

Université de Montréal

**Mécanismes cellulaires de l'induction du facteur de
transcription *Nur77* après un traitement aux
antipsychotiques**

par

Jérôme Maheux

Faculté de Pharmacie

Thèse présentée à la Faculté de Pharmacie
en vue de l'obtention du grade de Ph.D.
en Sciences Pharmaceutiques
option Pharmacologie

Février, 2012

© Jérôme Maheux, 2012

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée:

Mécanismes cellulaires de l'induction du facteur de transcription *Nur77* après un traitement
aux antipsychotiques

Présentée par :
Jérôme Maheux

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Céline Fiset, présidente-rapporteuse
Daniel Lévesque, directeur de recherche
Denis deBlois, membre du jury
Brunos Giros, examinateur externe
Emmanuel Cauchois, représentant du doyen de la FES

Résumé

Les antipsychotiques sont utilisés en clinique depuis plus de 50 ans pour pallier aux symptômes de la schizophrénie. Malgré une recherche intensive, les mécanismes cellulaires et moléculaires responsables de l'effet clinique de cette médication demeurent encore nébuleux. Ces drogues sont reconnues comme des antagonistes des récepteurs D_2 de la dopamine et peuvent moduler la transcription génique dans le striatum. Au cours des recherches qui ont mené à l'écriture de cette thèse, nous avons exploré l'expression de *Nur77*, un facteur de transcription de la famille des récepteurs nucléaires, afin de caractériser le rôle de la dopamine, la sérotonine, l'adénosine et le glutamate dans la régulation génique contrôlée par les antagonistes D_2 . En premier lieu, nous avons examiné l'impact de la co-administration d'agents sérotonergiques et adrénergiques sur l'expression de l'ARNm de *Nur77* induite par l'halopéridol, un antipsychotique de première génération. Nous avons observé que le 8-OH-DPAT et le MDL11939 préviennent partiellement l'induction de *Nur77* dans le striatum. Au contraire, l'idazoxan potentialise l'effet de l'halopéridol sur l'expression de *Nur77* alors que le prazosin reste sans effet. Ces résultats démontrent que l'expression striatale de *Nur77* induite par l'halopéridol peut être modulée à la baisse avec un agoniste $5-HT_{1A}$ ou un antagoniste $5-HT_{2A}$. Par la suite, nous avons évalué dans divers paradigmes expérimentaux l'effet de l'étiopride, un antagoniste spécifique D_2 , afin d'explorer davantage le mécanisme de l'effet transcriptionnel des antagonistes D_2 . Étonnamment, la suppression de l'isoforme D_{2L} chez la souris D2L KO ne réduit pas la réponse de l'étiopride dans le striatum. Par contre, une lésion corticale avec l'acide iboténique bloque l'effet de l'étiopride sur la transcription de *Nur77*, suggérant un rôle du glutamate. La combinaison d'un antagoniste des récepteurs métabotropes du glutamate de types 5 (mGluR5) et d'un antagoniste des récepteurs de l'adénosine A_{2A} abolit complètement l'augmentation de la transcription de *Nur77* induit par l'étiopride dans le striatum. La modulation directe de l'expression striatale de *Nur77* par les récepteurs mGluR5 et A_{2A} a été confirmée dans un modèle de cultures organotypiques de tranches cérébrales. Ces résultats démontrent clairement que la modulation de l'expression génique

dans le striatum, à la suite d'un traitement avec un antagoniste D₂ pourrait être indépendante d'une interaction directe avec les récepteurs D₂ post-synaptiques, et reposerait plutôt sur son interaction avec les récepteurs D₂ hétérosynaptiques des afférences corticostriées et l'activation subséquente des récepteurs post-synaptiques du glutamate et de l'adénosine. En résumé, nos résultats suggèrent que l'interaction des antipsychotiques atypiques avec les récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{1A} pourrait expliquer la différence dans le patron d'expression génique induit par ces drogues en comparaison avec les antipsychotiques typiques. De plus, nos résultats révèlent un nouveau mécanisme d'action des antagonistes D₂ et supportent un rôle primordial du glutamate et de l'adénosine dans les effets des antipsychotiques de première génération.

Mots-clés : Schizophrénie, antipsychotique, striatum, dopamine, sérotonine, D₂, mGluR5, A_{2A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{1A}, voie corticostriée

Abstract

Antipsychotic drugs have been used to alleviate schizophrenia symptoms for more than 50 years. Despite extensive research, little is known about the molecular and cellular mechanism responsible for their clinical outcome. These drugs are usually recognized as dopamine D₂ antagonists and are known to modulate gene expression in the striatum. In the present thesis, we used the expression of *Nur77*, a transcription factor of the orphan nuclear receptor family, to explore the role of dopamine, serotonin, glutamate and adenosine receptors in the effect of a dopamine D₂ antagonist in the striatum. First, we examined the abilities of serotonergic and adrenergic receptor drugs to modify the pattern of *Nur77* mRNA expression induced by haloperidol, a first generation antipsychotic drug. We observed that 8-OH-DPAT and MDL11939 partially prevent haloperidol-induced *Nur77* upregulation. On the contrary, idazoxan consistently potentiated haloperidol-induced *Nur77* mRNA levels in the striatum whereas prazosin remained without effect. Taken together, these results show the ability of a 5-HT_{1A} agonist or a 5-HT_{2A} antagonist to reduce haloperidol-induced *Nur77* striatal expression. Subsequently, we evaluated in different experimental designs the effect of eticlopride, a specific D₂ antagonist, to provide additional information on the mechanism by which D₂ antagonist controls transcriptional activity in the striatum. Surprisingly, deletion of the D_{2L} receptor isoform did not reduce eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA levels in the striatum. However, cortical lesions with ibotenic acid strongly reduced eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA, suggesting a role for glutamate neurotransmission. A combination of a metabotropic glutamate type 5 (mGluR5) antagonist with an antagonist of its synergistic partner adenosine A_{2A} receptor abolished eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA levels in the striatum. Direct modulation of striatal *Nur77* expression by glutamate and adenosine receptors was confirmed using corticostriatal organotypic cultures. Taken together, these results indicate that modulation of gene expression in the striatum, following a D₂ antagonist, might not involve a direct interaction of the drug at postsynaptic D₂ receptors, but rather relies on its interaction with corticostriatal presynaptic D₂ receptors

and subsequent activation of postsynaptic glutamate and adenosine receptors in the striatum. In summary, our results suggest that interaction of atypical antipsychotic drugs with 5-HT_{2A} and 5-HT_{1A} receptors participate in the differential pattern of gene expression induced by these drugs when compared with typical antipsychotic drugs. Moreover, our results uncover a new mechanism of action of D₂ antagonists and support a prominent role of glutamate and adenosine in the effect of classic antipsychotic drugs.

Keywords : Schizophrenia, antipsychotic drugs, striatum, dopamine, serotonin, D₂, mGluR5, A_{2A}, 5-HT_{2A}, 5-HT_{1A}, corticostriatal pathway.

Table des matières

Résumé	i
Abstract.....	iii
Table des matières.....	v
Liste des tableaux	viii
Liste des figures.....	ix
Liste des abréviations.....	x
Remerciements	xv
Introduction	1
Chapitre 1 : Le Striatum	2
1.1 Les ganglions de la base.....	2
1.2 Anatomie du striatum.....	4
1.3 L'innervation dopaminergique du striatum.....	7
1.3.1 Les récepteurs dopaminergiques	9
1.3.1.1 Signalisation.....	10
1.3.1.2 Localisation	13
1.3.2 Modulation physiologique de la dopamine dans le striatum.....	15
1.4 L'acétylcholine.....	17
1.5 L'adénosine comme neuromodulateur	19
1.6 L'innervation sérotonergique et adrénergique	20
1.6.1 Les récepteurs sérotonergiques	22
1.6.2 La norépinephrine	24
1.7 L'innervation glutamatergique du striatum.....	24
1.7.1 Les récepteurs ionotropes du glutamate.....	25
1.7.2 Les récepteurs métabotropes du glutamate	27
1.8 La plasticité synaptique dans le striatum	29
Chapitre 2 : La schizophrénie et les antipsychotiques.....	36
2.1 Symptomatologie, étiologie et épidémiologie.....	36

2.1.1 L'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie	38
2.1.2 L'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie	40
2.2 Les antipsychotiques	41
2.2.1 Les antipsychotiques typiques ou de première génération.....	41
2.2.2 Les antipsychotiques atypiques ou de seconde génération	43
2.2.3 Les antipsychotiques de la prochaine génération?	47
Chapitre 3 : Les facteurs de transcription	49
3.1 La famille des <i>Nurs</i>	50
Chapitre 4 : Objectif général	56
4.1 Objectifs spécifiques	56
4.1.1 Caractérisation des composantes sérotonergique et adrénergique dans l'augmentation de l'ARNm de <i>Nur77</i> induite par l'halopéridol	56
4.1.2 Implication de la neurotransmission glutamatergique dans la modulation de la transcription de l'ARNm de <i>Nur77</i> modulée par les antagonistes D ₂	57
Chapitre 5 : Caractérisation des composantes sérotonergique et adrénergique dans l'augmentation de l'ARNm de <i>Nur77</i> induite par l'halopéridol.....	59
5.1 Contribution du candidat.....	59
5.2 Article #1 : Modulation of haloperidol-induced patterns of the transcription factor <i>Nur77</i> and <i>Nor-1</i> expression by serotonergic and adrenergic drugs in the mouse brain	60
Chapitre 6 : Implication de la neurotransmission glutamatergique dans la modulation de la transcription de l'ARNm de <i>Nur77</i> modulée par les antagonistes D₂	93
6.1 Contribution du candidat.....	93
6.2 Article #2 : Dopamine D2 antagonist-induced striatal gene expression requires activation of mGluR5 receptors by cortical afferents	94
Chapitre 7 : Discussion complémentaire et conclusions	128
7.1 Les récepteurs A _{2A} et mGluR5, rôle potentiel dans le mécanisme d'action des APD	129
7.2 D ₂ hétérosynaptique ou postsynaptique?	131

7.3 Comment l'expression de <i>Nur77</i> est-elle induite dans les D ₂ -MSN?	135
7.4 Réconcilier l'effet des récepteurs sérotonergiques avec ceux du glutamate et de l'adénosine.	139
7.5 Quel est le rôle de l'induction de l'ARNm de <i>Nur77</i> ?.....	140
7.8 Perspectives.....	141
7.9 Conclusion.....	144
Bibliographie	145

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux antipsychotiques typiques

Tableau 2 : Principaux antipsychotiques atypiques

Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique des ganglions de la base (GB).	3
Figure 2 : Types cellulaires et organisation fonctionnelle du striatum de rongeur.	6
Figure 3 : Étapes de biosynthèse de la dopamine.....	8
Figure 4 : Signalisation dopaminergique.	11
Figure 5 : Localisation des récepteurs dopaminergiques et muscariniques.	18
Figure 6 : Étapes de biosynthèse de la sérotonine.....	21
Figure 7 : Plasticité à long terme dans les deux populations de MSN.	34
Figure 8 : Schématisation des différentes activités transcriptionnelles de <i>Nur77</i>	51
Figure 9 : Induction de l'ARNm de <i>Nur77</i> par les différents antipsychotiques.	53

Liste des abréviations

5-HT :	Sérotonine
8-OH-DPAT :	8-Hydroxy- <i>N,N</i> -dipropyl-2-aminotetralin
AC :	Adénylate cyclase
AcC :	Core of the nucleus accumbens
AcSh :	Shell of the nucleus accumbens
ACTB :	β -actin
ADN :	Acide désoxyribonucléique
ADP :	Adénosine diphosphate
AMPc :	Adénosine monophosphate cyclique
APD :	Antipsychotiques (antipsychotic drugs)
ARN :	Acide ribonucléique
ATP :	Adénosine triphosphate
BAC :	Bacterial artificial chromosomes
BDNF :	Brain-derived neurotrophic factor
CaMKII :	Calcium/Calmodulin-dependent kinase II
CC :	Cingulate cortex
CDK5 :	Cyclin-dependent protein kinase 5
CHPG :	(RS)-2-Chloro-5-hydroxyphenylglycine sodium salt
COMT :	Catechol-O-methyltransferase
CR :	Calrétinine
CREB :	Cyclic AMP response element-binding protein
Ct :	Cycle thresholds
DAG :	Diacyl glycérol
DARPP-32 :	Dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein, 32kDa
DAT :	Transporteur de la dopamine
DHA :	Acide docosahexaénoïque
DHPG :	(RS)-3,5-dihydroxyphenylglycine

