição a estresse agudo ou crônico [64], indicando que a modulação da resposta ao estresse aconteça através do PL, ou que o estresse cause um impacto mais significativo no PL comparado ao IL.

Alguns trabalhos chegaram a conclusões divergentes sobre esse tema, provavelmente por terem utilizado protocolos estressores diferentes e/ou por terem focado em sub-regiões diferentes do PFC. Um trabalho mostrou que o estresse repetido de contenção em um cilindro (2h/dia durante 5 dias) em ratos no PND15 reduziu a transmissão sináptica do PFC mediada por AMPA e NMDA [68]. O mesmo protocolo também prejudicou significativamente a memória de reconhecimento, um processo cognitivo controlado pelo PFC [68]. Mas outro estudo relatou que a Separação Materna (MS) (3h/dia durante PND3-21) induziu aumento da ramificação dendrítica, do comprimento e da densidade de espinhos na região 3 do cíngulo anterior (Cg3) dos animais infantes, testados no PND22 [69]. Ratos que passaram por MS (1h/dia durante PND5-7 ou durante PND14-16) mostraram um aumento no comprimento dendrítico em neurônios do córtex do cíngulo anterior, enquanto uma diminuição desse comprimento foi observada em ratos separados durante o PND1-3 [70]. Por fim, ainda outro trabalho demonstrou que a MS (2h/dia durante PND1-12) diminui o comprimento das árvores dendríticas dos neurônios da região 1 do cíngulo anterior (Cg1) e do PL [71]. Esse último achado é de particular relevância para a resposta ao estresse, considerando que os neurônios

do PL desempenham um papel importante na inibição do eixo HPA [45]. Esses achados significam que a perda dos espinhos dendríticos no PL, como consequência da exposição ao estresse crônico no período pós-natal, poderia prejudicar o papel do PL de inibir a resposta periférica ao estresse ao longo da vida, gerando situações de má adaptação frente a adversidades.

Assim, embora esteja estabelecido que o estresse durante o período perinatal afeta a função do sistema nervoso central, apenas recentemente foi observado que as sinapses do PFC são afetadas, por serem sensíveis a uma vasta gama de estímulos, incluindo os estressores [35]. As primeiras experiências da vida definem as conexões sinápticas do PFC com outras áreas cerebrais, conexões estas que irão impactar sobre a regulação e modulação do comportamento na fase adulta, e o estresse pode interferir diretamente nesse processo.

1.4 Modulação Serotonérgica na Resposta ao Estresse

As transmissões sinápticas que ocorrem nas áreas límbicas e corticais são constantemente moduladas pelas projeções difusas ascendentes que derivam dos sistemas monoaminérgicos, os quais regulam a atividade cerebral de acordo com estímulos sensoriais internos e externos, modulando a resposta ao estresse, vigília, alerta, humor, agressividade e motivação [72-74]. Nesse contexto, a serotonina (5-HT) é considerada um dos moduladores mais importantes da plasticidade sináptica nas áreas corticais e límbicas envolvidas em funções cognitivas, emocionais e afetivas [75-78].

Os corpos celulares dos neurônios serotonérgicos se situam nos núcleos do rafe no tronco encefálico, enquanto os receptores serotonérgicos são encontrados em todo o sistema nervoso. Receptores para 5-HT são subdivididos em 7 famílias, com subtipos totalizando pelo menos 13 receptores com características estruturais e operacionais diferentes [79, 80] (**Figura 3**). Dentre eles, os mais estudados são os receptores de classe 1 e 2, principalmente devido ao seu importante papel na regulação do humor e de áreas do sistema límbico, sendo postulados como os principais agentes responsáveis pela ação antidepressiva de várias drogas, como os inibidores seletivos da recaptura de serotonina, considerando que são expressos em áreas cerebrais importantes na regulação do estresse e do humor, tanto em humanos quanto em roedores [81, 82].

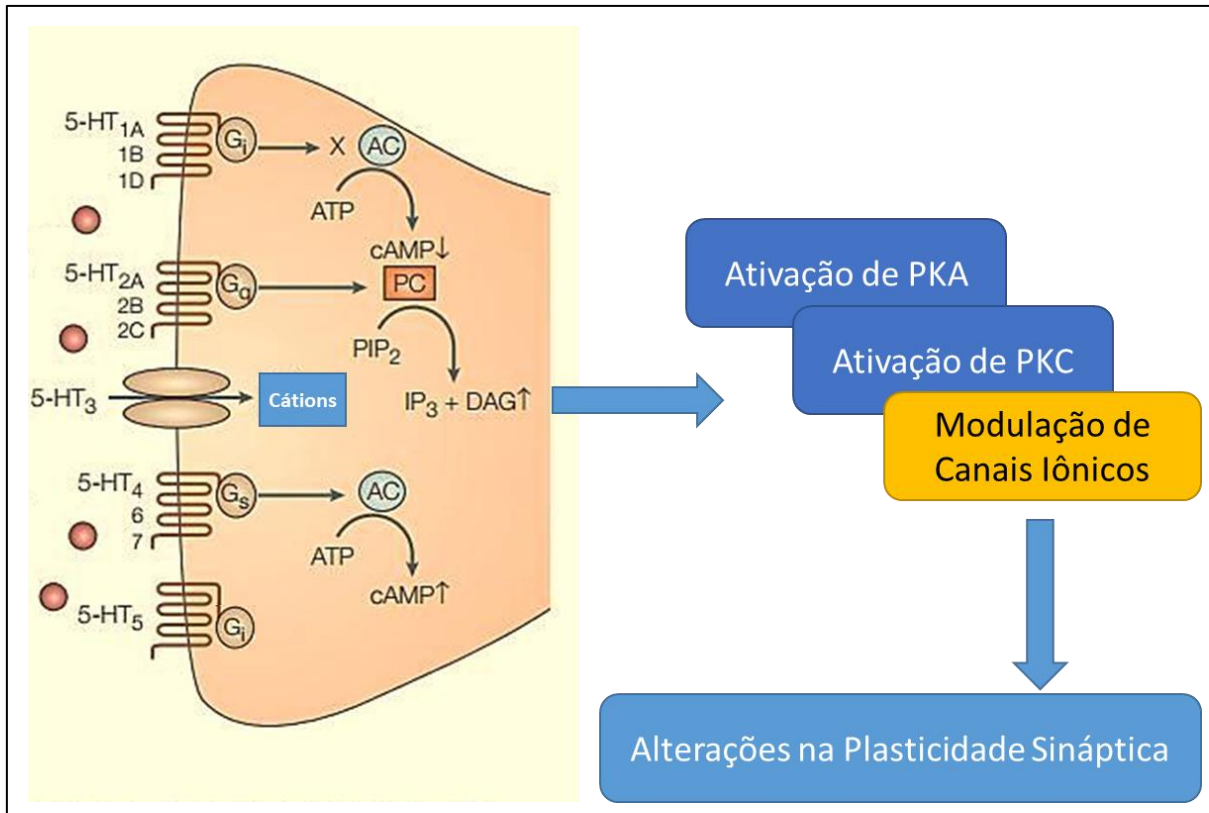


Figura 3. Vias de sinalização intracelular pelos receptores serotoninérgicos. A 5-HT pode sinalizar não apenas por vias associadas à proteína G, como também por ação direta em receptores ionotrópicos (5HT₃), que permitem influxo de Na⁺ e Ca²⁺ nos neurônios, podendo promover sinalização por cálcio e/ou despolarização do neurônio. A ação da 5-HT pode levar a ativação de proteínas quinase, como a PKA e a PKC, desencadeando eventos moleculares relacionados à plasticidade sináptica. Um exemplo é a modulação de canais iônicos pela fosforilação via PKA ou PKC, alterando os potenciais elétricos de membrana. (Adaptado de David T. Wong, Kenneth W. Perry & Frank P. Bymaster, 2005) [83].

1.4.1 Envolvimento da Serotonina na Função do PFC

Existem amplas evidências relatando um envolvimento da atividade serotoninérgica no PFC durante as respostas ao estresse [84-95]. Animais estressados mostram uma diminuição de transportadores envolvidos na recaptação da 5-HT do espaço sináptico [96], indicando possíveis alterações no tônus serotoninérgico basal, e um aumento do *turnover* de 5-HT no PFC [97-100]. Receptores do tipo 5HT_{1A} e 5HT_{2A/2C} são correlacionados a alterações vistas na circuitaria que conecta o PFC à amígdala, no que se refere à resposta neural ao estresse [101]. Alterações da neurotransmissão serotoninérgica implicadas na patogênese de transtornos neuropsiquiátricos estão associadas à disfunção do PFC [102-104], e o impacto do estresse sobre o comportamento depende de um polimorfismo no gene do transportador de serotonina (SERT) [105].

A exposição ao estresse na fase pós-natal poderia envolver o sistema serotoninérgico na modulação da formação das conexões sinápticas primordiais do PFC. Foi visto que a atividade de SERT é fundamental para a expressão do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF) ao longo do desenvolvimento pós-natal, o qual é liberado pelos neurônios em resposta à atividade neuronal durante os processos de potenciação das conexões sinápticas [106]. Reduzindo os níveis de BDNF no PFC durante o período pós-natal, o estresse afeta negativamente a possibilidade de LTP [73], o que pode eventualmente levar à problemas no desenvolvimento do PFC e à maior predisposição aos transtornos do humor. A supressão genética do SERT reduz os níveis de BDNF no PFC no início do desenvolvimento, diminuindo a plasticidade progressivamente nas primeiras duas semanas de vida [107]. A MS também provoca uma redução dos níveis de BDNF no PFC, e esses efeitos podem ser reproduzidos por meio da deleção genética do SERT [108]. Interessantemente, a redução de BDNF foi observada unicamente no mPFC, na região que compreende o IL e o PL, sugerindo que esses efeitos envolvem alterações na resposta neural ao estresse reguladas especificamente pelo mPFC.