DOI :	2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine
DOPA :	Dihydroxyphenylalanine
DYN :	Dynorphine
EAAT :	Excitatory amino acid transporter
EC :	Endocannabinoïdes
ENK :	Enképhaline
Epac :	Exchange protein directly activated by cAMP
ERK :	Extracellular signal-regulated kinases
ETI :	Eticlopride
FBS :	Fetal bovine serum
FGF :	Fibroblast growth factor
FSI :	Interneurone à haute fréquence de décharge (Fast spiking interneuron)
GABA :	Acide γ -aminobutyrique
GAPDH :	Glyceraldehyde-3-phosphate
GB :	Ganglions de la base
GFP :	Protéine fluorescente verte (Green fluorescent protein)
GPCR :	Récepteur couplé aux protéine G (G-protein coupled receptors)
GPe :	Segment externe du globus pallidus
GPi :	Segment interne du globus pallidus
GSK-3 :	Kinase de glycogène synthétase – 3
HAL :	Haloperidol
HPRT1 :	Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase
HVA :	Acide homovallinique
IDAZ :	Idazoxan
IEG :	Immediate early gene
IP3 :	Inositol triphosphate
LTD :	Dépression à long-terme
LTP :	Potentialisation à long-terme
LTS :	Interneurone à faible seuil de décharge (Low-threshold spiking interneuron)
M1 :	Primary motor cortex

mAchR :	Récepteur muscarinique de l'acétycholine
MAO :	Monoamine oxydase
MAP :	Mitogen-activated protein kinases
MEF-2 :	Myocyte Enhancer Factor-2
mGluR :	Récepteur métabotrope du glutamate
MPEP :	2-methyl-6-(phenylethynyl)pyridine hydrochloride
mPFC :	Medial prefrontal cortex
MSK1 :	Mitogen and stress-activated kinases 1
MSN :	Neurones épineux moyen (Medium Spiny Neurons)
nAchR :	Récepteur nicotinique de l'acétycholine
NBRE :	NGFI-B responsive element
NE :	Norépinéphrine
NGFI-B :	Nerve growth factor inducible gene B
NMDA :	N-méthyl-D-Aspartate
NPY :	Neuropeptide Y
NST :	Noyau sous-thalamique
OLAN :	Olanzapine
PCP :	Phencyclidine
PKA :	Protéine kinase A
PKC :	Protéine kinase C
PLC :	Phospholipase C
PPN :	Noyau pédonculopontine
PRZ :	Prazosin
PTEN :	Phosphatase and tensin homolog
PV :	Parvalbumine
RA :	Acide rétinoïque
RAC :	Raclopride
RSK :	Ribosomal S6 Kinase
RXR :	Récepteur X des rétinoïdes
SCO :	Scopolamine

SEM :	Standard error of the mean
SEP :	Symptômes extrapyramidaux
SERT :	Transporteur de la sérotonine
SNe :	Substance noire compacte
SNC :	Système nerveux central
SNr :	Substance noire réticulée
SOM :	Somatostatine
StDL :	Dorsolateral striatum
StDM :	Dorsomedial striatum
STEP :	Striatal-enriched tyrosin phosphatase
StVL :	Ventrolateral striatum
StVM :	Ventromedial striatum
TBOA :	(3S)-3-[[3-[[4-(trifluoromethyl)benzoyl]amino]phenyl]methoxy]-L-aspartic acid
TBP :	TATA binding protein
TH :	Tyrosine hydroxylase
VCM :	Vacuous chewing movements
VEH :	Véhicule
vGlut1 :	Transporteur vésiculaire du glutamate
VTA :	Aire tegmentaire ventrale

À Carolyne, ma flamme dans la nuit.

Remerciements

En préambule à cette thèse, je souhaiterais adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes sans lesquelles rien de tout cela n'aurait été possible. Je tiens à remercier sincèrement Daniel Lévesque, qui, en tant que directeur de recherche, s'est toujours montré à l'écoute, très disponible, impliqué, aidant et inspirant tout au long de la réalisation de mes recherches. J'aimerais le remercier particulièrement pour son aide à étoffer, très tôt, mon dossier de recherche et pour m'avoir laissé beaucoup de liberté scientifique. Je tiens aussi à souligner les multiples discussions scientifiques que j'ai eues avec lui et qui ont contribué à l'essor de mon esprit scientifique et critique. Je voudrais remercier aussi les collaborateurs, Dr. Emiliana Borrelli et Dr. Pierre-Paul Rompré, pour leur aide précieuse dans certaines expériences de mon projet. Mes remerciements s'adressent ensuite à Marc-Olivier Ratté pour son appui autant professionnel que personnel, ainsi qu'aux autres membres du laboratoire soit; Souha Mahmoudi, David Voyer, Emmanuelle Bourhis et récemment Xavier Giner. Une mention particulière doit être faite aux stagiaires d'été, Laura Vuillier et Mylène Mahfouz, chez qui le sens des responsabilités et la motivation au travail m'ont agréablement surpris. J'exprime ma gratitude à Gregory Dal-Bo pour son temps précieux et sa patience à réaliser des expériences « DIY » qui n'ont jamais vraiment mené à des résultats concrets. Je remercie également les autres étudiants de la Faculté qui m'ont conseillé durant mes études doctorales, Simon-Pierre Gravel et Jean-François Clément ainsi que tous les autres confrères et consoeurs sans lesquels la vie à la Faculté n'aurait jamais été aussi amusante : je pense ici à Nicolas Bertrand, Simon Moreau, Julie-Émilie Huot-Marchand, Marielle Doyon, François Gaudreault, Tasheen Wissanji, Anne Nguyen, Nicolas Montpas, Avril Gouault Laliberté et Jean-Philippe Bergeron. Je remercie mes amis proches! Je n'oublie surtout pas mes parents pour leur soutien moral, leur compréhension et leur confiance. Finalement, je remercie ma copine, Carolyne, pour sa grande patience et sa compréhension. Pour m'avoir donné l'espoir et le réconfort dans les moments plus sombres. Pour me donner le sourire chaque jour. Pour me faire oublier les mauvais jours. Sans toi, tout aurait été plus difficile... Merci!

Introduction

Le striatum est sans équivoque l'une des plus grandes structures anatomiques du cerveau. Comme vous le constaterez à la lecture de cet ouvrage, il est au cœur d'une multitude de fonctions cérébrales. De par sa localisation centrale et par la multitude d'afférences externes qu'il reçoit, les caractéristiques anatomiques, physiologiques et fonctionnelles de cette structure sont très complexes. Afin de faciliter la compréhension du lecteur, nous amorçons cet écrit par une brève description du système dont le striatum fait partie, suivie d'une description anatomique de sa composition neuronale. Par la suite, les systèmes afférents majeurs de neurotransmission seront décrits en détail pour mener subséquentement au sujet clinique qui guide notre recherche : la schizophrénie et sa médication. Le striatum joue un rôle majeur dans les mécanismes d'action des médicaments antipsychotiques et c'est la raison pour laquelle une description exhaustive de cette structure se retrouve dans l'introduction de cette thèse. La suite de cet ouvrage présentera les objectifs de recherche et les résultats que nous avons recueillis durant les cinq années de mes études doctorales.

Chapitre 1 : Le Striatum

1.1 Les ganglions de la base

Les ganglions de la base (GB) sont un réseau complexe de noyaux sous corticaux importants dans le processus de prise de décision, l'apprentissage et l'exécution des mouvements. Un désordre dans la régulation de ce système entraîne un éventail de troubles du mouvement allant de l'akinésie, comme dans la maladie de Parkinson, jusqu'à l'hyperkinésie, comme dans les mouvements choréiques (maladie de Huntington) ou les dyskinésies. Notre compréhension de la fonction des GB vient principalement des manifestations cliniques observées chez les patients atteints de la maladie de Parkinson ou de la maladie de Huntington et forme le modèle classique de Albin-DeLong (Albin et al., 1989; DeLong, 1990).

Les GB sont formés des noyaux caudé et putamen (aussi appelé striatum chez les rongeurs), des segments interne (GPi) et externe (GPe) du globus pallidus, du noyau sous-thalamique (NST) ainsi que de la substance noire réticulée (SNr) et compacte (SNc) (figure 1). Essentiellement, la majorité des aires corticales sensorielles, motrices et associatives projettent au striatum (McGeorge and Faull, 1989). Ces afférences glutamatergiques forment des connexions excitatrices sur les neurones du striatum. De là, l'information se propage au reste des GB via deux voies distinctes, les voies striatonigrale et striatopallidale. La voie striatonigrale, aussi appelée voie directe, est formée d'une partie des neurones de projection du striatum qui envoient leurs projections axonales directement sur les neurones du GPi et SNc en y formant des connexions GABAergiques inhibitrices. Ces neurones de la voie directe envoient aussi quelques collatérales sur les neurones du GPe. La voie striatopallidale, par contre, est formée de l'autre partie des neurones striataux de projection qui innervent plutôt vers le GPe. La voie indirecte retourne ensuite vers les portes de sortie des GB (GPi/SNr) par l'intermédiaire d'un relai bisynaptique qui fait intervenir les neurones glutamatergiques du NST, formant ainsi deux voies parallèles dans le striatum.

L'activité intrinsèque des neurones de ce système crée un mécanisme qui permet à la voie striatopallidale et striatonigrale de moduler de façon bidirectionnelle l'excitabilité des noyaux GPi/SNr, qui eux régulent l'activité du thalamus. Ainsi, la voie striatopallidale excite, par désinhibition, alors que la voie striatonigrale inhibe la boucle qui constitue la voie cortico-GB-thalamocorticale.

Circuit des Ganglions de la base

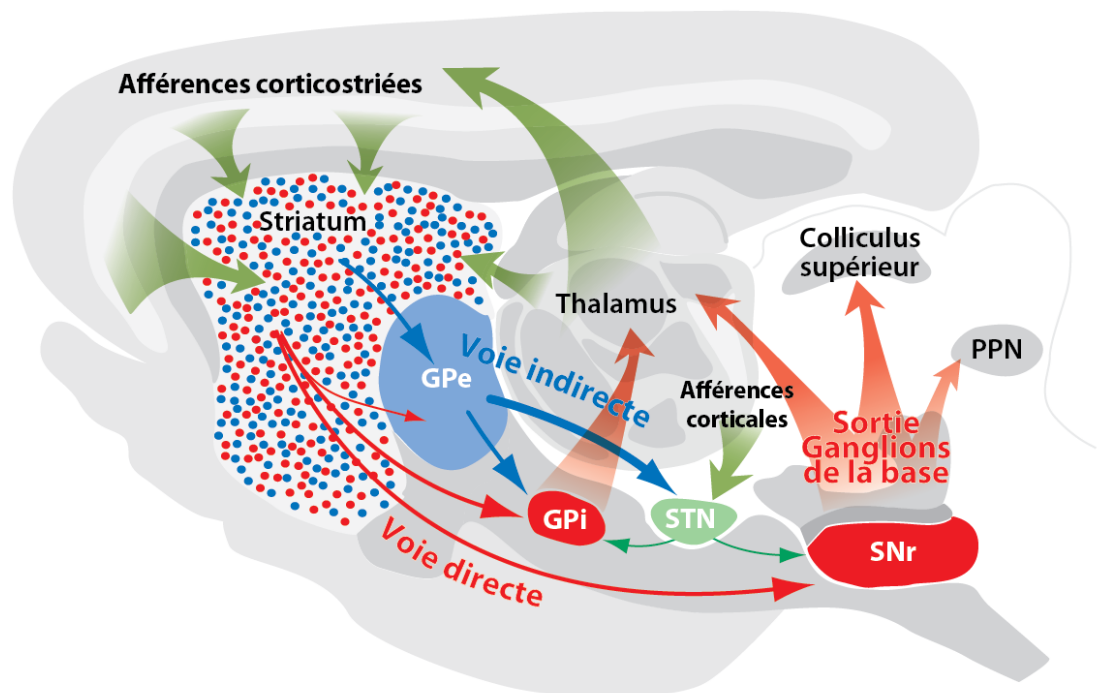


Figure 1 : Représentation schématique des ganglions de la base (GB).