Há evidências que mostram que o estresse crônico causado pela MS perturba a atividade serotoninérgica no PFC agindo sobre a expressão de 5HT_{1A} e 5HT_{2C} [26, 109]. Um estudo relatou que a MS diminui os níveis de 5-HT e a expressão dos receptores 5HT_{1A} e 5HT_{2C} no PFC durante a segunda semana pós-natal, e essas alterações retornaram a níveis normais após o fim do período de separação [26]. Portanto, devido a divergência entre os resultados existentes na literatura, é claro que a 5-HT está implicada na regulação da resposta ao estresse possivelmente através de alterações na plasticidade sináptica, porém não se sabe exatamente como e onde essas alterações acontecem, para que seja formulada uma teoria que explique os dados já obtidos a respeito da modulação serotoninérgica da resposta ao estresse.

1.4.2 Mecanismos de Modulação Serotonérgica da Plasticidade Sináptica

A 5-HT é capaz de modular várias vias de sinalização relacionadas à plasticidade sináptica, dependendo do tipo de receptor presente no neurônio: receptores do tipo 3 são ionotrópicos, permitindo a entrada de Na^+ e Ca^{+2} na célula, levando a ativação da CaMKII; os do tipo 1 são acoplados a proteína $G_{\alpha i}$, consequentemente reduzindo a atividade da PKA; os do tipo 2 sinalizam via $G_{\alpha q}$, levando a ativação da PKC; e os do tipo 4, 6 e 7 sinalizam via $G_{\alpha s}$ [76] (**Figura 3**). Dessa forma, a serotonina pode orquestrar a reorganização cortical através da modulação seletiva de potenciação e/ou depressão sináptica em ambas sinapses excitatórias e inibitórias.

Por exemplo, a sinalização serotonérgica modula as vias intracelulares envolvidas na funcionalidade do receptor AMPA, e na sua colocação na membrana pós-sináptica [76, 110, 111]. Foi observado que um antagonista de 5HT_{1A} aumenta a atividade da CaMKII, neutralizando os efeitos negativos que os bloqueadores de receptores AMPA exercem sobre os testes de memória que envolvem o hipocampo [112], sendo que a CaMKII estimula a inserção de receptores AMPA na membrana pós-sináptica, processo esse necessário para a consolidação da memória no hipocampo e que pode ser reforçado pelo bloqueio dos receptores 5HT_{1A} [66, 113, 114]. No hipocampo e no PFC, a 5-HT favorece a LTP [76, 115], e a facilitação da LTP em resposta à ativação do sistema serotonérgico é importante para o processamento de informações cognitivas e emocionais [79, 116-121]. No entanto, apesar de se conhecer os mecanismos moleculares que conectam as possíveis ações da 5-HT em seus receptores com os eventos que ocorrem durante a plasticidade sináptica, a função da 5-HT em áreas corticais ainda permanece elusiva. Ainda há poucos estudos da modulação da plasticidade sináptica pela 5-HT no PFC, mas um estudo eletrofisiológico demonstrou que os receptores 5HT_{1A} são capazes de modificar a orientação bidirecionalmente (ou seja, para LTP ou LTD) da plasticidade sináptica em neurônios piramidais da camada V do PFC de camundongos [122].

Em grande parte, a lacuna que se encontra na literatura a respeito desse tema se deve a complexidade do sistema, que além de apresentar uma gama enorme de sinalizações intracelulares diferentes, ainda apresenta localização seletiva de receptores em redes de interneurônios GABAérgicos. No PFC, neurônios piramidais expressam ambos 5HT_{2A} e 5HT_{1A} (os quais possuem efeitos opostos sobre a plasticidade, de acordo com suas sinalizações

intracelulares), enquanto que interneurônios expressam esses mesmos receptores e também 5HT₃, de forma que se torna difícil estabelecer o papel da 5-HT nessa rede [40]. Para se somar ainda mais à complexidade desse tópico, os receptores 5HT_{1A} também podem estar localizados em regiões diferentes do neurônio, de forma a regular não só a excitabilidade neuronal, mas também a liberação de neurotransmissores em sinapses específicas [123]. Em conjunto, levando em consideração as evidências existentes, se tem propagado a ideia de que existe uma sincronização da circuitaria do PFC com outras áreas límbicas, como o hipocampo e amígdala, de forma que a 5-HT seria capaz de modular os ritmos de sincronização nessas áreas e adaptar a resposta ao estresse do organismo. Alterações na sincronização da circuitaria do PFC com o hipocampo já foram vistas em condições patológicas em humanos e animais [41].

Sendo o sistema serotoninérgico fortemente influenciado pelo estresse, ele poderia ser o mecanismo principal através do qual o estresse pós-natal torna-se responsável por seus efeitos deletérios sobre o desenvolvimento emocional. Porém, outros neuromoduladores também devem desempenhar funções na resposta ao estresse, visto que há expressão de receptores dopaminérgicos e noradrenérgicos no PFC [74, 124].

1.5 Serotonina e TREK-1 na Resposta ao Estresse

Alguns estudos têm correlacionado as ações da 5-HT no sistema nervoso central com uma possível modulação de determinados canais de potássio presentes nessas regiões, sendo que os canais de potássio do tipo *Twik related 1* (TREK-1) tem chamado a atenção desde a descrição de fenótipo resiliente à depressão em camundongos nocautes para TREK-1 [125]. Os canais de potássio de mamíferos podem ser divididos em três famílias: sensíveis a voltagem (K_v), retificadores de corrente (K_{ir}) e canais com dois domínios formadores do poro (K_{2P}). Os canais TREK-1 pertencem à família K_{2P} e são particularmente expressos no tecido nervoso de roedores [126] e humanos [127], produzindo uma corrente *outward* (i.e., para fora da célula). Esses canais podem ser modulados por uma variedade de estímulos e mediadores, como neurotransmissores, temperatura, estímulos mecânicos e pelo ácido araquidônico (**Figura 4**) [128-131]. A 5-HT é capaz de inibir o córtex entorrinal através da ativação de TWIK-1, que também é um canal pertencente à família K_{2P} [132], e bloqueadores de TREK-1 aumentam o *firing rate* nos núcleos dorsais da rafe (que são responsáveis pela produção de 5-HT e se

projetam para várias regiões cerebrais), sugerindo que esses canais regulam o tônus serotoninérgico. A expressão de PKA e BDNF no PFC e hipocampo também é reduzida pelo bloqueio de TREK-1, e esses efeitos podem ser modulados pela manipulação do receptor 5HT_{1A} [133], indicando uma interação entre esse receptor serotoninérgico e TREK-1. A fluoxetina pode reverter o aumento da expressão de TREK-1 no PFC induzido por estresse [134].

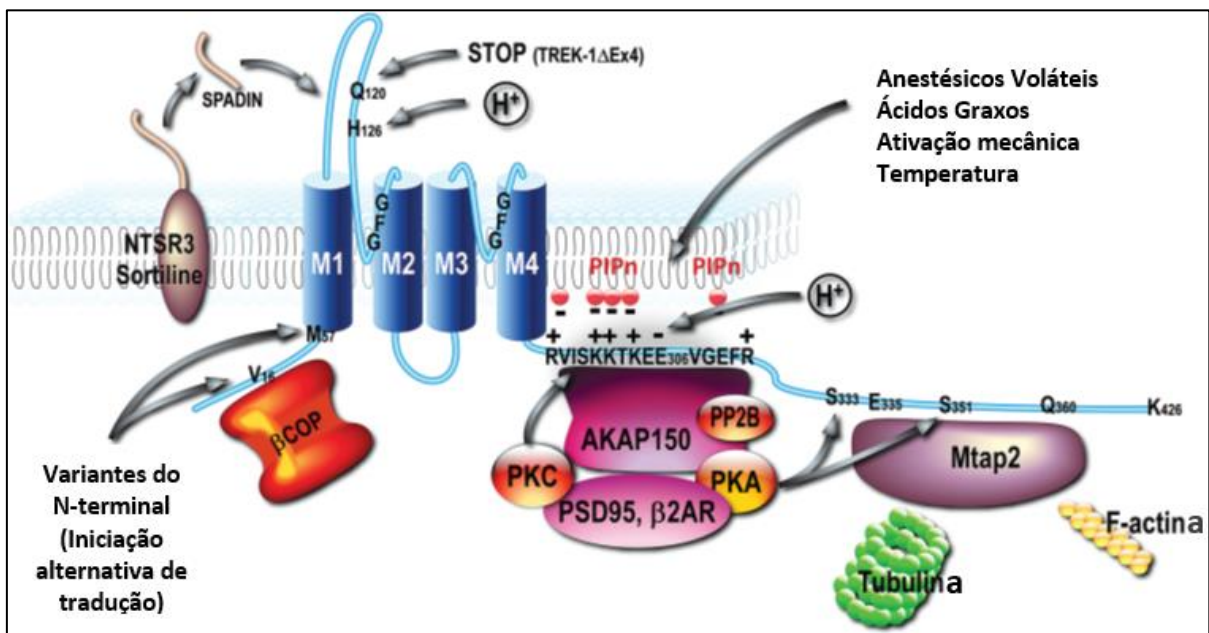


Figura 4. Modulação da função de TREK-1. Observa-se uma grande variedade de sítios passíveis de modulação por vários sinais intra e extracelulares diferentes na estrutura do canal TREK-1. Em particular, PKA e PKC podem fosforilar a porção carboxi-terminal intracelular do canal, o que favore o seu estado fechado, onde não há corrente de potássio fluindo pelo canal (Adaptado de: Noel, J., G. Sandoz e F. Lesage, 2011) [131].

Os canais TREK-1 desempenham importantes papéis fisiológicos em vários tecidos, particularmente no tecido muscular e nervoso, e estão envolvidos no processamento de estímulos sensoriais como dor e calor [128], além de desempenharem funções em astrócitos [135] e nos corticotropos da hipófise [136]. TREK-1 é expresso nos núcleos da rafe, estriado, hipocampo, amígdala, hipotálamo (PVN e arqueado) e regiões corticais [127]. Eles também são expressos na barreira hematoencefálica [137] e são implicados na fisiopatologia de várias doenças [138]. A modulação dos canais TREK-1 pode ocorrer por diversas vias de sinalização, incluindo a via da PKA e da PKC [129, 131], as quais estão implicadas na plasticidade sináptica [139, 140] bem como na relação entre a adaptação cognitiva ao estresse com a plasticidade sináptica e psicopatologias [141].

Em relação à plasticidade sináptica, TREK-1 desempenha um papel importante na manutenção do potencial de membrana, regulando a excitabilidade neuronal e permitindo a plasticidade sináptica [142, 143]. Como os canais TREK-1 controlam diretamente o estado de despolarização da membrana (através do controle do efluxo de K^+), é muito provável que eles desempenhem um papel chave nas alterações sinápticas necessárias para a plasticidade e outros eventos neurofisiológicos relacionados às consequências emocionais e cognitivas do estresse. Adicionalmente, as diversas vias de sinalização intracelular que afetam a função de TREK-1 estão também envolvidas com a ação de neurotransmissores, como as monoaminas, na adaptação cognitiva ao estresse [141]. Sabe-se por exemplo que a PKA é capaz de fosforilar e inibir a função de TREK-1 [144], de onde se pode deduzir que receptores $5HT_{1A}$ poderiam levar ao aumento da probabilidade de abertura desses canais através da inibição da PKA.

Evidências recentes têm sugerido que os canais TREK-1 estão relacionados à fisiopatologia da depressão. Animais nocaute para TREK-1 apresentam fenótipo resiliente à depressão [6, 125], e a ação de antidepressivos largamente utilizados, como a fluoxetina, é dependente da função de TREK-1 [145-147]. Alguns estudos apresentam evidências de que os efeitos terapêuticos de antidepressivos podem ser dependentes do antagonismo de TREK-1 [145-147], sendo que alguns autores inclusive sugerem que o mecanismo de ação antidepressivo da fluoxetina ocorra pela inibição de TREK-1 que essa droga promove, mais do que pelo aumento de 5-HT na fenda sináptica [145, 148]. Além disso, alguns estudos demonstraram relação entre isoformas de TREK-1 e SERT na resposta terapêutica à antidepressivos em humanos [149]. Assim, considerando que a neurogênese e a plasticidade sináptica são processos responsáveis pela reversão de quadros de depressão e ansiedade, TREK-1 se tornou um alvo terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento da depressão [148, 150, 151].

O PFC e o hipocampo são as regiões cerebrais que apresentam maior sensibilidade ao estresse [152], mesmo durante a fase juvenil e adolescência [153, 154], e TREK-1 parece estar envolvido na sinalização do receptor $GABA_B$ no hipocampo [155]. A amígdala também apresenta plasticidade sináptica e é uma das áreas mais envolvidas na resposta ao estresse, porém suas ações estão mais ligadas à efetivação fisiológica da resposta ao estresse, assim como o hipotálamo através do PVN e sua conexão com o eixo HPA, ao passo que o PFC e o hipocampo apresentam função na contextualização e controle cognitivo do estresse [1, 4, 5, 8]. Evidências na literatura indicam efeitos sinérgicos entre TREK-1 e $5HT_{1A}$ no efeito

antidepressivo de drogas que atuam sobre os mesmos [133], e variações genéticas desse canal em humanos foram relacionadas a resiliência à depressão [149]. Ainda, TREK-1 também parece ser mais expresso em interneurônios, o que adiciona uma camada adicional de complexidade no mecanismo putativo de ação da 5-HT sobre a excitabilidade neuronal [127]. As regiões envolvidas na circuitaria de estresse também expressam receptores serotoninérgicos, e se configuram numa rede complexa que apresenta potencial de modulação em vários pontos, via TREK-1 e/ou 5-HT [156, 157] (**Figura 5**).

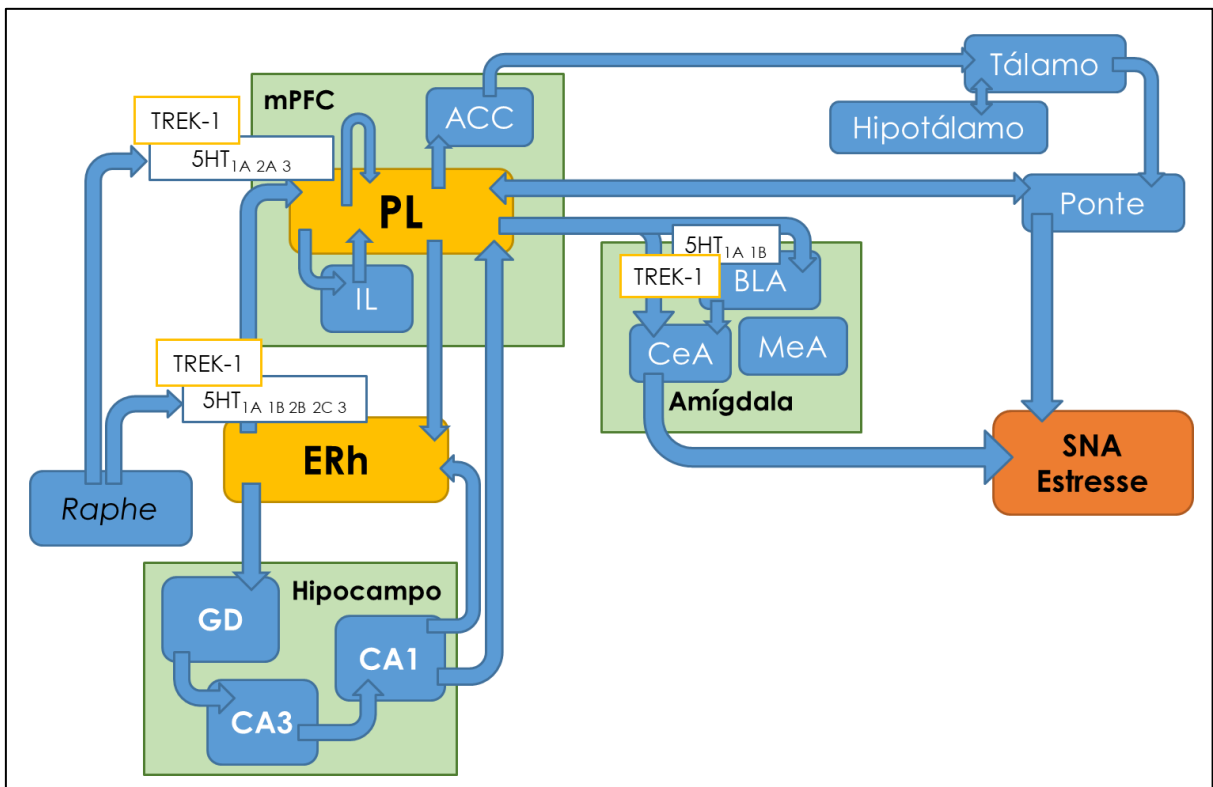


Figura 5. Circuitaria neural para a resposta ao estresse, e a expressão de TREK-1 e receptores serotoninérgicos. Receptores 5HT_{1A} são expressões em regiões chave da circuitaria de estresse, e nas mesmas áreas também se encontra a expressão de TREK-1, de forma que essas duas moléculas podem interagir na regulação das respostas ao estresse. Outros receptores serotoninérgicos, quando presentes, também estão indicados. CA3 = *cornu Ammon* 3 do hipocampo. CA1 = *cornu Ammon* 1 do hipocampo. SNA = Sistema Nervoso Autônomo. ACC = córtex cingulado anterior. Raphe = núcleos da rafe no tronco encefálico.

1.6 Dimorfismo Sexual na Resposta ao Estresse

Fatores ambientais que atuam nas fases iniciais da vida podem produzir alterações de comportamento que persistem até a idade adulta [158], sendo que a indução de comportamentos relacionados à depressão é um dos efeitos mais importantes. A depressão é uma doença cuja prevalência vêm aumentando na população mundial e causando incapacitação para o trabalho [159], e estando associada ao estresse, a compreensão dos mecanismos pelos quais o estresse pode levar à depressão faz-se necessária [160-163]. Observa-se que as mulheres são quase duas vezes mais diagnosticadas com depressão [159], porém a maioria dos estudos com modelos animais têm empregado apenas animais machos. Portanto se desconhece os fatores que levam o sexo feminino a ser mais susceptível à depressão: se se trata de fatores neurobiológicos ligados ao sexo, ou se fatores sociais e econômicos são mais responsáveis por essa maior prevalência em mulheres [164].

Vários estudos já documentaram algumas diferenças dependentes de sexo em modelos animais utilizando protocolos de estresse. Fêmeas secretaram mais corticosterona frente ao estresse em um estudo utilizando ratos [165], e em roedores, mesmo os níveis basais de corticosterona são mais elevados em fêmeas quando comparadas aos machos [166]. As áreas envolvidas na circuitaria de estresse, como o PFC e hipocampo, apresentam diferenças estruturais e funcionais na idade adulta entre os sexos [167]. Outro estudo, utilizando estresse controlável e inescapável, concluiu que no caso do estresse controlável as fêmeas apresentaram menor controle *top-down* do PL sobre o tônus serotoninérgico [168].

Em conjunto, essas evidências indicam que há importantes aspectos relacionados à diferenças entre os sexos na resposta ao estresse que precisam ser melhor investigadas, ainda mais considerando as interações entre sexo, idade e outros parâmetros fisiológicos [169].

2 CONCLUSÃO

A MS induz alterações na modulação da plasticidade sináptica no PL por TREK-1, onde o bloqueio de TREK-1 passa a empregar um mecanismo pré-sináptico para a indução de LTD no PL. A 5-HT ou a ativação do receptor 5HT_{1A} são suficientes para induzir LTD no PL, bem como o bloqueio de TREK-1. A LTD induzida por 5HT_{1A} depende da ativação de TREK-1.