Le striatum reçoit les afférences glutamatergiques du cortex et du thalamus (*en vert*). Les portes de sortie des GB proviennent du segment interne du globus pallidus (GPi) et de la substance noire réticulée (SNr) et projettent vers le thalamus, le colliculus supérieur et le noyau pendunculopontine (PPN). La voie directe commence avec les neurones épineux moyens du striatum (*en rouge*) et innerve les noyaux qui forment les voies de sortie. La voie indirecte est initiée par les neurones épineux moyens du striatum (*en bleu*) et innerve le GPe. Cette structure projette subséquemment au noyau sous-thalamique (STN) qui termine le circuit en se connectant sur les portes de sortie des GB (adapté de (Gerfen and Surmeier, 2011))

Le modèle d'Albin-DeLong postule qu'une augmentation d'activité de la voie directe facilite les mouvements alors que l'activation de la voie indirecte les inhibe. Cette représentation est simplifiée, mais plusieurs observations récentes utilisant des technologies de pointe ont confirmé la véracité de ce modèle (Durieux et al., 2009; Kravitz et al., 2010; Lerner and Kreitzer, 2011) du moins dans les régions dorsales du striatum. Les interprétations plus complexes du modèle expliquent que l'activation de la voie directe sert plutôt à sélectionner les mouvements volontaires alors que les mouvements qui se retrouvent en compétition avec un autre en cours sont inhibés par l'activation de la voie indirecte (Mink, 1996). Bien que ce modèle satisfasse plusieurs observations expérimentales, il ne parvient pas à les expliquer entièrement et comporte certaines limites (revue dans (DeLong and Wichmann, 2009)). De façon strictement anatomique, le schéma est beaucoup plus complexe. Il existe, par exemple, des connexions neuronales directes entre le thalamus et le striatum, ainsi qu'entre le cortex et le NST qui pourraient en quelque sorte fournir de l'information aux régions cibles sans avoir à passer par les filtres normalement nécessaires. Le rôle de ces voies n'est pas tout à fait défini, mais suggère tout de même une complexité supérieure au modèle présenté par Albin-DeLong des années 1989-1990.

1.2 Anatomie du striatum

Quoi qu'il en soit, il est accepté que le striatum soit à la base de l'intégration de l'information des GB. Il procède à l'évaluation des plans moteurs possibles localisés dans les modalités corticales et fournit ensuite une recommandation au cortex par l'intermédiaire du thalamus sur la marche à suivre en se basant à la fois sur l'état émotionnel, sensoriel et motivationnel ainsi que sur les expériences passées (Surmeier et al., 2011). Cette structure est d'autant plus complexe de par son organisation que par la diversité des afférences qui l'innervent. Plusieurs neurotransmetteurs et neuromodulateurs interviennent dans les

propriétés intrinsèques du striatum et jouent un rôle primordial dans la capacité d'intégration de l'information de celui-ci.

Anatomiquement, le striatum est composé de plusieurs types différents de neurones. Les plus nombreux (~ 95%) sont les neurones GABAergiques de projections qui forment les voies directe et indirecte. Ils sont communément appelés selon leurs formes anatomiques, neurones épineux moyens (MSN), puisqu'ils sont de moyennes tailles et que leurs dendrites sont fournies d'épines (Wilson, 2004) (figure 2a). Les interneurones sont beaucoup moins nombreux et peuvent être caractérisés anatomiquement en interneurones GABAergiques de moyennes tailles ou cholinergiques de grandes tailles (Kawaguchi, 1993) (figure 2b-d). Les interneurones GABAergiques de moyennes tailles peuvent être sous-divisés en trois classes supplémentaires rappelant leur patron de décharge et leurs caractéristiques histochimiques. Ils sont soit a) parvalbumine-positif (PV) b) somatostatine-, neuropeptide Y-, oxyde nitrique synthétase-positif (SOM/NPY) ou c) calrétinine-positif (CR) (Tepper and Bolam, 2004; Kreitzer, 2009). Les interneurones PV+ déchargent de façon soutenue et très rapidement à la suite d'injection de courant, d'où leur nom d'interneurone à haute fréquence de décharge (FS : *fast spiking*) (figure 2b). Les SOM/NPY+ ont plutôt une fréquence de décharge lente et à bas seuil. Ils sont donc des interneurones à *low-threshold spiking* (LTS) (figure 2c). Les interneurones CR+ ne sont pas encore classés physiologiquement, mais ils semblent montrer des propriétés similaires aux LTS (Tepper and Bolam, 2004). Finalement, les interneurones cholinergiques sont les plus gros neurones du striatum (figure 2d). Ils possèdent une activité spontanée qui régule constamment celle des MSN.

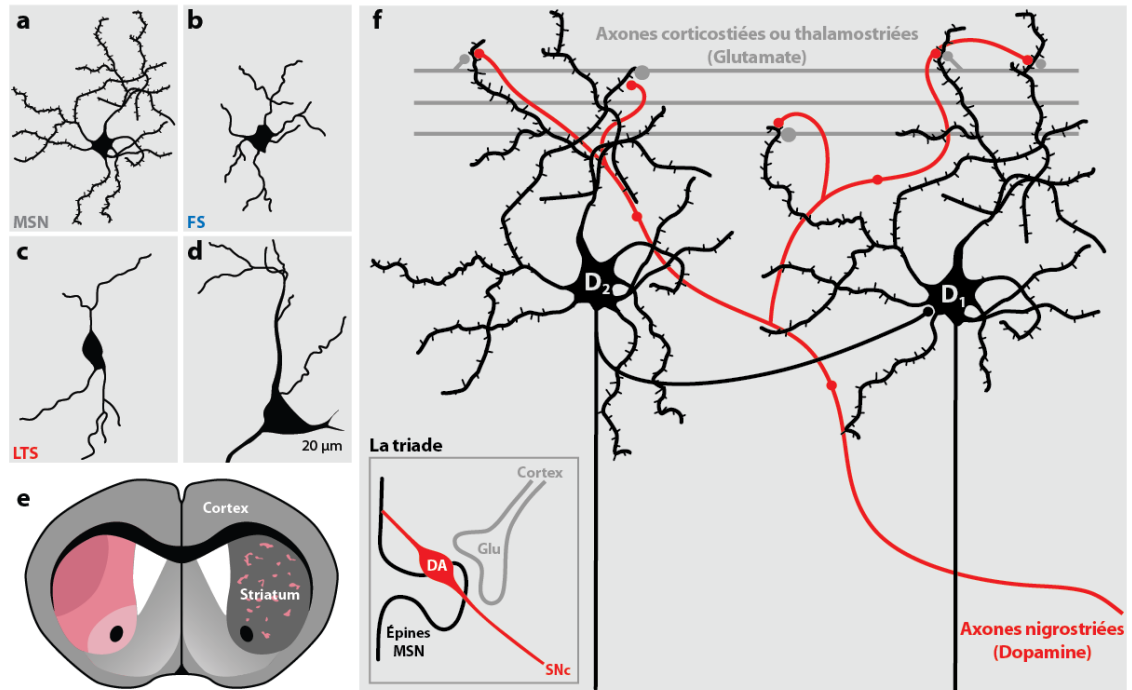


Figure 2 : Types cellulaires et organisation fonctionnelle du striatum de rongeur.

Représentation schématique d'un (a) neurone épineux moyen (MSN), (b) interneurone à haute fréquence de décharge (FSI), (c) interneurone à faible seuil de décharge (LTS), (d) interneurone cholinergique. (e) Représentation coronale du télencéphale de rongeur illustrant le cortex et le striatum. Les divisions dorsolatérale, dorsomédiale et ventrale sont illustrées dans l'hémisphère gauche. (f) Représentation schématique du réseau fonctionnel formé sur les deux populations principales de neurones du striatum. Les afférences corticostriée et thalamostriée innervent les épines dendritiques des MSN exprimant les récepteurs D_1 et D_2 de la dopamine (voir agrandissement : la triade). Les afférences dopaminergiques du mésencéphale se terminent sur la base des épines dendritiques ou forme des synapses de type *en passant* (tel qu'illustré dans l'agrandissement). La rencontre synaptique de ces trois types de neurones forme ce qui est communément appelé la triade du striatum. Adaptée de ((Kreitzer, 2009) et (Wickens, 2009)).

Toutes les composantes neuronales du striatum reçoivent des afférences glutamatergiques qui proviennent du cortex. Ce circuit forme le système corticostrié. Les projections corticostriées sont organisées dans un gradient dorsolatéral-ventromédial (Voorn et al., 2004) (figure 2e). Le striatum dorsolatéral reçoit des afférences en prédominance des aires

corticales sensorielles et motrices et est donc plus impliqué au niveau de ces modalités. Le striatum ventromédial, quant à lui, participe à des fonctions plus limbiques puisqu'il reçoit les afférences de l'amygdale et de l'hippocampe. Le cortex préfrontal projette plutôt dans une région intermédiaire du striatum. Le thalamus fournit également une quantité non négligeable d'afférences glutamatergiques au striatum (Smith et al., 2004). En plus de ces afférences excitatrices, le striatum reçoit plusieurs afférences modulatrices (figure 2f). Celles-ci incluent, les afférences dopaminergiques du mésencéphale (SN et VTA), sérotoninergiques du noyau raphé et adrénnergiques du locus cœruleus.

1.3 L'innervation dopaminergique du striatum

La dopamine est un neurotransmetteur indispensable dans le contrôle des mouvements, la motivation, la récompense, l'apprentissage et la mémoire (Schultz, 2007b). Elle a été découverte et identifiée comme neurotransmetteur potentiel à la fin des années 1950 par Arvid Carlsson (Carlsson, 1959). Elle fait partie de la famille des catécholamines et elle est synthétisée en deux étapes à partir de la tyrosine, un acide aminé essentiel. La première étape de synthèse implique l'enzyme limitante à la formation de la dopamine, la tyrosine hydroxylase (TH), qui transforme par oxydation la tyrosine en L-dopa. Cette dernière est ensuite prise en charge par la DOPA décarboxylase pour former la dopamine (figure 3). Par la suite, ce neurotransmetteur peut être transformé en norépinéphrine dans les neurones adrénnergiques exprimant la dopamine β -décarboxylase ou dégradé en acide homovallinique (HVA) par différentes cascades enzymatiques. La dopamine peut aussi être récupérée de la fente synaptique par un transporteur membranaire nommé DAT situé sur le neurone dopaminergique même.

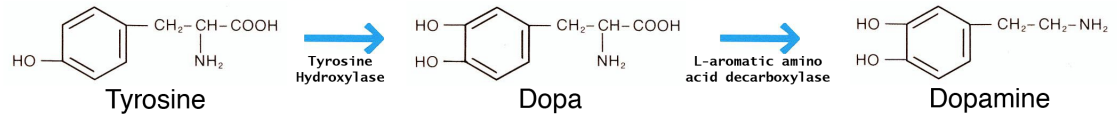


Figure 3 : Étapes de biosynthèse de la dopamine

(tirée du livre Introduction to psychopharmacology : a scope ® publication, USA 1980, Upjohn, p.19)

L'innervation dopaminergique du striatum est abondante. Elle provient des neurones dopaminergiques du mésencéphale, plus précisément ceux de la substance noire compacte (SNc) et de l'aire tegmentaire ventrale. Les neurones de la SNc projettent principalement dans le striatum dorsal, formant la voie nigrostriée et sont impliqués dans la motricité. En contrepartie, les neurones de la VTA projettent plutôt vers le striatum ventral, l'accumbens et contrôlent les comportements associés à la récompense et aux phénomènes de renforcement. Cette voie se nomme mésolimbique. Les axones dopaminergiques arborisent généreusement les neuropiles du striatum (Prensa and Parent, 2001) et forment majoritairement des synapses de type *en passant* bien qu'un faible pourcentage forme des boutons terminaux synaptiques à la base des épines dendritiques des MSN ou sur les boutons terminaux glutamatergiques des afférences corticales et thalamiques (Smith et al., 1994; Moss and Bolam, 2008) (figure 2f). L'arborisation d'un seul neurone dopaminergique peut s'étendre dans près de 6 % du striatum, formant ainsi à lui seul quelques centaines de milliers de synapses (Matsuda et al., 2009). En effet, les boutons dopaminergiques forment près de 10 % de toutes les synapses striatales (Groves et al., 1994). Près de 25 % des dendrites de MSN recevant une afférence glutamatergique sont aussi apposées de varicosité ou de boutons terminaux dopaminergiques (Moss and Bolam, 2008). Il est maintenant bien démontré que les mécanismes de récupération de la dopamine ne sont pas assez puissants pour empêcher ce neurotransmetteur de quitter la fente synaptique et de se répandre loin du site de relargage (Cragg and Rice, 2004). C'est par cette transmission volumique que la dopamine exerce une majorité de ses effets physiologiques (Cragg and Rice, 2004) et c'est pourquoi une grande proportion des

récepteurs dopaminergiques sont extrasynaptiques (Yung et al., 1995). Les études de Moss et collègues ont aussi démontré que virtuellement toutes les synapses glutamatergiques se trouvent à porter du relargage de dopamine, soit à 0,5 μm (Moss and Bolam, 2008) renforçant ainsi le modèle de transmission volumique. Par cette disposition synaptique, la dopamine est bien placée pour moduler la fonction du striatum. Les neurones dopaminergiques du mésencéphale ont une activité intrinsèque de pacemaker qui les garde actifs à basse fréquence et libère de la dopamine de façon tonique. Ce phénomène permet de garder une concentration constante de dopamine dans le striatum ce qui est nécessaire pour le fonctionnement normal de cette structure (Schultz, 2007b). En réponse à un stimulus de pertinence motivationnelle (*incentive salience*), les neurones dopaminergiques déchargent en salves pour libérer la dopamine de façon phasique et ainsi faciliter certaines composantes de l'apprentissage (Schultz, 2007a). Le rôle de la dopamine dans le fonctionnement adéquat des GB est mis en évidence par les effets dévastateurs survenant à la suite de la perte caractéristique des neurones dopaminergiques de la substance noire dans la maladie de Parkinson.

1.3.1 Les récepteurs dopaminergiques

La dopamine exerce son action en activant une classe de récepteurs de la famille des récepteurs couplés aux protéines G (*G-protein coupled receptors*; GPCR) de classe A. La majorité des neurotransmetteurs classiques agissent par l'intermédiaire de cette classe de GPCR. Ils sont structurellement très similaires et consistent en une extrémité N-terminale extracellulaire, un domaine transmembranaire à sept passages et une extrémité C-terminale intracellulaire qui transmettent le message à l'intérieur de la cellule via l'activation d'une protéine G hétérotrimérique. Cette caractéristique fait de la dopamine un neurotransmetteur à action lente puisqu'elle doit faire intervenir des messagers de signalisation intracellulaire pour produire ses effets sur les neurones cibles. Dans le cas inverse, les neurotransmetteurs

à action rapide, comme le glutamate et l'acide γ -aminobutyrique (GABA), interviennent plutôt par l'intermédiaire de récepteurs ionotropiques qui agissent directement sur les propriétés électriques des neurones. Il existe cinq types de récepteurs de la dopamine séparés en deux classes selon leur analogie structurale et leur similitude de signalisation cellulaire. Les récepteurs D₂, D₃, D₄ et D₁, D₅ font partie respectivement de la classe des récepteurs D2 et D1 de la dopamine (Niznik and Van Tol, 1992; Sibley and Monsma, 1992). Pour les besoins de cette thèse, seuls les récepteurs D₁ et D₂ seront décrits en détail.

1.3.1.1 Signalisation

Les récepteurs de type D₁ sont couplés à une protéine G α_{olf} (Corvol et al., 2001; Beaulieu and Gainetdinov, 2011) (figure 4). Lorsque le récepteur est activé par la dopamine, la protéine G α_{olf} se libère des autres sous-unités G $\beta\gamma$ et stimule la production d'adénylate cyclase (AC), particulièrement l'AC5 dans le striatum (Glatt and Snyder, 1993). Ce phénomène entraîne ensuite une cascade de signalisation impliquant la production et l'accumulation d'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) à partir d'ATP et l'activation subséquente d'une protéine kinase A (PKA). S'en suit un éventail de signalisations qui modulent plusieurs phénomènes cellulaires. Les principaux substrats de la PKA dans le striatum sont DARPP-32 (*dopamine and cyclic AMP-regulated phosphoprotein, 32kDa*) (Svenningsson et al., 2004), CREB (cyclic AMP response element-binding protein) et certains canaux ioniques voltage- ou chimio-dépendants qui contrôlent l'excitabilité des neurones (Neve et al., 2004). L'activation du récepteur D₁ mène donc à l'induction PKA-dépendante de DARPP-32 (Greengard, 2001; Svenningsson et al., 2004; Bateup et al., 2008) et de CREB (Brami-Cherrier et al., 2005; Miller and Marshall, 2005). À l'origine, on croyait que les effets cellulaires de l'AMPc étaient modulés exclusivement par la PKA. Récemment, plusieurs observations ont convergé vers une nouvelle famille de détecteurs d'AMPc qui pourrait jouer un rôle non négligeable dans sa signalisation, les Epac. Epac est un acronyme de *exchange protein directly activated by cAMP* et cette protéine module l'échange des nucléotides guanines pour activer ses

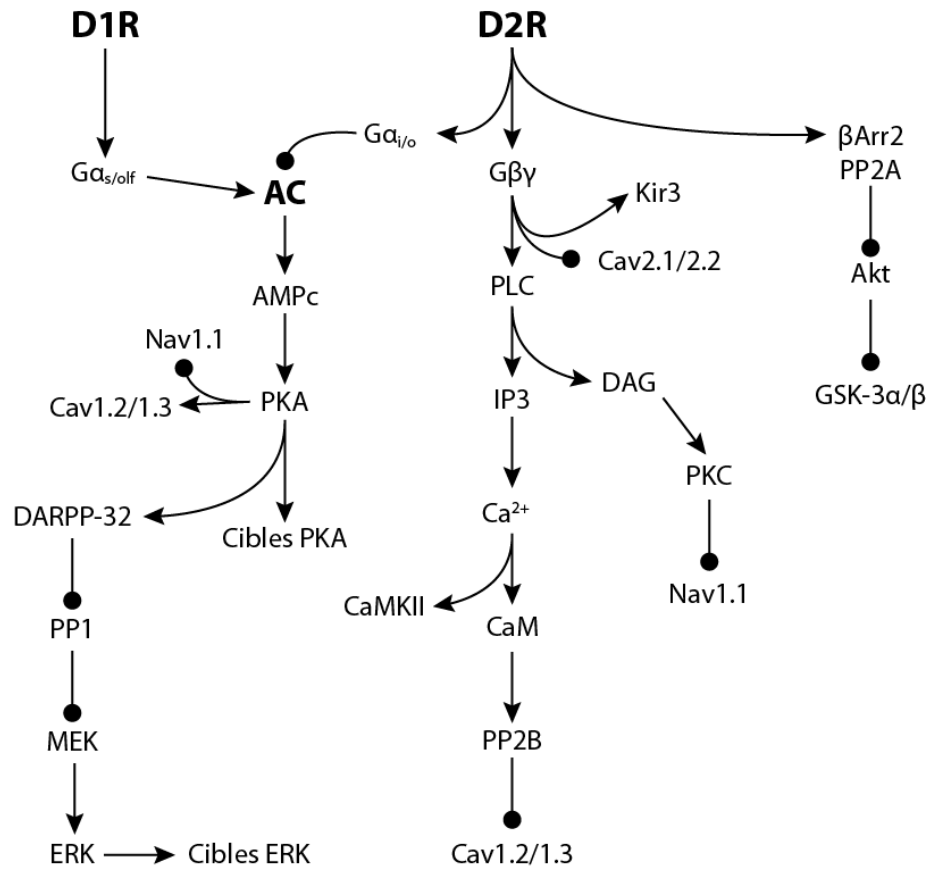


Figure 4 : Signalisation dopaminergique.

Schématisation du réseau de signalisation intracellulaire contrôlé par la dopamine par le biais des récepteurs D1 dans les MSN striatonigraux, et D2 dans les MSN striatopallidaux. (Inspiré de (Surmeier et al., 2007) et (Beaulieu and Gainetdinov, 2011)).

effecteurs (de Rooij et al., 1998; Holz et al., 2006). La liaison de l'AMPC à Epac mène à une activation de GTPases Rap et Ras ainsi qu'à d'autres protéines cytoplasmiques importantes. Pour l'instant, peu d'études ont été effectuées afin de caractériser le rôle d'Epac dans la signalisation dopaminergique, mais la modulation qu'exerce l'activation des récepteurs D₁ sur une forme de plasticité dans le cortex est dépendante de l'activation d'Epac (Woolfrey et al., 2009). Le récepteur D₁ active aussi la voie des kinases associées

aux mitogènes (MAP; *mitogen-activated protein kinases*). En effet, l'administration d'amphétamine et de cocaïne promeut la phosphorylation de cette voie via les récepteurs D₁ (Valjent et al., 2000; Beaulieu et al., 2006; Valjent et al., 2006). Toutefois, plusieurs études ont démontré que cette activation D₁-dépendante requiert aussi l'activation des récepteurs NMDA ainsi que certaines voies de signalisation cellulaire impliquant des phosphatases (eg. STEP; *Striatal-enriched tyrosin phosphatase*) qui sollicitent à leur tour l'activation de la voie cAMP/PKA (Valjent et al., 2005). C'est donc une convergence de signalisation qui mène à l'induction de la phosphorylation des ERK (*Extracellular signal-regulated kinases*) après activation du récepteur D₁.

Les récepteurs D₂ sont couplés négativement à l'AC par la protéine G inhibitrice G $\alpha_{i/o}$ (Beaulieu and Gainetdinov, 2011) (figure 4). Son activation est donc contraire à l'effet des récepteurs D₁ sur l'activation de la PKA et ses effecteurs. La signalisation D₂ dans les MSN striatopallidaux n'est pas aussi évidente que celle des D₁ dans les MSN striatonigrés. Comme ils inhibent la voie de la PKA et qu'ils ne semblent pas être constitutivement actifs, l'étude de sa signalisation avec des outils pharmacologiques est plus ardue. Les pistes les plus pertinentes utilisées pour la caractérisation de la signalisation D₂ sont celles issues des études utilisant les antagonistes D₂. Fondamentalement ces antagonistes lèvent l'inhibition qu'exerce le D₂ sur la voie cAMP/PKA et plusieurs études ont confirmé l'élévation de phosphorylation des substrats de la PKA comme DARPP-32 (Svenningsson et al., 2000; Hakansson et al., 2006), CREB (Pozzi et al., 2003) et récemment la protéine ribosomale S6 (Valjent et al., 2011). L'inhibition des D₂ active aussi la phosphorylation des ERK (Pozzi et al., 2003) ainsi que certaines de ses cibles comme les kinases activées par le stress et les mitogènes (MSK1; *mitogen and stress-activated kinases 1*) et l'histone H3 (Bertran-Gonzalez et al., 2008). Le D₂ module aussi l'activité de différents canaux ioniques calciques et potassiques ainsi que d'autres cascades de signalisation comme les phospholipases, les MAP kinases et les transporteurs Na⁺ / H⁺ par l'activation des sous-unités G $\beta\gamma$ (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). Par exemple il a été démontré que la sous-

unité $G\beta\gamma$ à la suite de l'activation du D_2 peut activer la phospholipase C (PLC) et ainsi augmenter la concentration cytoplasmique de calcium à partir des stocks du réticulum endoplasmique (Hernandez-Lopez et al., 2000). Étrangement, un mécanisme similaire impliquant cette même sous-unité $G\beta\gamma$ peut aussi moduler négativement l'entrée de calcium, cette fois extracellulaire, en inhibant des canaux calciques voltage-dépendants (Yan et al., 1997). Il va sans dire que cette fine modulation de la concentration plasmatique de calcium est primordiale pour la régulation des phénomènes cellulaires contrôlés par le D_2 . Récemment, l'accumulation de preuves expérimentales suggère que les GPCR peuvent induire une signalisation indépendante des protéines G (Luttrell and Lefkowitz, 2002). Des observations principalement tirées des travaux de Beaulieu et collègues ont démontré que le D_2 pouvait signaler par l'intermédiaire d'une protéine d'encrage, la β -arrestine et faire intervenir des effecteurs de signalisation comme l'Akt et GSK-3 (*Kinase de glycogène synthétase – 3*) (Beaulieu et al., 2008; Beaulieu et al., 2009).

1.3.1.2 Localisation

Plusieurs types des récepteurs de la dopamine sont exprimés dans le striatum, mais les récepteurs D_1 et D_2 sont de loin les plus abondants. Les récepteurs D_3 sont plutôt localisés spécifiquement dans le striatum ventral (Diaz et al., 1995), les récepteurs D_5 sont exprimés très faiblement à travers le striatum (Rivera et al., 2002) alors que les récepteurs D_4 ne sont pas détectés dans cette structure (Noain et al., 2006). La particularité principale de la localisation des récepteurs D_1 et D_2 dans le striatum est qu'ils sont hautement ségrégués dans les deux populations de MSN. Les récepteurs D_1 sont plutôt localisés sur les MSN qui constituent la voie directe alors que les D_2 sont exprimés sur les MSN de la voie indirecte (Gerfen et al., 1990; Surmeier et al., 1996). Cette ségrégation permet une modulation différentielle de la dopamine sur les deux modalités du striatum. L'hypothèse de la ségrégation de ces récepteurs a d'abord été suggérée indirectement puis ensuite montrée par des études de marquage rétrograde (Gerfen et al., 1990). Ensuite, des études pharmacologiques ont corroboré ces résultats ainsi que l'interprétation du modèle classique

des GB, en montrant que les agonistes D₁ facilitent et D₂ inhibent la locomotion (Steiner and Gerfen, 1998). Des études anatomiques ont montré que l'ARN messenger (ARNm) des récepteurs D₂ est exprimé dans une population de neurones exprimant aussi le neuropeptide enképhaline (ENK) alors que l'ARNm des récepteurs D₁ colocalise plutôt avec les MSN qui expriment la dynorphine (DYN) comme neuropeptide (Gerfen et al., 1990; Le Moine and Bloch, 1995). Plus récemment, l'arrivée des souris BAC (*bacterial artificial chromosome*) exprimant la protéine fluorescente verte (GFP) dans les neurones D₁ ou D₂ a permis encore une fois la validation de cette ségrégation (Bertran-Gonzalez et al., 2008; Gertler et al., 2008; Matamales et al., 2009; Valjent et al., 2009). Toutefois, il a été démontré qu'il existait une faible quantité de MSN qui exprime les deux récepteurs. Cette population particulière de MSN est très rare dans le striatum dorsal (de l'ordre de ~5-6%), mais est plus abondante (~17 %) dans une région du striatum ventral nommé le shell de l'accumbens (Bertran-Gonzalez et al., 2008), une structure importante dans les comportements émotionnels.