O estresse pós-natal pela MS causa alterações na expressão de TREK-1 e 5HT_{1A} em áreas cerebrais importantes da circuitaria de estresse. Esses efeitos foram sexo-dependentes, e de forma geral as fêmeas se mostraram mais vulneráveis a MS, indicando que a maior prevalência de depressão em mulheres pode ser devida a diferenças neurobiológicas entre os sexos. A diminuição de TREK-1 associada a diminuição de 5HT_{1A} no ERh, juntamente com um aumento de 5HT_{1A} na BLA, se correlaciona com um fenótipo de relativa resiliência à depressão, ocorrendo nos machos infantis. A redução de 5HT_{1A} associada a um aumento de TREK-1 no GD, juntamente com um aumento de TREK-1 na BLA, se correlaciona com um fenótipo depressivo-símile, ocorrendo nas fêmeas infantis. A MS aumenta a quantidade de TREK-1 no PL para ambos os sexos, o que se correlaciona com aumento da vulnerabilidade à depressão na idade adulta em machos e fêmeas.

Portanto, a hipótese central desse trabalho foi confirmada pelos experimentos executados, evidenciando que o estresse pós-natal é capaz de induzir comportamento depressivo-símile através da modulação da plasticidade sináptica via alterações na expressão de 5HT_{1A} e TREK-1 na circuitaria de estresse. A indução de LTD no PL pode possuir uma ação antidepressiva, podendo ser explorada como estratégia terapêutica para o desenvolvimento de novos fármacos para o tratamento de doenças neuropsiquiátricas.

REFERÊNCIAS*

1. Joels M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):459-66.
2. Hill MN, Hellems KG, Verma P, Gorzalka BB, Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: parallels to major depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012;36(9):2085-117.
3. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci*. 2011;13(1):22-37.
4. de Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*. 2005;6(6):463-75.
5. Sandi C, Haller J. Stress and the social brain: behavioural effects and neurobiological mechanisms. *Nat Rev Neurosci*. 2015;16(5):290-304.
6. Dominguez-Lopez S, Howell R, Gobbi G. Characterization of serotonin neurotransmission in knockout mice: implications for major depression. *Rev Neurosci*. 2012;23(4):429-43.
7. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci*. 2012;13(1):22-37.
8. Arnsten AF. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):410-22.
9. Robbins TW. Controlling stress: how the brain protects itself from depression. *Nat Neurosci*. 2005;8(3):261-2.
10. Brunson KL, Chen Y, Avishai-Eliner S, Baram TZ. Stress and the developing hippocampus: a double-edged sword? *Mol Neurobiol*. 2003;27(2):121-36.
11. Liang BF, Huang F, Wang HT, Wang GH, Yuan X, Zhang MZ, et al. Involvement of norepinephrine and serotonin system in antidepressant-like effects of hederagenin in the rat model of unpredictable chronic mild stress-induced depression. *Pharmaceutical biology*. 2015;53(3):368-77.
12. ter Horst JP, de Kloet ER, Schachinger H, Oitzl MS. Relevance of stress and female sex hormones for emotion and cognition. *Cellular and molecular neurobiology*. 2012;32(5):725-35.
13. Graham YP, Heim C, Goodman SH, Miller AH, Nemeroff CB. The effects of neonatal stress on brain development: implications for psychopathology. *Dev Psychopathol*. 1999;11(3):545-65.
14. Krugers HJ, Arp JM, Xiong H, Kanatsou S, Lesuis SL, Korosi A, et al. Early life adversity: Lasting consequences for emotional learning. *Neurobiol Stress*. 2017;6:14-21.
15. Dube SR, Anda RF, Felitti VJ, Chapman DP, Williamson DF, Giles WH. Childhood abuse, household dysfunction, and the risk of attempted suicide throughout the life span: findings from the Adverse Childhood Experiences Study. *JAMA*. 2001;286(24):3089-96.
16. Roy A. Childhood trauma and neuroticism as an adult: possible implication for the development of the common psychiatric disorders and suicidal behaviour. *Psychol Med*. 2002;32(8):1471-4.
17. Novais A, Monteiro S, Roque S, Correia-Neves M, Sousa N. How age, sex and genotype shape the stress response. *Neurobiol Stress*. 2017;6:44-56.
18. Herman JP, McKlveen JM, Ghosal S, Kopp B, Wulsin A, Makinson R, et al. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response. *Compr Physiol*. 2016;6(2):603-21.
19. Brunson KL, Avishai-Eliner S, Hatalski CG, Baram TZ. Neurobiology of the stress response early in life: evolution of a concept and the role of corticotropin releasing hormone. *Mol Psychiatry*. 2001;6(6):647-56.
20. Harbuz M, Russell JA, Sumner BE, Kawata M, Lightman SL. Rapid changes in the content of proenkephalin A and corticotrophin releasing hormone mRNAs in the paraventricular nucleus during morphine withdrawal in urethane-anaesthetized rats. *Brain Res Mol Brain Res*. 1991;9(4):285-91.

*De acordo com: *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements para manuscripts submitted to Biomedical Journals: sample references*. 2003 [atualizado em 02 de maio de 2018]. Disponível em: https://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

21. Pihoker C, Owens MJ, Kuhn CM, Schanberg SM, Nemeroff CB. Maternal separation in neonatal rats elicits activation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: a putative role for corticotropin-releasing factor. *Psychoneuroendocrinology*. 1993;18(7):485-93.
22. Plotsky PM, Meaney MJ. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res Mol Brain Res*. 1993;18(3):195-200.
23. Walker CD, Scribner KA, Cascio CS, Dallman MF. The pituitary-adrenocortical system of neonatal rats is responsive to stress throughout development in a time-dependent and stressor-specific fashion. *Endocrinology*. 1991;128(3):1385-95.
24. Dent GW, Okimoto DK, Smith MA, Levine S. Stress-induced alterations in corticotropin-releasing hormone and vasopressin gene expression in the paraventricular nucleus during ontogeny. *Neuroendocrinology*. 2000;71(6):333-42.
25. Hatalski CG, Guirguis C, Baram TZ. Corticotropin releasing factor mRNA expression in the hypothalamic paraventricular nucleus and the central nucleus of the amygdala is modulated by repeated acute stress in the immature rat. *J Neuroendocrinol*. 1998;10(9):663-9.
26. Ohta K, Miki T, Warita K, Suzuki S, Kusaka T, Yakura T, et al. Prolonged maternal separation disturbs the serotonergic system during early brain development. *Int J Dev Neurosci*. 2014;33:15-21.
27. McEwen BS. Early life influences on life-long patterns of behavior and health. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews*. 2003;9(3):149-54.
28. Vetulani J. Early maternal separation: a rodent model of depression and a prevailing human condition. *Pharmacological reports* : PR. 2013;65(6):1451-61.
29. Sengupta P. The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. *Int J Prev Med*. 2013;4(6):624-30.
30. Goldman-Rakic PS. The prefrontal landscape: implications of functional architecture for understanding human mentation and the central executive. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 1996;351(1346):1445-53.
31. Thompson-Schill SL, Jonides J, Marshuetz C, Smith EE, D'Esposito M, Kan IP, et al. Effects of frontal lobe damage on interference effects in working memory. *Cogn Affect Behav Neurosci*. 2002;2(2):109-20.
32. Aron AR, Robbins TW, Poldrack RA. Inhibition and the right inferior frontal cortex. *Trends Cogn Sci*. 2004;8(4):170-7.
33. Buschman TJ, Miller EK. Top-down versus bottom-up control of attention in the prefrontal and posterior parietal cortices. *Science*. 2007;315(5820):1860-2.
34. Gazzaley A, Rissman J, Cooney J, Rutman A, Seibert T, Clapp W, et al. Functional interactions between prefrontal and visual association cortex contribute to top-down modulation of visual processing. *Cereb Cortex*. 2007;17 Suppl 1:i125-35.
35. Kolb B, Mychasiuk R, Muhammad A, Li Y, Frost DO, Gibb R. Experience and the developing prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109 Suppl 2:17186-93.
36. Yang Y, Cheng Z, Tang H, Jiao H, Sun X, Cui Q, et al. Neonatal Maternal Separation Impairs Prefrontal Cortical Myelination and Cognitive Functions in Rats Through Activation of Wnt Signaling. *Cereb Cortex*. 2017;27(5):2871-84.
37. Hurley KM, Herbert H, Moga MM, Saper CB. Efferent projections of the infralimbic cortex of the rat. *J Comp Neurol*. 1991;308(2):249-76.
38. Sesack SR, Deutch AY, Roth RH, Bunney BS. Topographical organization of the efferent projections of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tract-tracing study with Phaseolus vulgaris leucoagglutinin. *J Comp Neurol*. 1989;290(2):213-42.
39. Takagishi M, Chiba T. Efferent projections of the infralimbic (area 25) region of the medial prefrontal cortex in the rat: an anterograde tracer PHA-L study. *Brain Res*. 1991;566(1-2):26-39.
40. Santana N, Artigas F. Laminar and Cellular Distribution of Monoamine Receptors in Rat Medial Prefrontal Cortex. *Front Neuroanat*. 2017;11:87.
41. Puig MV, Gener T. Serotonin Modulation of Prefronto-Hippocampal Rhythms in Health and Disease. *ACS Chem Neurosci*. 2015;6(7):1017-25.

42. Conde F, Maire-Lepoivre E, Audinat E, Crepel F. Afferent connections of the medial frontal cortex of the rat. II. Cortical and subcortical afferents. *J Comp Neurol.* 1995;352(4):567-93.
43. McGarry LM, Carter AG. Inhibitory Gating of Basolateral Amygdala Inputs to the Prefrontal Cortex. *J Neurosci.* 2016;36(36):9391-406.
44. Eiland L, Ramroop J, Hill MN, Manley J, McEwen BS. Chronic juvenile stress produces corticolimbic dendritic architectural remodeling and modulates emotional behavior in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology.* 2012;37(1):39-47.
45. Radley JJ, Gosselink KL, Sawchenko PE. A discrete GABAergic relay mediates medial prefrontal cortical inhibition of the neuroendocrine stress response. *J Neurosci.* 2009;29(22):7330-40.
46. Diorio D, Viau V, Meaney MJ. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *J Neurosci.* 1993;13(9):3839-47.
47. Figueiredo HF, Bodie BL, Tauchi M, Dolgas CM, Herman JP. Stress integration after acute and chronic predator stress: differential activation of central stress circuitry and sensitization of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Endocrinology.* 2003;144(12):5249-58.
48. Figueiredo HF, Bruestle A, Bodie B, Dolgas CM, Herman JP. The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor. *Eur J Neurosci.* 2003;18(8):2357-64.
49. Sullivan RM, Gratton A. Lateralized effects of medial prefrontal cortex lesions on neuroendocrine and autonomic stress responses in rats. *J Neurosci.* 1999;19(7):2834-40.
50. Crane JW, Ebner K, Day TA. Medial prefrontal cortex suppression of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis response to a physical stressor, systemic delivery of interleukin-1beta. *Eur J Neurosci.* 2003;17(7):1473-81.
51. Musazzi L, Marrocco J. Stress Response and Perinatal Reprogramming: Unraveling (Mal)adaptive Strategies. *Neural Plast.* 2016;2016:6752193.
52. Macri S, Laviola G. Single episode of maternal deprivation and adult depressive profile in mice: interaction with cannabinoid exposure during adolescence. *Behav Brain Res.* 2004;154(1):231-8.
53. Huot RL, Gonzalez ME, Ladd CO, Thirivikraman KV, Plotsky PM. Foster litters prevent hypothalamic-pituitary-adrenal axis sensitization mediated by neonatal maternal separation. *Psychoneuroendocrinology.* 2004;29(2):279-89.
54. McCormick CM, Kehoe P, Kovacs S. Corticosterone release in response to repeated, short episodes of neonatal isolation: evidence of sensitization. *Int J Dev Neurosci.* 1998;16(3-4):175-85.
55. Scheefhals N, MacGillavry HD. Functional organization of postsynaptic glutamate receptors. *Molecular and cellular neurosciences.* 2018;91:82-94.
56. Elgersma Y, Silva AJ. Molecular mechanisms of synaptic plasticity and memory. *Curr Opin Neurobiol.* 1999;9(2):209-13.
57. Pickering C, Gustafsson L, Cebere A, Nylander I, Liljequist S. Repeated maternal separation of male Wistar rats alters glutamate receptor expression in the hippocampus but not the prefrontal cortex. *Brain Res.* 2006;1099(1):101-8.
58. RM OC, Pusceddu MM, Dinan TG, Cryan JF. Impact of early-life stress, on group III mGlu receptor levels in the rat hippocampus: effects of ketamine, electroconvulsive shock therapy and fluoxetine treatment. *Neuropharmacology.* 2013;66:236-41.
59. Pape H-C, Pare D. Plastic Synaptic Networks of the Amygdala for the Acquisition, Expression, and Extinction of Conditioned Fear. *Physiological Reviews.* 2010;90(2):419-63.
60. Kim JJ, Diamond DM. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nat Rev Neurosci.* 2002;3(6):453-62.
61. Yang CH, Huang CC, Hsu KS. Behavioral stress enhances hippocampal CA1 long-term depression through the blockade of the glutamate uptake. *J Neurosci.* 2005;25(17):4288-93.
62. Liu RJ, Aghajanian GK. Stress blunts serotonin- and hypocretin-evoked EPSCs in prefrontal cortex: role of corticosterone-mediated apical dendritic atrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(1):359-64.
63. Kim JJ, Foy MR, Thompson RF. Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(10):4750-3.

64. Moench KM, Wellman CL. Stress-induced alterations in prefrontal dendritic spines: Implications for post-traumatic stress disorder. *Neurosci Lett*. 2015;601:41-5.
65. Hains AB, Vu MA, Maciejewski PK, van Dyck CH, Gottron M, Arnsten AF. Inhibition of protein kinase C signaling protects prefrontal cortex dendritic spines and cognition from the effects of chronic stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(42):17957-62.
66. Radley JJ, Rocher AB, Miller M, Janssen WG, Liston C, Hof PR, et al. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2006;16(3):313-20.
67. Radley JJ, Anderson RM, Hamilton BA, Alcock JA, Romig-Martin SA. Chronic stress-induced alterations of dendritic spine subtypes predict functional decrements in an hypothalamo-pituitary-adrenal-inhibitory prefrontal circuit. *J Neurosci*. 2013;33(36):14379-91.
68. Yuen EY, Wei J, Liu W, Zhong P, Li X, Yan Z. Repeated stress causes cognitive impairment by suppressing glutamate receptor expression and function in prefrontal cortex. *Neuron*. 2012;73(5):962-77.
69. Muhammad A, Carroll C, Kolb B. Stress during development alters dendritic morphology in the nucleus accumbens and prefrontal cortex. *Neuroscience*. 2012;216:103-9.
70. Bock J, Gruss M, Becker S, Braun K. Experience-induced changes of dendritic spine densities in the prefrontal and sensory cortex: correlation with developmental time windows. *Cereb Cortex*. 2005;15(6):802-8.
71. Monroy E, Hernandez-Torres E, Flores G. Maternal separation disrupts dendritic morphology of neurons in prefrontal cortex, hippocampus, and nucleus accumbens in male rat offspring. *J Chem Neuroanat*. 2010;40(2):93-101.
72. Tully K, Bolshakov VY. Emotional enhancement of memory: how norepinephrine enables synaptic plasticity. *Mol Brain*. 2010;3:15.
73. Popoli M, Gennarelli M, Racagni G. Modulation of synaptic plasticity by stress and antidepressants. *Bipolar Disord*. 2002;4(3):166-82.
74. Meunier CN, Chameau P, Fossier PM. Modulation of Synaptic Plasticity in the Cortex Needs to Understand All the Players. *Front Synaptic Neurosci*. 2017;9:2.
75. Vidal R, Pilar-Cuellar F, dos Anjos S, Linge R, Treceno B, Vargas VI, et al. New strategies in the development of antidepressants: towards the modulation of neuroplasticity pathways. *Curr Pharm Des*. 2011;17(5):521-33.
76. Lesch KP, Waider J. Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders. *Neuron*. 2012;76(1):175-91.
77. Cowen DS. Serotonin and neuronal growth factors - a convergence of signaling pathways. *J Neurochem*. 2007;101(5):1161-71.
78. Foehring RC, Lorenzon NM. Neuromodulation, development and synaptic plasticity. *Can J Exp Psychol*. 1999;53(1):45-61.
79. Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. *Behav Brain Res*. 2008;195(1):198-213.
80. Errico M, Crozier RA, Plummer MR, Cowen DS. 5-HT(7) receptors activate the mitogen activated protein kinase extracellular signal related kinase in cultured rat hippocampal neurons. *Neuroscience*. 2001;102(2):361-7.
81. Pazos A, Palacios JM. Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res*. 1985;346(2):205-30.
82. Pazos A, Probst A, Palacios JM. Serotonin receptors in the human brain--III. Autoradiographic mapping of serotonin-1 receptors. *Neuroscience*. 1987;21(1):97-122.
83. Wong DT, Perry KW, Bymaster FP. Case history: the discovery of fluoxetine hydrochloride (Prozac). *Nat Rev Drug Discov*. 2005;4(9):764-74.
84. Bibancos T, Jardim DL, Aneas I, Chiavegatto S. Social isolation and expression of serotonergic neurotransmission-related genes in several brain areas of male mice. *Genes Brain Behav*. 2007;6(6):529-39.
85. Ambar G, Chiavegatto S. Anabolic-androgenic steroid treatment induces behavioral disinhibition and downregulation of serotonin receptor messenger RNA in the prefrontal cortex and amygdala of male mice. *Genes Brain Behav*. 2009;8(2):161-73.

86. Chiavegatto S, Quadros IM, Ambar G, Miczek KA. Individual vulnerability to escalated aggressive behavior by a low dose of alcohol: decreased serotonin receptor mRNA in the prefrontal cortex of male mice. *Genes Brain Behav.* 2010;9(1):110-9.
87. Gartside SE, Hajos-Korcsok E, Bagdy E, Harsing LG, Jr., Sharp T, Hajos M. Neurochemical and electrophysiological studies on the functional significance of burst firing in serotonergic neurons. *Neuroscience.* 2000;98(2):295-300.
88. Groenewegen HJ, Uylings HB. The prefrontal cortex and the integration of sensory, limbic and autonomic information. *Prog Brain Res.* 2000;126:3-28.
89. Anisman H, Matheson K. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29(4-5):525-46.
90. Chaouloff F. Physiopharmacological interactions between stress hormones and central serotonergic systems. *Brain Res Brain Res Rev.* 1993;18(1):1-32.
91. Rueter LE, Fornal CA, Jacobs BL. A critical review of 5-HT brain microdialysis and behavior. *Rev Neurosci.* 1997;8(2):117-37.
92. Petty F, Kramer G, Wilson L. Prevention of learned helplessness: in vivo correlation with cortical serotonin. *Pharmacol Biochem Behav.* 1992;43(2):361-7.
93. Sherman AD, Petty F. Additivity of neurochemical changes in learned helplessness and imipramine. *Behav Neural Biol.* 1982;35(4):344-53.
94. Tauscher J, Bagby RM, Javanmard M, Christensen BK, Kasper S, Kapur S. Inverse relationship between serotonin 5-HT_{1A} receptor binding and anxiety: a [(11)C]WAY-100635 PET investigation in healthy volunteers. *Am J Psychiatry.* 2001;158(8):1326-8.
95. Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, Holt D, Greer PJ, et al. PET imaging of serotonin 1A receptor binding in depression. *Biol Psychiatry.* 1999;46(10):1375-87.
96. Wu J, Kramer GL, Kram M, Steciuk M, Crawford IL, Petty F. Serotonin and learned helplessness: a regional study of 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} receptors and the serotonin transport site in rat brain. *J Psychiatr Res.* 1999;33(1):17-22.
97. Petty F, Sherman AD. Learned helplessness induction decreases in vivo cortical serotonin release. *Pharmacol Biochem Behav.* 1983;18(4):649-50.
98. Adell A, Garcia-Marquez C, Armario A, Gelpi E. Chronic stress increases serotonin and noradrenaline in rat brain and sensitizes their responses to a further acute stress. *J Neurochem.* 1988;50(6):1678-81.
99. Pei Q, Zetterstrom T, Fillenz M. Tail pinch-induced changes in the turnover and release of dopamine and 5-hydroxytryptamine in different brain regions of the rat. *Neuroscience.* 1990;35(1):133-8.
100. Inoue T, Tsuchiya K, Koyama T. Regional changes in dopamine and serotonin activation with various intensity of physical and psychological stress in the rat brain. *Pharmacol Biochem Behav.* 1994;49(4):911-20.
101. Holmes A. Genetic variation in cortico-amygdala serotonin function and risk for stress-related disease. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(7):1293-314.
102. Underwood MD, Kassir SA, Bakalian MJ, Galfalvy H, Mann JJ, Arango V. Neuron density and serotonin receptor binding in prefrontal cortex in suicide. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2012;15(4):435-47.
103. Buhot MC. Serotonin receptors in cognitive behaviors. *Curr Opin Neurobiol.* 1997;7(2):243-54.
104. Dubovsky SL, Thomas M. Beyond specificity: effects of serotonin and serotonergic treatments on psychobiological dysfunction. *J Psychosom Res.* 1995;39(4):429-44.
105. Homberg JR, van den Hove DL. The serotonin transporter gene and functional and pathological adaptation to environmental variation across the life span. *Prog Neurobiol.* 2012;99(2):117-27.
106. McEwen BS. The ever-changing brain: cellular and molecular mechanisms for the effects of stressful experiences. *Dev Neurobiol.* 2012;72(6):878-90.
107. Calabrese F, Guidotti G, Middelmann A, Racagni G, Homberg J, Riva MA. Lack of serotonin transporter alters BDNF expression in the rat brain during early postnatal development. *Mol Neurobiol.* 2013;48(1):244-56.