Le récepteur D₂ est aussi exprimé à des endroits différents au niveau cellulaire. À la suite d'un phénomène d'épissage alternatif de 87 paires de bases à l'intérieur d'un exon localisé entre les introns 4 et 5, ce récepteur se présente dans le striatum en deux isoformes distincts nommés D₂ long (D_{2L}) et D₂ court (D_{2S}) (Giros et al., 1989). Ces deux isoformes diffèrent d'une courte séquence de 29 acides aminés dérivés de l'exon 6 du gène localisé dans la troisième boucle intracellulaire du récepteur. Aucune observation directe n'a su déterminer le rôle exact de cette région, mais il semblerait qu'elle est responsable de la localisation cellulaire du récepteur D₂ (Uziel et al., 2000; De Mei et al., 2009). En effet, le récepteur D_{2L} est localisé au niveau post-synaptique sur les MSN du striatum alors que le D_{2S} est plutôt exprimé au niveau pré-synaptique où il exerce un rôle d'autorécepteur (Khan et al., 1998; Uziel et al., 2000; Lindgren et al., 2003). En modulant certains canaux calciques, ces récepteurs servent de rétrocontrôle de la quantité de dopamine libérée dans la synapse. Les récepteurs D₂ se retrouvent aussi sur d'autres terminaisons comme sur celles des

interneurones cholinergiques (Tozzi et al., 2011) (figure 5) du striatum ainsi que sur les afférences glutamatergiques provenant du cortex (Wang and Pickel, 2002). Ils ont alors un rôle d'hétérorécepteur puisqu'ils modulent la libération d'un neurotransmetteur différent (Bamford et al., 2004a; Higley and Sabatini, 2010). On a longtemps cru que ces 29 acides aminés manquants dans la troisième boucle intracellulaire du récepteur pouvaient affecter sa liaison avec les protéines G et ainsi changer sa signalisation. Toutefois, jusqu'à ce jour aucun consensus n'est accepté et il semblerait que la différence dans leur rôle est définie par sa localisation plus que par sa signalisation.

1.3.2 Modulation physiologique de la dopamine dans le striatum

La dopamine affecte les deux populations de MSN d'une façon différente. À l'état d'équilibre, les MSN de la voie directe (D₁-MSN) et ceux de la voie indirecte (D₂-MSN) ont un phénotype physiologique fondamentalement semblable. Ils sont dominés par des courants potassiques qui tiennent le potentiel membranaire d'équilibre à -90 mV (Wilson and Kawaguchi, 1996), une valeur de loin inférieure à la moyenne des neurones du cerveau. Ils sont constamment gardés dans un état très éloigné du seuil de décharge (Wilson and Kawaguchi, 1996; Shen et al., 2007) que l'on nomme le *down state*. En réponse à des afférences glutamatergiques excitatrices provenant du cortex, les MSN se dépolarisent. Toutefois, s'il n'y a pas de convergence spatiotemporelle des courants post-synaptiques, les canaux potassiques qui maintiennent le potentiel d'équilibre éclipsent la réponse excitatrice qui est alors trop faible. S'il y a convergence par contre, le signal glutamatergique synaptique peut renverser l'effet de canaux potassiques en favorisant leur fermeture (Day et al., 2008). Ainsi, le potentiel membranaire somatodentritique est élevé près du seuil de décharge (-60 à -40 mV). Cet état, appelé le *up state*, se produit pendant quelques centaines de millisecondes et permet la décharge des MSN advenant l'arrivée subséquente d'autres signaux glutamatergiques (Wilson and Kawaguchi, 1996; Surmeier et al., 2007).

La dopamine peut affecter cette transition d'état d'excitabilité compte tenu du récepteur dopaminergique stimulé. L'activation du récepteur D₂ entrave l'induction des *up states* et réduit la probabilité de décharge durant cet état dans les D₂-MSN (Surmeier et al., 2007). Le D₂ régule négativement l'ouverture de canaux calciques dépendants du voltage (eg : canaux calciques de type-L, Cav1.3) qui sont en partie responsables des courants dépolarisants nécessaires à la production de potentiels d'action (Olson et al., 2005). Ils réduisent l'entrée de calcium au niveau dendritique et ainsi réduisent la possibilité qu'un influx excitateur se propage au corps cellulaire pour déclencher le potentiel d'action (Higley and Sabatini, 2010). De plus, les D₂ réduisent indirectement l'excitabilité des D₂-MSN en diminuant la libération pré-synaptique de glutamate dans le striatum (Bamford et al., 2004a; Bamford et al., 2004b). Le mécanisme d'action de ce phénomène n'est pas encore clair. Il se peut d'une part que les récepteurs D₂ localisés sur les terminaisons glutamatergiques modulent directement la libération de glutamate en agissant sur des canaux calciques (Maura et al., 1988; Wang and Pickel, 2002). D'autre part, il est possible que cette modulation pré-synaptique fasse intervenir le D₂ localisé sur les MSN et que l'effet pré-synaptique soit médié par d'autres effecteurs comme les endocannabinoïdes (Higley and Sabatini, 2010). En effet, le récepteur D₂ est important dans la libération d'endocannabinoïdes dans le striatum (Giuffrida et al., 1999). Ce modulateur agit comme messenger rétrograde. Il est donc libéré par le neurone post-synaptique pour agir sur le neurone pré-synaptique (Gerdeman and Lovinger, 2003). Le récepteur CB₁ des endocannabinoïdes est localisé aussi sur les afférences glutamatergiques et il est bien décrit que son activation atténue la neurotransmission glutamatergique (Gerdeman and Lovinger, 2001). La présente littérature montre bien qu'il existe un mécanisme de modulation de la libération de glutamate pré-synaptique contrôlé par le récepteur D₂, mais ce mécanisme est-il direct ou non?

La régulation de l'excitabilité de D₁-MSN par les D₁ est presque diamétralement opposée. La stimulation de ce récepteur et l'activation subséquente de la PKA accroissent les

courants calciques et augmentent la probabilité de décharge des D₁-MSN (Hernandez-Lopez et al., 1997; Carter and Sabatini, 2004). Les récepteurs D₁ agissent aussi directement sur le trafic et la phosphorylation des récepteurs du glutamate NMDA et AMPA, modifiant ainsi leurs propriétés physiologiques (Sun et al., 2005; Hallett et al., 2006).

1.4 L'acétylcholine

À l'intérieur du striatum, l'innervation cholinergique provient uniquement des interneurons cholinergiques (Calabresi et al., 2000) qui malgré leur faible proportion (~1 – 2 %) fournissent une arborisation axonale similaire à celle des neurones dopaminergiques (Descarries and Mechawar, 2000). Les interneurons cholinergiques sont actifs spontanément et réagissent en opposition aux neurones dopaminergiques, c'est-à-dire qu'ils réagissent à un stimulus émotionnel pertinent par une coupure dans leur décharge tonique (Morris et al., 2004). L'acétylcholine peut aussi agir par transmission volumique rappelant la dopamine. Les zones de décharge de ces deux neurotransmetteurs sont tellement partagées qu'une modulation réciproque est envisagée. L'acétylcholine du striatum agit sur deux classes de récepteurs, les récepteurs nicotiques (nAChR) et les muscariniques (mAChR). Les nAChR sont ionotropes et sont formés par l'assemblage de cinq sous-unités.

Les mAChR sont des récepteurs métabotropes à sept domaines transmembranaires et sont exprimés fortement sur les MSN ainsi que sur les interneurons cholinergiques. Il existe cinq récepteurs muscariniques, de M₁ à M₅, classés de façon rappelant le classement des récepteurs dopaminergiques. Les M₁, M₃ et M₅ sont couplés positivement à l'AC par une protéine G α_s alors que les M₂ et M₄ sont couplés à une G α_i . Les M₁, M₂ et M₄ dominent dans le striatum (figure 5). Les MSN expriment plutôt le M₁ et M₄ avec une prédominance des M₄ sur les neurones de la voie directe qui co-expriment le D₁ (Bernard et al., 1992; Yan et al., 2001; Wang et al., 2006; Shen et al., 2007). Les interneurons cholinergiques, par

contre, sont régulés par la signalisation des M_2 et M_4 (Yan and Surmeier, 1996; Ding et al., 2006) en addition aux récepteurs D_2 qui réduisent leur excitabilité via l'inhibition de canaux sodiques voltage-dépendants (Maurice et al., 2004). Des études antérieures ont aussi démontré la présence de récepteur de M_2 sur les terminaisons synaptiques corticostriées et leur activation qui mène à une diminution de la libération de glutamate (Alcantara et al., 2001; Higley et al., 2009). Conséquemment, la scopolamine, un antagoniste muscarinique non spécifique, augmente la concentration extracellulaire de glutamate dans le striatum (Rawls and McGinty, 1998).

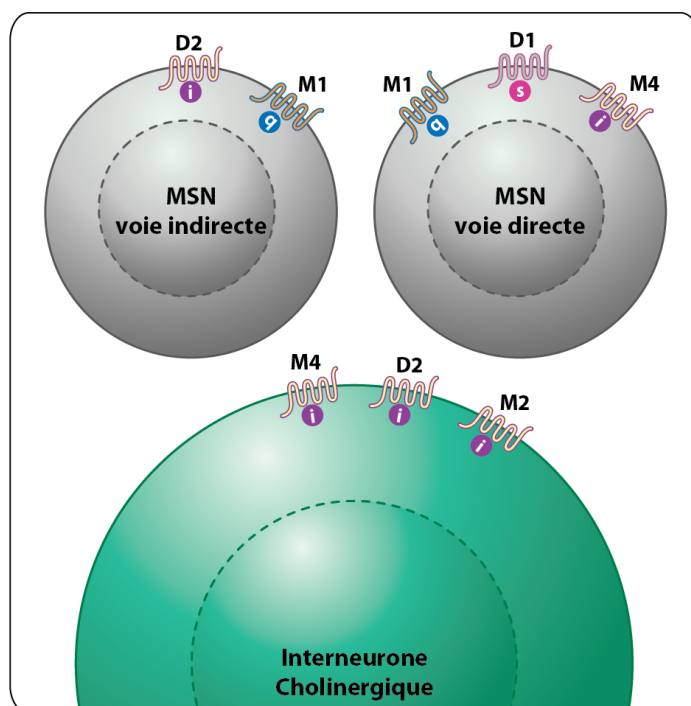


Figure 5 : Localisation des récepteurs dopaminergiques et muscariniques.