108. Calabrese F, van der Doelen RH, Guidotti G, Racagni G, Kozicz T, Homberg JR, et al. Exposure to early life stress regulates Bdnf expression in SERT mutant rats in an anatomically selective fashion. *J Neurochem*. 2015;132(1):146-54.
109. Goodfellow NM, Benekareddy M, Vaidya VA, Lambe EK. Layer II/III of the prefrontal cortex: Inhibition by the serotonin 5-HT_{1A} receptor in development and stress. *J Neurosci*. 2009;29(32):10094-103.
110. Makino H, Malinow R. AMPA receptor incorporation into synapses during LTP: the role of lateral movement and exocytosis. *Neuron*. 2009;64(3):381-90.
111. Derkach VA, Oh MC, Guire ES, Soderling TR. Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci*. 2007;8(2):101-13.
112. Schiapparelli L, Del Rio J, Frechilla D. Serotonin 5-HT receptor blockade enhances Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II function and membrane expression of AMPA receptor subunits in the rat hippocampus: implications for memory formation. *J Neurochem*. 2005;94(4):884-95.
113. McEwen BS. Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1032:1-7.
114. Brown SM, Henning S, Wellman CL. Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2005;15(11):1714-22.
115. Ohashi S, Matsumoto M, Otani H, Mori K, Togashi H, Ueno K, et al. Changes in synaptic plasticity in the rat hippocampo-medial prefrontal cortex pathway induced by repeated treatments with fluvoxamine. *Brain Res*. 2002;949(1-2):131-8.
116. Normann C, Clark K. Selective modulation of Ca²⁺ influx pathways by 5-HT regulates synaptic long-term plasticity in the hippocampus. *Brain Res*. 2005;1037(1-2):187-93.
117. Bennett-Clarke CA, Chiaia NL, Rhoades RW. Thalamocortical afferents in rat transiently express high-affinity serotonin uptake sites. *Brain Res*. 1996;733(2):301-6.
118. Inaba M, Maruyama T, Yoshimura Y, Hosoi H, Komatsu Y. Facilitation of low-frequency stimulation-induced long-term potentiation by endogenous noradrenaline and serotonin in developing rat visual cortex. *Neurosci Res*. 2009;64(2):191-8.
119. Jones KA, Srivastava DP, Allen JA, Strachan RT, Roth BL, Penzes P. Rapid modulation of spine morphology by the 5-HT_{2A} serotonin receptor through kalirin-7 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(46):19575-80.
120. Kim HS, Jang HJ, Cho KH, Hahn SJ, Kim MJ, Yoon SH, et al. Serotonin inhibits the induction of NMDA receptor-dependent long-term potentiation in the rat primary visual cortex. *Brain Res*. 2006;1103(1):49-55.
121. Maya Vetencourt JF, Sale A, Viegi A, Baroncelli L, De Pasquale R, O'Leary OF, et al. The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex. *Science*. 2008;320(5874):385-8.
122. Meunier CN, Amar M, Lanfumey L, Hamon M, Fossier P. 5-HT_{1A} receptors direct the orientation of plasticity in layer 5 pyramidal neurons of the mouse prefrontal cortex. *Neuropharmacology*. 2013;71:37-45.
123. Puig MV, Gullledge AT. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Mol Neurobiol*. 2011;44(3):449-64.
124. Goldman-Rakic PS, Lidow MS, Gallager DW. Overlap of dopaminergic, adrenergic, and serotonergic receptors and complementarity of their subtypes in primate prefrontal cortex. *J Neurosci*. 1990;10(7):2125-38.
125. Heurteaux C, Lucas G, Guy N, El Yacoubi M, Thummler S, Peng XD, et al. Deletion of the background potassium channel TREK-1 results in a depression-resistant phenotype. *Nat Neurosci*. 2006;9(9):1134-41.
126. Hervieu GJ, Cluderay JE, Gray CW, Green PJ, Ranson JL, Randall AD, et al. Distribution and expression of TREK-1, a two-pore-domain potassium channel, in the adult rat CNS. *Neuroscience*. 2001;103(4):899-919.

127. Talley EM, Solorzano G, Lei Q, Kim D, Bayliss DA. Cns distribution of members of the two-pore-domain (KCNK) potassium channel family. *J Neurosci*. 2001;21(19):7491-505.
128. Honore E. The neuronal background K2P channels: focus on TREK1. *Nat Rev Neurosci*. 2007;8(4):251-61.
129. Kreneisz O, Benoit JP, Bayliss DA, Mulkey DK. AMP-activated protein kinase inhibits TREK channels. *J Physiol*. 2009;587(Pt 24):5819-30.
130. Medhurst AD, Rennie G, Chapman CG, Meadows H, Duckworth MD, Kellsell RE, et al. Distribution analysis of human two pore domain potassium channels in tissues of the central nervous system and periphery. *Brain Res Mol Brain Res*. 2001;86(1-2):101-14.
131. Noel J, Sandoz G, Lesage F. Molecular regulations governing TREK and TRAAK channel functions. *Channels*. 2011;5(5):402-9.
132. Deng PY, Poudel SK, Rojanathammanee L, Porter JE, Lei S. Serotonin inhibits neuronal excitability by activating two-pore domain k⁺ channels in the entorhinal cortex. *Molecular pharmacology*. 2007;72(1):208-18.
133. Ye D, Li Y, Zhang X, Guo F, Geng L, Zhang Q, et al. TREK1 channel blockade induces an antidepressant-like response synergizing with 5-HT receptor signaling. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015.
134. Chen C, Wang L, Rong X, Wang W, Wang X. Effects of fluoxetine on protein expression of potassium ion channels in the brain of chronic mild stress rats. *Acta Pharm Sin B*. 2015;5(1):55-61.
135. Lu L, Wang W, Peng Y, Li J, Wang L, Wang X. Electrophysiology and pharmacology of tandem domain potassium channel TREK-1 related BDNF synthesis in rat astrocytes. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2014;387(4):303-12.
136. Lee AK, Smart JL, Rubinstein M, Low MJ, Tse A. Reciprocal regulation of TREK-1 channels by arachidonic acid and CRH in mouse corticotropes. *Endocrinology*. 2011;152(5):1901-10.
137. Bittner S, Ruck T, Fernandez-Orth J, Meuth SG. TREK-king the blood-brain-barrier. *Journal of neuroimmune pharmacology : the official journal of the Society on NeuroImmune Pharmacology*. 2014;9(3):293-301.
138. Luscher C, Slesinger PA. Emerging roles for G protein-gated inwardly rectifying potassium (GIRK) channels in health and disease. *Nat Rev Neurosci*. 2010;11(5):301-15.
139. Menard C, Gaudreau P, Quirion R. Signaling pathways relevant to cognition-enhancing drug targets. *Handbook of experimental pharmacology*. 2015;228:59-98.
140. Esteban JA, Shi SH, Wilson C, Nuriya M, Haganir RL, Malinow R. PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity. *Nat Neurosci*. 2003;6(2):136-43.
141. Timmermans W, Xiong H, Hoogenraad CC, Krugers HJ. Stress and excitatory synapses: from health to disease. *Neuroscience*. 2013;248:626-36.
142. Segal-Hayoun Y, Cohen A, Zilberberg N. Molecular mechanisms underlying membrane-potential-mediated regulation of neuronal K2P2.1 channels. *Molecular and cellular neurosciences*. 2010;43(1):117-26.
143. Lamas JA, Fernandez-Fernandez D. Tandem pore TWIK-related potassium channels and neuroprotection. *Neural Regen Res*. 2019;14(8):1293-308.
144. Fink M, Duprat F, Lesage F, Reyes R, Romey G, Heurteaux C, et al. Cloning, functional expression and brain localization of a novel unconventional outward rectifier K⁺ channel. *EMBO J*. 1996;15(24):6854-62.
145. Kennard LE, Chumbley JR, Ranatunga KM, Armstrong SJ, Veale EL, Mathie A. Inhibition of the human two-pore domain potassium channel, TREK-1, by fluoxetine and its metabolite norfluoxetine. *Br J Pharmacol*. 2005;144(6):821-9.
146. Tsai SJ. Sipatrigine could have therapeutic potential for major depression and bipolar depression through antagonism of the two-pore-domain K⁺ channel TREK-1. *Medical hypotheses*. 2008;70(3):548-50.
147. Xi G, Zhang X, Zhang L, Sui Y, Hui J, Liu S, et al. Fluoxetine attenuates the inhibitory effect of glucocorticoid hormones on neurogenesis in vitro via a two-pore domain potassium channel, TREK-1. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;214(3):747-59.