Illustration des différents types de neurones striataux et leurs récepteurs dopaminergiques et muscariniques. Adapté de (Kreitzer, 2009)

1.5 L'adénosine comme neuromodulateur

L'adénosine, sous forme d'ATP ou d'ADP est un constituant intracellulaire bien connu qui est intimement impliqué dans plusieurs fonctions cellulaires en agissant comme cofacteur, source d'énergie et bien sûr en tant qu'unité constituante de l'ADN. Les fonctions de messagers chimiques des purines sont bien connues dans le système périphérique (Burnstock, 2009). Toutefois, bien que les preuves expérimentales démontrant la présence de récepteur purinergique dans le striatum soient substantielles, les mécanismes de régulation de la libération de l'adénosine sont moins clairs. En périphérie, et moins précisément dans le SNC, l'adénosine est libérée en tant que co-transmetteur (Burnstock, 2007). Une libération d'adénosine à partir de neurones corticaux cholinergiques et adrénergiques fut suggérée sur les bases que la dénervation cholinergique et noradrénergique, mais non sérotonergique, réduit le débit de libération d'adénosine dans le cortex. D'autres observations suggèrent que l'adénosine peut aussi être libérée par des neurones GABAergiques et glutamatergiques dans l'hippocampe et le cervelet (Lee et al., 1982; Manzoni et al., 1994; Wall and Dale, 2008). Une étude parue récemment démontre que l'adénosine est emmagasinée à l'intérieur de vésicules et est libérée par un mécanisme d'excitation-sécrétion dans le striatum de rat et que les stocks d'adénosine extracellulaire ne proviennent pas de l'hydrolyse de l'ATP (Melani et al., 2011). Cependant, l'origine précise de libération de l'adénosine dans le striatum reste encore nébuleuse. Étonnamment, nos connaissances sur les multiples rôles des récepteurs de l'adénosine dans le striatum sont substantielles. Les deux types de récepteurs exprimés dans le striatum sont tous les deux issus de la famille P1 des récepteurs purinergiques, les récepteurs A_2 et A_1 (Burnstock, 2007). Le récepteur A_{2A} domine en expression et les études de marquage radiographique démontrent que l'expression de ce récepteur est exclusivement restreinte au noyau caudé-putamen, accumbens et au globus pallidus à l'intérieur des GB (Martinez-Mir et al., 1991). De plus, le A_{2A} est spécifique aux interneurones cholinergiques et aux MSN de la voie striatopallidale, coexprimant ainsi avec le récepteur D_2 (Schiffmann et al., 1991; Fink et al.,

1992; Preston et al., 2000). Cette localisation des plus précises offre une possibilité pharmacologique unique et c'est pour cette raison particulière que les études de ce récepteur sont si abondantes depuis les dernières décennies. Contrairement au récepteur D₂, il est couplé positivement à l'AC et cette interaction opposée sur cette voie de signalisation est censée contribuer à l'intégration de la signalisation dopaminergique dans les MSN striatopallidaux. En effet, il a été démontré que chacun de ces récepteurs s'oppose mutuellement. Dans les souris mutantes pour les récepteurs D₂, la signalisation dépendante du récepteur A_{2A} est augmentée constitutivement (Short et al., 2006). L'opposé a aussi été démontré. Il semblerait que les récepteurs A_{2A} peuvent même nuire à l'efficacité de liaison du récepteur D₂ à la dopamine (Dasgupta et al., 1996). Les récepteurs A_{2A} peuvent aussi faciliter les effets articulés par les récepteurs métabotropes du glutamate de type 5 (mGluR5) (Ferre et al., 2002; Domenici et al., 2004).

1.6 L'innervation sérotonergique et adrénérgique

La sérotonine fut d'abord isolée de la muqueuse gastro-intestinale et ensuite du sang, du cœur et d'autres organes. En périphérie, la sérotonine joue un rôle critique dans la régulation de la motilité gastro-intestinale, la respiration, la douleur, la vasoconstriction ainsi que l'agrégation des plaquettes sanguines (Huot et al., 2011). Quelques décennies plus tard, soit au début des années 50, la sérotonine fut isolée dans le cerveau et soupçonnée comme joueur primaire dans certains désordres psychiatriques. La sérotonine, aussi appelée 5-hydroxytryptamine (5-HT) est fabriquée à partir du tryptophane, un acide aminé essentiel qui entre dans le cerveau principalement par transport actif via la circulation sanguine (figure 6). Le tryptophane hydroxylase, l'enzyme limitante du métabolisme de la 5-HT, transforme l'acide aminé essentiel en 5-hydroxytryptophane, qui est finalement transformé à son tour en 5-HT par la 5-hydroxytryptophane décarboxylase. Comme pour la dopamine, la 5-HT est aussi catabolisée par une monoamine oxydase (MAO) pour être éliminée par

voie urinaire. Toutefois dans le cerveau, la 5-HT peut être récupérée de la fente synaptique à l'aide de transporteurs membranaires sélectifs (SERT).

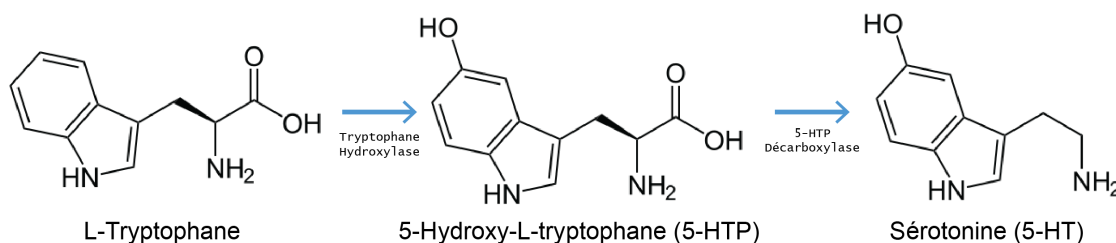


Figure 6 : Étapes de biosynthèse de la sérotonine.

La majorité des structures qui forment le circuit cortico-GB-thalamocortical mentionné plus haut sont innervées par les neurones sérotoninergiques émergeant d'une petite région du tronc cérébral, le noyau raphé (principalement de la région dorsale) (Di Matteo et al., 2008; Huot et al., 2011). Après le tronc cérébral, le striatum fait partie des régions cérébrales les plus innervées en 5-HT. Un niveau élevé de 5-HT se retrouve aussi dans les aires cingulaire et orbitofrontale du cortex. Dans le striatum, les fibres sérotoninergiques se terminent principalement comme des varicosités axo-axoniques, mais peuvent aussi former des synapses asymétriques de type axo-épineuses ou axo-dendritiques sur les MSN du striatum (Soghomonian et al., 1989). Les neurones sérotoninergiques du raphé envoient aussi une forte concentration de projection vers la SNc et SNr, également sur les neurones dopaminergiques que GABAergiques de ces régions (Di Matteo et al., 2008).

La sérotonine du système nerveux central joue un rôle important dans plusieurs processus physiologiques et comportementaux comme : l'agression, l'appétit, la cognition, les fonctions motrices et sensorielles, le neurotropisme, la perception, les comportements sexuels et finalement le sommeil (Nichols and Nichols, 2008; Huot et al., 2011). Cette grande polyvalence provient non seulement du fait que les neurones sérotoninergiques innervent plusieurs régions cérébrales, mais aussi de la grande diversité de récepteurs qui

s'activent en présence de 5-HT. La famille des récepteurs 5-HT comporte sept membres distincts, de 5-HT₁ à 5-HT₇ classés selon leur similitude de séquence génétique, leur signalisation cellulaire et leurs propriétés pharmacologiques (Nichols and Nichols, 2008). Dans ces sept classes se répartissent les 14 sous-types de récepteurs de la sérotonine à ce jour identifiés, dont 13 sont des récepteurs couplés aux protéines G et un seul est un récepteur ionotrope (Nichols and Nichols, 2008). Pour les besoins de cette thèse, seuls les rôles et propriétés de trois récepteurs seront retenus, soit les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{2B} et 5-HT_{2C}.

1.6.1 Les récepteurs sérotonergiques

Les récepteurs 5-HT_{1A} participent à un éventail assez large de comportements et de maladies comme l'anxiété (Toth, 2003), la cognition (Elliott et al., 2009), la dépression (Blier and Ward, 2003; Meltzer et al., 2004) et la schizophrénie (Burnet et al., 1996; Huot et al., 2011). Ce récepteur fut l'un des premiers récepteurs sérotoninergiques à être identifié et caractérisé. Il peut être localisé en pré ou post-synaptique selon le contexte anatomique et son activation mène à l'hyperpolarisation neuronale et à la réduction de la fréquence de décharge (Nichols and Nichols, 2008). Les récepteurs 5-HT_{1A} pré-synaptiques localisés dans le raphé jouent le rôle d'autorécepteurs et modulent la libération de sérotonine en étant couplés à une protéine G $\alpha_{i/o}$ inhibitrice qui active l'hyperpolarisation via des récepteurs potassiques à rectification entrante (Aghajanian, 1995).

À ce jour, la plupart des études d'autoradiographie, de radioimmunohistochimie et d'hybridation *in situ* ont démontré que de faibles, presque indétectables niveaux de récepteur 5-HT_{1A} dans le striatum des rongeurs (Kung et al., 1995; Wright et al., 1995; Schiller et al., 2003) et des primates (Mengod et al., 1996) tant au niveau de l'ARNm que de la protéine (Di Matteo et al., 2008). Toutefois, une étude récente montre que ce récepteur est exprimé dans les striosomes du striatum de primates. La quantité de ce

récepteur augmente dans un modèle animal de maladie de Parkinson, ce qui semble démontrer que ce récepteur joue un rôle important dans le contrôle des mouvements (Frechilla et al., 2001).

La présence de la protéine et de l'ARNm des récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{2C} dans le striatum de plusieurs espèces de mammifères est évidente (Di Matteo et al., 2008). Les récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{2C} sont couplés à une protéine G α_q (Urban et al., 2007; Nichols and Nichols, 2008). Une fois le récepteur activé la sous unité α_q transloque vers la phospholipase C et permet la catalyse des phosphatidylinositol biphosphate membranaires en diacyl glycérol (DAG) et inositol triphosphate (IP3). Ces deux effecteurs activent respectivement la protéine kinase C (PKC) et le relargage d'ion calcium provenant du réticulum endoplasmique des cellules. La distribution du 5-HT_{2A} dans le striatum semble suivre un gradient d'expression qui suit les directions rostro-caudale et médio-latérale (Wright et al., 1995; Lopez-Gimenez et al., 1997; Cornea-Hebert et al., 1999; Schiller et al., 2003). Les deux types sont exprimés également sur les MSN des voies striatopallidale et striatonigrale comme démontré par double hybridation *in situ* utilisant des sondes anti-sens contre l'enképhaline et la dynorphine, respectivement (Ward and Dorsa, 1996; Eberle-Wang et al., 1997). Les récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{2C} sont aussi présents sur les interneurons cholinergiques du striatum (Cornea-Hebert et al., 1999; Bonsi et al., 2007). Le récepteur 5-HT_{2A} colocalise avec le récepteur du glutamate NMDA dans les épines dendritiques des MSN suggérant un rôle important de ce récepteur dans les fonctions associées aux MSN (Rodriguez et al., 1999). De plus, ils modulent l'activité électrique des MSN puisque l'ajout d'un agoniste 5-HT_{2A/2C}, le DOI, réduit considérablement la fréquence de décharge spontanée des MSN (el Mansari et al., 1994). Le récepteur 5-HT_{2A} est aussi fortement exprimé dans le cortex avec une concentration supérieure dans la couche V, et ce, sans spécificité apparente au niveau du type neuronal (Cornea-Hebert et al., 1999; Miner et al., 2003). Au niveau cellulaire, il apparaît la plupart du temps avec des structures post-synaptiques sur les dendrites proximaux et distaux des neurones pyramidaux et ceux du

circuit local (Miner et al., 2003). Le récepteur 5-HT_{2C} se retrouve aussi dans la SNr où il module les fonctions dopaminergiques mésolimbiques en exerçant une inhibition tonique sur la neurotransmission dopaminergique (Gobert et al., 2000).

1.6.2 La norépinephrine

La norépinephrine (NE) est une autre monoamine qui contrôle les fonctions cérébrales. L'innervation striatale et mésencéphalique provient en majorité des voies A1 et A2 du locus coeruleus, un noyau du tronc cérébral (Lindvall and Bjorklund, 1974). Les récepteurs α_1 , α_2 et β_1 à β_3 sont tous exprimés dans le striatum à des degrés variés (Rommelfanger et al., 2009; Meitzen et al., 2011). Les α_1 sont plutôt localisés dans les domaines présynaptiques et sont présents dans près de 30 % des synapses asymétriques (Rommelfanger et al., 2009). Les α_2 colocalisent en proportion majoritaire avec DARPP-32, suggérant une localisation post-synaptiques sur les deux populations de MSN (Hara et al., 2010). Cette même étude a aussi démontré que les α_2 agissent à l'opposé des récepteurs D₁ sur la phosphorylation de DARPP-32 puisque ce récepteur est couplé négativement à l'AMPC (Hara et al., 2010). Comme c'est le cas avec plusieurs systèmes de neurotransmission, il existe une interaction importante entre ce système et celui de la dopamine. Par exemple, la déplétion pharmacologique ou génique de NE mène à une diminution de la libération de la dopamine qui est dépendante de l'activation des récepteurs α_1 (Lategan et al., 1990).