148. Borsotto M, Veyssiere J, Moha Ou Maati H, Devader C, Mazella J, Heurteaux C. Targeting two-pore domain K(+) channels TREK-1 and TASK-3 for the treatment of depression: a new therapeutic concept. *Br J Pharmacol*. 2015;172(3):771-84.
149. Dillon DG, Bogdan R, Fagerness J, Holmes AJ, Perlis RH, Pizzagalli DA. Variation in TREK1 gene linked to depression-resistant phenotype is associated with potentiated neural responses to rewards in humans. *Human brain mapping*. 2010;31(2):210-21.
150. Mazella J, Petrault O, Lucas G, Deval E, Beraud-Dufour S, Gandin C, et al. Spadin, a sortilin-derived peptide, targeting rodent TREK-1 channels: a new concept in the antidepressant drug design. *PLoS biology*. 2010;8(4):e1000355.
151. Moha Ou Maati H, Veyssiere J, Labbal F, Coppola T, Gandin C, Widmann C, et al. Spadin as a new antidepressant: absence of TREK-1-related side effects. *Neuropharmacology*. 2012;62(1):278-88.
152. McEwen BS, Nasca C, Gray JD. Stress Effects on Neuronal Structure: Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41(1):3-23.
153. Romeo RD. The impact of stress on the structure of the adolescent brain: Implications for adolescent mental health. *Brain Res*. 2016.
154. Lytle K, Ohmura Y, Konno K, Yoshida T, Izumi T, Watanabe M, et al. Repeated fluvoxamine treatment recovers juvenile stress-induced morphological changes and depressive-like behavior in rats. *Brain Res*. 2015;1616:88-100.
155. Sandoz G, Levitz J, Kramer RH, Isacoff EY. Optical control of endogenous proteins with a photoswitchable conditional subunit reveals a role for TREK1 in GABA(B) signaling. *Neuron*. 2012;74(6):1005-14.
156. Vertes RP. Interactions among the medial prefrontal cortex, hippocampus and midline thalamus in emotional and cognitive processing in the rat. *Neuroscience*. 2006;142(1):1-20.
157. Vertes RP. Differential projections of the infralimbic and prelimbic cortex in the rat. *Synapse*. 2004;51(1):32-58.
158. Holmes A, le Guisquet AM, Vogel E, Millstein RA, Leman S, Belzung C. Early life genetic, epigenetic and environmental factors shaping emotionality in rodents. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(8):1335-46.
159. WHO. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. In: Organization WH, editor. World Health Organization. Geneva: World Health Organization; 2017.
160. Avenevoli S, Swendsen J, He JP, Burstein M, Merikangas KR. Major depression in the national comorbidity survey-adolescent supplement: prevalence, correlates, and treatment. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2015;54(1):37-44 e2.
161. Chi S, Wang C, Jiang T, Zhu XC, Yu JT, Tan L. The prevalence of depression in Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Current Alzheimer research*. 2015;12(2):189-98.
162. Diller GP, Brautigam A, Kempny A, Uebing A, Alonso-Gonzalez R, Swan L, et al. Depression requiring anti-depressant drug therapy in adult congenital heart disease: prevalence, risk factors, and prognostic value. *Eur Heart J*. 2015.
163. Prins SJ, Bates LM, Keyes KM, Muntaner C. Anxious? Depressed? You might be suffering from capitalism: contradictory class locations and the prevalence of depression and anxiety in the USA. *Sociology of health & illness*. 2015.
164. Kessler RC. Epidemiology of women and depression. *J Affect Disord*. 2003;74(1):5-13.
165. Kitay JI. Sex differences in adrenal cortical secretion in the rat. *Endocrinology*. 1961;68:818-24.
166. Goel N, Workman JL, Lee TT, Innala L, Viau V. Sex differences in the HPA axis. *Compr Physiol*. 2014;4(3):1121-55.
167. Cahill L. Why sex matters for neuroscience. *Nat Rev Neurosci*. 2006;7(6):477-84.
168. Baratta MV, Leslie NR, Fallon IP, Dolzani SD, Chun LE, Tamalunas AM, et al. Behavioural and neural sequelae of stressor exposure are not modulated by controllability in females. *Eur J Neurosci*. 2018;47(8):959-67.
169. Rincon-Cortes M, Herman JP, Lupien S, Maguire J, Shansky RM. Stress: Influence of sex, reproductive status and gender. *Neurobiol Stress*. 2019;10:100155.

170. Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB, Plotsky PM, Monteggia LM. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *Eur J Neurosci*. 2007;25(10):3091-8.
171. Cotella EM, Mestres Lascano I, Franchioni L, Levin GM, Suarez MM. Long-term effects of maternal separation on chronic stress response suppressed by amitriptyline treatment. *Stress*. 2013;16(4):477-81.
172. de Kloet ER, Sibug RM, Helmerhorst FM, Schmidt MV. Stress, genes and the mechanism of programming the brain for later life. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(2):271-81.
173. Borsini F, Meli A. Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology (Berl)*. 1988;94(2):147-60.
174. Bodnoff SR, Suranyi-Cadotte BE, Quirion R, Meaney MJ. Role of the central benzodiazepine receptor system in behavioral habituation to novelty. *Behav Neurosci*. 1989;103(1):209-12.
175. Dulawa SC, Hen R. Recent advances in animal models of chronic antidepressant effects: the novelty-induced hypophagia test. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(4-5):771-83.
176. Ramaker MJ, Dulawa SC. Identifying fast-onset antidepressants using rodent models. *Mol Psychiatry*. 2017;22(5):656-65.
177. Avesar D, Gullledge AT. Selective serotonergic excitation of callosal projection neurons. *Front Neural Circuits*. 2012;6:12.
178. Jackman SL, Regehr WG. The Mechanisms and Functions of Synaptic Facilitation. *Neuron*. 2017;94(3):447-64.
179. Field A. *Discovering Statistics Using SPSS*. 3rd ed. California, USA: SAGE Publications Ltd.; 2009.
180. Wasserstein RL, Schirm AL, Lazar NA. Moving to a World Beyond "p < 0.05". *The American Statistician*. 2019;73(sup1):1-19.
181. Malatynska E, Steinbusch HW, Redkozubova O, Bolkunov A, Kubatiev A, Yeritsyan NB, et al. Anhedonic-like traits and lack of affective deficits in 18-month-old C57BL/6 mice: Implications for modeling elderly depression. *Exp Gerontol*. 2012;47(8):552-64.
182. Levine S. Infantile experience and consummatory behavior in adulthood. *J Comp Physiol Psychol*. 1957;50(6):609-12.
183. Champagne FA, Francis DD, Mar A, Meaney MJ. Variations in maternal care in the rat as a mediating influence for the effects of environment on development. *Physiol Behav*. 2003;79(3):359-71.
184. Lehmann J, Feldon J. Long-term biobehavioral effects of maternal separation in the rat: consistent or confusing? *Rev Neurosci*. 2000;11(4):383-408.
185. Kokras N, Antoniou K, Mikail HG, Kafetzopoulos V, Papadopoulou-Daifoti Z, Dalla C. Forced swim test: What about females? *Neuropharmacology*. 2015;99:408-21.
186. Dalla C, Antoniou K, Kokras N, Drossopoulou G, Papathanasiou G, Bekris S, et al. Sex differences in the effects of two stress paradigms on dopaminergic neurotransmission. *Physiol Behav*. 2008;93(3):595-605.
187. Romeo RD, Patel R, Pham L, So VM. Adolescence and the ontogeny of the hormonal stress response in male and female rats and mice. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;70:206-16.
188. Eiland L, Romeo RD. Stress and the developing adolescent brain. *Neuroscience*. 2013;249:162-71.
189. Dalley JW, Roiser JP. Dopamine, serotonin and impulsivity. *Neuroscience*. 2012;215:42-58.
190. Dalley JW, Theobald DE, Pereira EA, Li PM, Robbins TW. Specific abnormalities in serotonin release in the prefrontal cortex of isolation-reared rats measured during behavioural performance of a task assessing visuospatial attention and impulsivity. *Psychopharmacology (Berl)*. 2002;164(3):329-40.
191. Winstanley CA, Chudasama Y, Dalley JW, Theobald DE, Glennon JC, Robbins TW. Intra-prefrontal 8-OH-DPAT and M100907 improve visuospatial attention and decrease impulsivity on the five-choice serial reaction time task in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2003;167(3):304-14.
192. Eklund MB, Arborelius L. Twice daily long maternal separations in Wistar rats decreases anxiety-like behaviour in females but does not affect males. *Behav Brain Res*. 2006;172(2):278-85.