1.7 L'innervation glutamatergique du striatum

Les neurotransmetteurs décrits jusqu'à maintenant exercent tous leurs actions via des récepteurs couplés aux protéines G et modulent l'activité des neurones via des mécanismes de seconds messagers cellulaires relativement lents. Pratiquement, ils jouent

plus un rôle de modulateur que d'effecteur bien qu'ils soient tous essentiels au bon fonctionnement des modalités cérébrales. Le glutamate est un acide aminé non-essentielle qui est reconnu comme étant le principal neurotransmetteur excitateur du système nerveux central. Ce neurotransmetteur n'est pas seulement impliqué dans la neurotransmission rapide, mais aussi dans plusieurs processus complexes comme le développement du cerveau, en affectant la migration cellulaire et axonale, la différenciation, la genèse et la survie neuronale. Dans le cerveau développé, le glutamate joue un rôle essentiel dans la plasticité du cerveau et donc dans tous les processus qui la requièrent tel que l'apprentissage et la mémoire. Finalement une suractivation des récepteurs du glutamate peut mener à la mort cellulaire par excitotoxicité et entraîner plusieurs maladies communes telles que l'Alzheimer, la maladie de Huntington, la sclérose latérale amyotrophique (maladie de Lou-Gehrig) ainsi que les accidents vasculaires cérébraux. Comme ce neurotransmetteur est utilisé dans plus de 40 % des synapses il est évident que le système glutamatergique doit être étroitement régi et organisé à un très haut niveau de sophistication. Cette sophistication est permise principalement grâce à la haute diversité des sous-types de récepteurs du glutamate qui peuvent être autant ionotropes que métabotropes.

1.7.1 Les récepteurs ionotropes du glutamate

Le glutamate agit comme neurotransmetteur rapide à la suite de l'activation de récepteurs ionotropes de trois types différents. Les deux premiers, soit les récepteurs AMPA et Kainate, sont différents des récepteurs NMDA parce que leur activation n'est pas dépendante du voltage. Comme il sera discuté brièvement plus tard, les récepteurs AMPA sont importants dans le processus de plasticité synaptique. Pour les besoins de cette thèse, seuls les détails concernant les récepteurs NMDA seront revus.

Le récepteur NMDA a été nommé ainsi parce qu'il possède une affinité spécifique pour l'acide N-méthyl-D-aspartique, un analogue synthétique du glutamate. Une des propriétés

qui le distingue des autres récepteurs du glutamate est que son activité est dépendante du voltage. Au potentiel membranaire d'équilibre, le canal ionique du récepteur NMDA est bloqué par un ion Mg^{2+} qui se déloge seulement en condition de dépolarisation membranaire. De plus, ce récepteur requiert la liaison d'un ligand sur le site de la glycine pour permettre au glutamate d'ouvrir le canal ionique. La glycine et la D-sérine sont deux ligands endogènes qui peuvent jouer ce rôle. Il possède plusieurs sites de modulation qui peuvent être utilisés pour produire des effets physiologiques distincts. Par exemple, le Zn^{2+} est un inhibiteur important de la conductance du récepteur NMDA alors que les polyamines peuvent augmenter cette propriété en élevant l'affinité du site modulateur de la glycine du récepteur. D'autre part, quelques anesthésiants tels que la phencyclidine (PCP) et la kétamine sont des inhibiteurs non-compétitifs du NMDA et exercent leurs effets simplement en bloquant l'entrée d'ions dans la cellule. Finalement le récepteur NMDA fournit un passage au Ca^{2+} , un cation impliqué dans plusieurs processus de signalisations intracellulaires qui mènent à la plasticité synaptique et à la neurotoxicité.

Les récepteurs NMDA sont des canaux ioniques formés d'un ensemble hétéromère de sous-unités. La diversité des sous-unités permet des propriétés pharmacologiques distinctes. Comme ces sous-unités sont exprimées différemment dans le cerveau, les propriétés du récepteur NMDA changent selon les régions où il est exprimé et lui permet ainsi d'être impliqué dans un éventail de fonctions physiologiques (Yamakura and Shimoji, 1999). Le récepteur NMDA est ainsi formé d'un répertoire de sous-unités qui sont rassemblées dans trois sous-types, NR1, NR2 et NR3. Il existe huit sous-unités NR1, toutes générées par épissage alternatif, quatre types de sous-unité NR2 (NR2A – D) et deux NR3 (Paoletti and Neyton, 2007). Ces deux dernières sont encodées par six gènes distincts. L'expression de recombinant fonctionnel dans les cellules mammifères requiert l'assemblage d'au moins une sous-unité NR1 et une sous-unité NR2. Toutefois, le consensus stœchiométrique établi à ce jour est que le récepteur NMDA est un tétramère composé habituellement de deux sous-unités NR1 et de deux autres sous-unités NR2 du même ou d'un différent type

(Dingledine et al., 1999). La sous-unité NR2A est la plus abondante dans le cerveau adulte et module les propriétés électrophysiologiques du récepteur comme la pharmacologie, la cinétique et la perméabilité aux ions Ca^{2+} (Dingledine et al., 1999). Dans le striatum les sous-unités NR1, NR2A et NR2B sont exprimés dans tous les types neuronaux, bien que NR1 et NR2B soient les sous-unités dominantes de cette structure (Standaert et al., 1994; Standaert et al., 1999). La sous-unité NR2C est presque absente alors que la NR2D semble se retrouver seulement dans les interneurons et n'est pas présente dans les MSN (Standaert et al., 1999).

1.7.2 Les récepteurs métabotropes du glutamate

On a longtemps cru que les effets neurophysiologiques du glutamate n'étaient qu'une intervention de celui-ci au niveau des récepteurs ionotropes discutés précédemment jusqu'à ce que Sladeczek et ses collègues découvrent que le glutamate pouvait aussi catalyser l'hydrolyse des phosphoinositols membranaires par l'intermédiaire d'un récepteur couplé aux protéines G (Sladeczek et al., 1985). Depuis cette découverte, la communauté scientifique a identifié huit types différents de récepteurs métabotropes du glutamate, nommés mGluR1 – 8. Les mGluRs font partie de la classe C des GPCR contrairement aux autres neurotransmetteurs plus classiques (Niswender and Conn, 2010). Ces récepteurs se distinguent de ceux de la classe A par la présence d'un large domaine N-terminale extracellulaire qui contient le domaine de liaison du ligand. Les huit mGluRs sont distribués en trois familles. Le groupe I inclut le mGluR1 et mGluR5 qui agissent sur la phospholipase C par l'intermédiaire d'une protéine $G\alpha_q$, le groupe II comprend les récepteurs mGluR2 et mGluR3 qui sont couplés négativement à l'adénylate cyclase via une protéine $G\alpha_i$ alors que le groupe III réunit les mGluR4, 5, 6, 7 et 8 qui sont aussi couplés négativement à l'adénylate cyclase. Les mGluR sont fortement exprimés dans le système nerveux central. Les membres du groupe I jouent principalement le rôle de récepteurs post-synaptiques alors que les membres des groupes II et III sont plutôt situés en pré-synaptique où ils jouent le rôle d'autorécepteur et d'hétérorécepteur en régulant la neurotransmission à

la baisse. En général, les mGluRs du groupe I sont couplés à une protéine $G\alpha_q$ qui active la phospholipase C et ainsi mène à une signalisation dépendante du Ca^{2+} .

Dans le striatum, les récepteurs mGluR1 et mGluR5 sont exprimés à la surface des MSN et des interneurons (Tallaksen-Greene et al., 1998). Dans les MSN, les mGluR5 potentialisent la conductance des récepteurs NMDA en favorisant la phosphorylation de la sous-unité NR1 (Pisani et al., 2001; Choe et al., 2006). Le lien entre les deux récepteurs glutamatergiques semble faire intervenir l'action du récepteur de l'adénosine A_{2A} (Domenici et al., 2004). À l'inverse, l'activation des récepteurs NMDA potentialise la signalisation intracellulaire liée au mGluR5 en limitant sa désensibilisation par l'activation de la protéine phosphatase calcineurine (Alagarsamy et al., 1999; Alagarsamy et al., 2002). L'activation des récepteurs mGluR1/5 module aussi la réponse synaptique de la dopamine en modulant l'activité de la phosphoprotéine DARPP-32. L'activité des mGluR1/5 sur cette signalisation est inverse à celle exercée par les récepteurs D1 (Nishi et al., 2003; Nishi et al., 2005). DARPP-32 présente ainsi un intermédiaire signalétique unique qui permet une modulation réciproque des deux systèmes de neurotransmetteurs. L'activation des récepteurs mGluR5 peut aussi moduler la voie de signalisation de ERK en faisant intervenir des protéines d'encrage de la famille des Homer (Mao et al., 2005b; Mao et al., 2005a). Comme il sera discuté plus tard, le mGluR5 joue aussi un rôle très important dans la plasticité synaptique des MSN.

Il est maintenant plus aisé de constater à quel point le glutamate peut moduler une multitude de caractéristiques physiologiques tant au niveau des propriétés d'excitabilité des neurones, par les récepteurs ionotropes, qu'à celui de la signalisation intracellulaire via les récepteurs métabotropes. Ce neurotransmetteur permet aux neurones de différentes régions de communiquer entre eux afin d'exécuter des fonctions hautement complexes. C'est pourquoi une étroite modulation de ce système est nécessaire à son bon fonctionnement et qu'un mince déséquilibre peut mener à des conséquences désastreuses. C'est au niveau

du striatum que s'effectue cette modulation puisque c'est cette structure qui doit recevoir et intégrer la multitude de signaux glutamatergiques provenant du cortex et du thalamus (Smith et al., 2011; Surmeier et al., 2011). On nomme ces deux voies corticostriée et thalamostriée, respectivement. Cette intégration d'information permet au cerveau de prendre des décisions quant aux mouvements appropriés à adopter pour une situation et permet la fluidité des tâches motrices tout en permettant l'interruption de celle-ci si une nouvelle information contraire à la fonction effectuée se présente (Thorn and Graybiel, 2010). C'est aussi au niveau de cette région que, grâce à la neurotransmission de tous les acteurs préalablement identifiés, l'apprentissage des fonctions exécutives s'effectue (Wickens, 2009; Lovinger, 2010). Le mécanisme principal qui permet cette vaste intégration est celui de la plasticité synaptique.

1.8 La plasticité synaptique dans le striatum

La plasticité synaptique est un processus général où une synapse est renforcée ou affaiblie afin de pouvoir augmenter ou affaiblir l'efficacité de celle-ci. La transmission synaptique peut donc être modifiée selon son activité et cette altération peut persister à travers un intervalle temporel qui peut s'étendre de quelques millisecondes à quelques jours ou mois, et peut-être même encore plus longtemps (Malenka, 2002). À titre d'exemple, un toxicomane n'ayant pas consommé une drogue depuis plusieurs années peut soudainement tomber en rechute s'il est confronté à un signal qui lui rappelle sa consommation passée. Il est de plus en plus reconnu que ce phénomène est lié à une plasticité synaptique aberrante qui s'est formée lors des premières expériences de consommation et qui persiste toujours après plusieurs années. La plasticité à long terme est reconnue comme le principal mécanisme de régulation du développement du cerveau et de la formation de la mémoire à long terme (Malenka, 2002). Dans les GB et principalement au niveau du striatum, la plasticité synaptique est le dispositif de sélection d'actions appropriées. Une action

convenablement effectuée mène à un résultat fructueux et enrichissant qui renforce le choix de l'action vers cette finalité. Au fil du temps, certaines actions peuvent être associées, permettant la sélection rapide de séquences motrices qui ne dépendent plus du caractère enrichissant de l'action et deviennent donc des habitudes (Balleine et al., 2007). A priori, l'apprentissage orienté vers un but s'effectue dans le striatum dorsomédian alors que l'acquisition plus lente des habitudes est contrôlée plutôt par le striatum dorsolatéral (Balleine et al., 2007). Le principal objectif du domaine est de comprendre comment la plasticité synaptique s'effectue dans le striatum et comment celle-ci se traduit à l'échelle du comportement.