193. Stroher R, de Oliveira C, Costa Lopes B, da Silva LS, Regner GG, Richardt Medeiros H, et al. Maternal deprivation alters nociceptive response in a gender-dependent manner in rats. *Int J Dev Neurosci*. 2019;76:25-33.
194. Tractenberg SG, Levandowski ML, de Azeredo LA, Orso R, Roithmann LG, Hoffmann ES, et al. An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neurosci Biobehav Rev*. 2016;68:489-503.
195. Freund N, Thompson BS, Denormandie J, Vaccarro K, Andersen SL. Windows of vulnerability: maternal separation, age, and fluoxetine on adolescent depressive-like behavior in rats. *Neuroscience*. 2013;249:88-97.
196. Renard GM, Rivarola MA, Suarez MM. Sexual dimorphism in rats: effects of early maternal separation and variable chronic stress on pituitary-adrenal axis and behavior. *Int J Dev Neurosci*. 2007;25(6):373-9.
197. Matthews K, Wilkinson LS, Robbins TW. Repeated maternal separation of preweanling rats attenuates behavioral responses to primary and conditioned incentives in adulthood. *Physiol Behav*. 1996;59(1):99-107.
198. Marco EM, Llorente R, Lopez-Gallardo M, Mela V, Llorente-Berzal A, Prada C, et al. The maternal deprivation animal model revisited. *Neurosci Biobehav Rev*. 2015;51:151-63.
199. Ellenbroek BA, Derks N, Park HJ. Early maternal deprivation retards neurodevelopment in Wistar rats. *Stress*. 2005;8(4):247-57.
200. Bland ST, Hargrave D, Pepin JL, Amat J, Watkins LR, Maier SF. Stressor controllability modulates stress-induced dopamine and serotonin efflux and morphine-induced serotonin efflux in the medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28(9):1589-96.
201. Grahn RE, Will MJ, Hammack SE, Maswood S, McQueen MB, Watkins LR, et al. Activation of serotonin-immunoreactive cells in the dorsal raphe nucleus in rats exposed to an uncontrollable stressor. *Brain Res*. 1999;826(1):35-43.
202. Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Salway P, Busby SJ. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. *J Comp Neurol*. 2005;492(2):145-77.
203. Amat J, Matus-Amat P, Watkins LR, Maier SF. Escapable and inescapable stress differentially alter extracellular levels of 5-HT in the basolateral amygdala of the rat. *Brain Res*. 1998;812(1-2):113-20.
204. Franklin TB, Linder N, Russig H, Thony B, Mansuy IM. Influence of early stress on social abilities and serotonergic functions across generations in mice. *PLoS One*. 2011;6(7):e21842.
205. Fogaca MV, Reis FM, Campos AC, Guimaraes FS. Effects of intra-prelimbic prefrontal cortex injection of cannabidiol on anxiety-like behavior: involvement of 5HT1A receptors and previous stressful experience. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2014;24(3):410-9.
206. Feder A, Nestler EJ, Charney DS. Psychobiology and molecular genetics of resilience. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):446-57.
207. Hasler G, Drevets WC, Manji HK, Charney DS. Discovering endophenotypes for major depression. *Neuropsychopharmacology*. 2004;29(10):1765-81.
208. Gee DG, Humphreys KL, Flannery J, Goff B, Telzer EH, Shapiro M, et al. A developmental shift from positive to negative connectivity in human amygdala-prefrontal circuitry. *J Neurosci*. 2013;33(10):4584-93.
209. Callaghan BL, Richardson R. Maternal separation results in early emergence of adult-like fear and extinction learning in infant rats. *Behav Neurosci*. 2011;125(1):20-8.
210. Gee DG, Gabard-Durnam LJ, Flannery J, Goff B, Humphreys KL, Telzer EH, et al. Early developmental emergence of human amygdala-prefrontal connectivity after maternal deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(39):15638-43.
211. Bocchio M, McHugh SB, Bannerman DM, Sharp T, Capogna M. Serotonin, Amygdala and Fear: Assembling the Puzzle. *Front Neural Circuits*. 2016;10:24.
212. Ishikawa C, Shiga T. The postnatal 5-HT1A receptor regulates adult anxiety and depression differently via multiple molecules. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017;78:66-74.

213. Pollandt S, Drephal C, Albrecht D. 8-OH-DPAT suppresses the induction of LTP in brain slices of the rat lateral amygdala. *Neuroreport*. 2003;14(6):895-7.
214. Sardari M, Rezayof A, Zarrindast MR. 5-HT_{1A} receptor blockade targeting the basolateral amygdala improved stress-induced impairment of memory consolidation and retrieval in rats. *Neuroscience*. 2015;300:609-18.
215. Palacios JM. Serotonin receptors in brain revisited. *Brain Res*. 2016;1645:46-9.
216. Schmitz D, Gloveli T, Empson RM, Draguhn A, Heinemann U. Serotonin reduces synaptic excitation in the superficial medial entorhinal cortex of the rat via a presynaptic mechanism. *J Physiol*. 1998;508 (Pt 1):119-29.
217. Schiller L, Jahkel M, Kretschmar M, Brust P, Oehler J. Autoradiographic analyses of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors after social isolation in mice. *Brain Res*. 2003;980(2):169-78.
218. Samuels BA, Anacker C, Hu A, Levinstein MR, Pickenhagen A, Tsetsenis T, et al. 5-HT_{1A} receptors on mature dentate gyrus granule cells are critical for the antidepressant response. *Nat Neurosci*. 2015;18(11):1606-16.
219. Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*. 2003;301(5634):805-9.
220. Djillani A, Mazella J, Heurteaux C, Borsotto M. Role of TREK-1 in Health and Disease, Focus on the Central Nervous System. *Front Pharmacol*. 2019;10:379.
221. Sharp BM. Basolateral amygdala and stress-induced hyperexcitability affect motivated behaviors and addiction. *Transl Psychiatry*. 2017;7(8):e1194.
222. Terburg D, Morgan BE, Montoya ER, Hooge IT, Thornton HB, Hariri AR, et al. Hypervigilance for fear after basolateral amygdala damage in humans. *Transl Psychiatry*. 2012;2:e115.
223. Prager EM, Bergstrom HC, Wynn GH, Braga MF. The basolateral amygdala gamma-aminobutyric acidergic system in health and disease. *J Neurosci Res*. 2016;94(6):548-67.
224. Eichenbaum H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat Rev Neurosci*. 2000;1(1):41-50.
225. Kronmüller KT, Pantel J, Kohler S, Victor D, Giesel F, Magnotta VA, et al. Hippocampal volume and 2-year outcome in depression. *Br J Psychiatry*. 2008;192(6):472-3.
226. Yun S, Reynolds RP, Petrof I, White A, Rivera PD, Segev A, et al. Stimulation of entorhinal cortex-dentate gyrus circuitry is antidepressive. *Nat Med*. 2018;24(5):658-66.
227. Ribak CE, Shapiro LA. Ultrastructure and synaptic connectivity of cell types in the adult rat dentate gyrus. *Prog Brain Res*. 2007;163:155-66.
228. Valenti O, Grace AA. Entorhinal cortex inhibits medial prefrontal cortex and modulates the activity states of electrophysiologically characterized pyramidal neurons in vivo. *Cereb Cortex*. 2009;19(3):658-74.
229. Sanberg CD, Jones FL, Do VH, Dieguez D, Jr., Derrick BE. 5-HT_{1A} receptor antagonists block perforant path-dentate LTP induced in novel, but not familiar, environments. *Learn Mem*. 2006;13(1):52-62.
230. Melzer S, Michael M, Caputi A, Eliava M, Fuchs EC, Whittington MA, et al. Long-range-projecting GABAergic neurons modulate inhibition in hippocampus and entorhinal cortex. *Science*. 2012;335(6075):1506-10.
231. Liu W, Ge T, Leng Y, Pan Z, Fan J, Yang W, et al. The Role of Neural Plasticity in Depression: From Hippocampus to Prefrontal Cortex. *Neural Plast*. 2017;2017:6871089.
232. Li N, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M, et al. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*. 2010;329(5994):959-64.
233. Gerhard DM, Wohleb ES, Duman RS. Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity. *Drug Discov Today*. 2016;21(3):454-64.
234. Carhart-Harris RL, Nutt DJ. Serotonin and brain function: a tale of two receptors. *J Psychopharmacol*. 2017;31(9):1091-120.
235. Weng W, Chen Y, Wang M, Zhuang Y, Behnisch T. Potentiation of Schaffer-Collateral CA1 Synaptic Transmission by eEF2K and p38 MAPK Mediated Mechanisms. *Front Cell Neurosci*. 2016;10:247.

236. Hu B, Doods H, Treede RD, Ceci A. Duloxetine and 8-OH-DPAT, but not fluoxetine, reduce depression-like behaviour in an animal model of chronic neuropathic pain. *Neurosci Lett*. 2016;619:162-7.
237. Qi X, Xu H, Wang L, Zhang Z. Comparison of Therapeutic Effects of TREK1 Blockers and Fluoxetine on Chronic Unpredicted Mild Stress Sensitive Rats. *ACS Chem Neurosci*. 2018;9(11):2824-31.
238. Fagni L, Dumuis A, Sebben M, Bockaert J. The 5-HT₄ receptor subtype inhibits K⁺ current in colliculi neurones via activation of a cyclic AMP-dependent protein kinase. *Br J Pharmacol*. 1992;105(4):973-9.
239. Beique JC, Campbell B, Perring P, Hamblin MW, Walker P, Mladenovic L, et al. Serotonergic regulation of membrane potential in developing rat prefrontal cortex: coordinated expression of 5-hydroxytryptamine (5-HT)_{1A}, 5-HT_{2A}, and 5-HT₇ receptors. *J Neurosci*. 2004;24(20):4807-17.
240. Ye D, Li Y, Zhang X, Guo F, Geng L, Zhang Q, et al. TREK1 channel blockade induces an antidepressant-like response synergizing with 5-HT_{1A} receptor signaling. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015;25(12):2426-36.
241. Lin DH, Zhang XR, Ye DQ, Xi GJ, Hui JJ, Liu SS, et al. The Role of the Two-Pore Domain Potassium Channel TREK-1 in the Therapeutic Effects of Escitalopram in a Rat Model of Poststroke Depression. *CNS Neurosci Ther*. 2015;21(6):504-12.
242. Moha ou Maati H, Bourcier-Lucas C, Veyssiere J, Kanzari A, Heurteaux C, Borsotto M, et al. The peptidic antidepressant spadin interacts with prefrontal 5-HT₄ and mGluR₂ receptors in the control of serotonergic function. *Brain Struct Funct*. 2016;221(1):21-37.
243. Hirsch JC, Crepel F. Use-dependent changes in synaptic efficacy in rat prefrontal neurons in vitro. *J Physiol*. 1990;427:31-49.
244. Matsuda Y, Marzo A, Otani S. The presence of background dopamine signal converts long-term synaptic depression to potentiation in rat prefrontal cortex. *J Neurosci*. 2006;26(18):4803-10.
245. Vickery RM, Morris SH, Bindman LJ. Metabotropic glutamate receptors are involved in long-term potentiation in isolated slices of rat medial frontal cortex. *J Neurophysiol*. 1997;78(6):3039-46.
246. Devader C, Khayachi A, Veyssiere J, Moha Ou Maati H, Roulot M, Moreno S, et al. In vitro and in vivo regulation of synaptogenesis by the novel antidepressant spadin. *Br J Pharmacol*. 2015;172(10):2604-17.
247. Schwippel T, Schroeder PA, Fallgatter AJ, Plewnia C. Clinical review: The therapeutic use of theta-burst stimulation in mental disorders and tinnitus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;92:285-300.