Il existe deux formes de plasticité dans le striatum, la potentialisation à long terme (LTP) et la dépression à long terme (LTD). La LTP peut être rapidement générée et peut être prolongée et renforcée avec la répétition. Cette plasticité est spécifique pour chaque synapse, c'est-à-dire qu'elle peut être déclenchée dans une synapse précise et les phénomènes physiologiques activés n'influenceront pas les synapses adjacentes, ce qui augmente dramatiquement la capacité d'emmagasinage de l'information du striatum. Chaque synapse sur un même neurone peut contenir de l'information et la transmettre différemment et indépendamment des autres qui l'entourent. Ce type de plasticité peut être facilement induit expérimentalement par différentes méthodes électrophysiologiques qui facilitent son étude. L'activation du récepteur NMDA ainsi qu'une dépolarisation post-synaptique sont des événements cellulaires obligatoires pour déclencher la LTP, peu importe la région du cerveau (Malenka, 2002). Durant la neurotransmission basale à basse fréquence, le récepteur AMPA produit la plupart des courants excitateurs post-synaptiques puisque les neurones sont au potentiel membranaire d'équilibre. Toutefois lorsque les cellules entrent en dépolarisation, les récepteurs NMDA, en raison de leur activation dépendante du courant, peuvent s'activer et faire entrer le calcium à l'intérieur de la cellule. Ce calcium est aussi nécessaire à l'induction de la LTP puisqu'un chélateur de Ca^{2+} inhibe ce processus (Malenka et al., 1988). L'intervention de kinases dépendantes du calcium

comme la *calcium/calmodulin-dependent kinase II* (CaMKII) et la PKC sont aussi indispensables au processus (Malenka et al., 1989). L'expression de la LTP se fait plutôt en post-synaptique, où la conductance et l'expression des récepteurs AMPA sont augmentées (Malenka, 2002). La LTD partage plusieurs propriétés de la LTP telles que la spécificité synaptique. Elle peut complètement abolir le processus de LTP, un processus connu sous le nom de dépotentialisation. Contrairement à la LTP, la LTD mène à une internalisation des récepteurs AMPA et réduit ainsi l'efficacité synaptique, et ce, par l'intervention de protéines phosphatases dépendantes du calcium (O'Dell and Kandel, 1994; Winder and Sweatt, 2001).

La plasticité synaptique du striatum peut être modulée par plusieurs autres effecteurs et est différente selon le type de MSN impliqué. Les deux types principaux de plasticité sont présents dans le striatum (Calabresi et al., 1992b; Calabresi et al., 1992a, 1996; Kreitzer and Malenka, 2008) et peuvent être induits expérimentalement *in vivo* et *in vitro* par activation répétitive des afférences corticales excitatrices. La direction que va prendre la plasticité dépend du potentiel membranaire post-synaptique et donc de l'activation des récepteurs NMDA. D'un côté, si le MSN est tenu en condition d'hyperpolarisation, soit en injectant un courant ou en éliminant le Mg^{2+} du milieu extra-cellulaire, la LTP sera favorisée. D'autre part si le Mg^{2+} inhibe l'action des NMDA, la LTD sera alors favorisée. En effet, dans le striatum la LTD ne dépend pas de l'activation des NMDA contrairement à l'hippocampe. La plasticité du striatum supporte donc la théorie populaire de Hebb : « Les neurones actifs au même moment renforcent leurs connexions ». Ainsi, les manipulations qui visent à placer les MSN dans une forme hyperpolarisée ou à lever le bloc du Mg^{2+} des récepteurs NMDA simulent l'activation du neurone post-synaptique. Lorsque combiné avec la stimulation des afférences corticales il est possible de former la potentialisation de la synapse. Toutefois, l'implication de récepteurs membranaires couplés aux protéines G peut aussi favoriser un type de plasticité sur l'autre.

La découverte et l'utilisation soutenue des souris BAC (bacterial artificial chromosome) dans l'étude de la plasticité synaptique ont su élucider plusieurs mécanismes régulant ce phénomène dans les deux populations de MSN du striatum (Surmeier et al., 2007; Lerner and Kreitzer, 2011). La technologie des souris BAC tire parti de la cartographie à grande échelle du génome murin. Celui-ci se retrouve maintenant presque entièrement cloné en d'énormes fragments de 150-200 kpb dans des chromosomes artificiels de bactérie, d'où l'appellation (Gong et al., 2003). Cette technologie profite aussi du fait que ces gros fragments ont une chance accrue d'inclure les séquences de régulation génique similaires à celles retrouvées au niveau endogène. Un gène d'intérêt peut donc être sélectionné de la banque de clone, modifié génétiquement par recombinaison dans les bactéries et ensuite inséré dans des oocytes pour produire une colonie de souris génétiquement modifiées. Par cet outil, il est donc possible d'exprimer une protéine fluorescente comme la GFP sous le contrôle d'élément promoteur et régulateur d'un gène connu tel que le récepteur de la dopamine D₂. Ainsi une telle construction permettra la visualisation spécifique de la GFP dans les neurones qui expriment les D₂ permettant finalement l'identification de population neuronale distincte.

En effet, les études antérieures à l'arrivée de cette technologie ne pouvaient distinguer en temps réel les deux populations de MSN qui constituent le striatum. Ces nouvelles études ont donc su caractériser des mécanismes complexes et opposés selon le type de plasticité et la population neuronale impliquée. La LTD se développe expérimentalement dans les D2-MSN à la suite de stimulations à haute fréquence des afférences corticales couplées à la dépolarisation post-synaptique ou en réponse à une décharge temporelle négative (*negative spike timing*, lorsqu'une stimulation synaptique est livrée peu de temps après la décharge du MSN) (Shen et al., 2008). Cette LTD est induite par le déclenchement de cascades cellulaires impliquant la protéine G α_q couplée aux récepteurs mGluR5 et aux canaux calciques qui, ensemble, mènent à la mobilisation d'endocannabinoïdes (Adermark and Lovinger, 2007; Kreitzer and Malenka, 2008; Shen et al., 2008) (figure 7). Les

endocannabinoïdes sont libérés en tant que messagers rétrogrades, et viennent diminuer la probabilité de relargage du glutamate en activant le récepteur CB1 (Gerdeman et al., 2002). L'induction de la LTD dans les D₂-MSN requiert aussi l'activation du récepteur D₂, mais demande aussi à ce que les récepteurs A_{2A} restent inactivés (Shen et al., 2008). Ainsi, en régulant l'activation de ces deux GPCR, la dopamine et l'adénosine guident l'induction de la plasticité dans les D₂-MSN.

La LTP est induite dans les D₂-MSN par stimulation à haute fréquence des afférences corticales, mais seulement dans un milieu extracellulaire dépourvu de Mg²⁺ (Calabresi et al., 1992b; Calabresi et al., 1992a). Elle peut aussi être induite en présence de Mg²⁺ dans un contexte de décharge temporelle positive (*positive spike timing*, lorsqu'une stimulation synaptique est livrée peu de temps avant la décharge du MSN) (Shen et al., 2008). La LTP requiert donc l'activation des récepteurs NMDA post-synaptiques par levée du bloc Mg²⁺ (Calabresi et al., 1992a) (figure 7). Deux études récentes indiquent aussi que les facteurs neurotrophiques *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF) et *Fibroblast Growth Factor* (FGF) promeuvent la formation de cette plasticité possiblement en augmentant les courants NMDA (Flajolet et al., 2008; Jia et al., 2010). À l'opposé de la LTD, la LTP requiert l'activation des récepteurs A_{2A} et le silence des récepteurs D₂ (figure 7).

Les changements de plasticité synaptique dans les D₁-MSN sont moins étudiés et conséquemment moins clairs. La LTD semble se produire dans un contexte similaire aux D₂-MSN, c'est-à-dire par l'intervention d'une protéine Gα_q, d'un récepteur mGluR (possiblement mGluR5), des canaux calcium, et de la modulation pré-synaptique de la libération de glutamate par le récepteur CB1 (Shen et al., 2008) (figure 7). Les D₁-MSN n'expriment pas les récepteurs D₂ ni A_{2A}, mais possèdent toutefois une paire complémentaire de récepteurs couplés à une protéine Gα_s et Gα_i, les récepteurs D₁ et muscariniques M₄, respectivement (Kreitzer and Malenka, 2008). En effet, dans un contexte de décharge temporelle négative qui induit normalement la LTD, celle-ci ne peut

avoir lieu que si les récepteurs D_1 sont bloqués (Shen et al., 2008). Les récepteurs D_1 pourraient donc agir, dans les D_1 -MSN, de façon similaire aux récepteurs A_{2A} des D_2 -MSN alors que les récepteurs M_4 pourraient agir comme les récepteurs D_2 (figure 7). Aucune preuve ne soutient toutefois le rôle du récepteur M_4 dans la LTD, mais il reste un candidat très intéressant (Jeon et al., 2010; Lerner and Kreitzer, 2011). La LTP quant à elle requiert l'activation concomitante des récepteurs NMDA et D_1 (Shen et al., 2008).

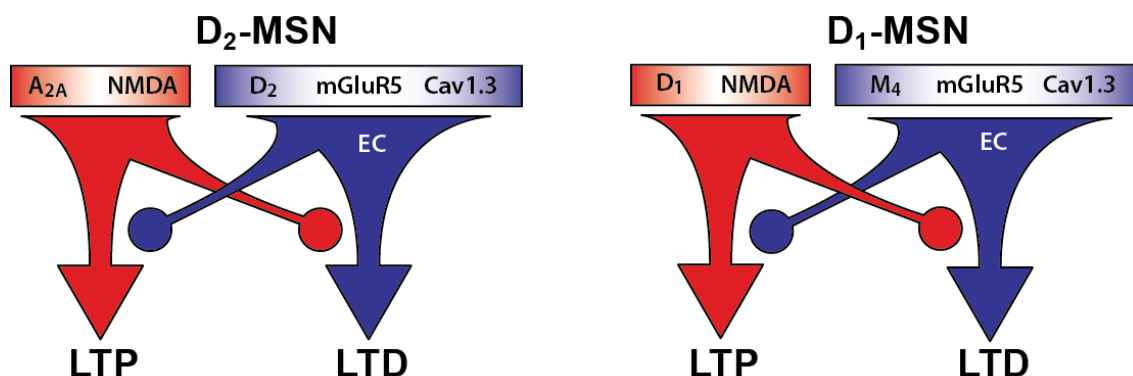


Figure 7 : Plasticité à long terme dans les deux populations de MSN.

Schématisation des différents récepteurs impliqués dans les phénomènes de potentialisation (LTP) ou dépression (LTD) à long terme dans les MSN de la voie directe (D_1 -MSN) et ceux de la voie indirecte (D_2 -MSN). Dans les D_2 -MSN, l'activation des récepteurs A_{2A} et NMDA mène à l'induction de la LTP et l'activation des récepteurs D_2 , mGluR5 et Cav1.3 induit la LTD. En outre, l'activation des récepteurs D_2 et A_{2A} s'oppose mutuellement dans l'induction de la plasticité. Dans les D_1 -MSN, l'activation des récepteurs D_1 et NMDA mène à la LTP et l'activation des récepteurs mGluR5, Cav1.3 et possiblement M_4 mène à l'induction de la LTD. Les récepteurs D_1 et mGluR5 s'opposent dans l'induction de la plasticité. Dans les deux populations, l'induction de la LTD dépend de la libération d'endocannabinoïdes. Abréviations : EC; endocannabinoïdes

Bien qu'au final, elle soit gérée par les récepteurs glutamatergiques, la plasticité synaptique est hautement influencée par plusieurs types de GPCR. En plus des récepteurs mentionnés, une récente étude a démontré que la sérotonine, via les récepteurs $5-HT_{1B}$, peut aussi influencer cette plasticité en induisant la LTD à la synapse corticostréenne, sans toutefois identifier le type de MSN impliqué (Mathur et al., 2011). Il est donc évident qu'une

situation physiologique venant perturber cette fine modulation pourrait avoir des effets percutants sur le bon déroulement de la plasticité synaptique. C'est le cas de la maladie de Parkinson, où la dopamine alors très faible, ne parvient plus à moduler la plasticité. Dans ce contexte, la LTP est favorisée en faveur de la LTD dans les D₂-MSN alors que l'inverse se produit dans les D₁-MSN (Shen et al., 2008). Cette perte de balance entre les deux types de plasticité pourrait bien être la cause des symptômes observés chez les patients atteints de la maladie. Il va sans dire que tout autre déséquilibre dopaminergique, par exemple dans les phénomènes d'abus de drogues ou alors dans la schizophrénie peut avoir un impact considérable dans le bon fonctionnement de la plasticité et subséquemment dans les modalités d'intégration du striatum et des GB.

Chapitre 2 : La schizophrénie et les antipsychotiques

2.1 Symptomatologie, étiologie et épidémiologie

La schizophrénie est un désordre mental chronique, fréquemment invalidant qui affecte près d'un pour cent (1 %) de la population mondiale sans discrimination sur la race ou le genre (Carpenter and Buchanan, 1994; McGrath et al., 2004) (statistiques canadiennes dans (Goeree et al., 2005)). L'apparition de la maladie à grande échelle arrive généralement à la fin de l'adolescence ou au début de l'âge adulte et consiste en une manifestation clinique de symptômes distincts et souvent coexistants communément appelés symptômes positifs, négatifs et cognitifs (Tandon et al., 2009). Les symptômes positifs englobent les hallucinations, les illusions, les délires et d'autres problèmes liés à la perception de la réalité. Les symptômes négatifs font référence à la perte d'un éventail de fonctions émotives et affectives telles que la perte de motivation, la pauvreté du langage, l'incapacité d'expérimenter du plaisir ainsi qu'un manque d'initiative ou d'intérêt. Finalement, plusieurs découvertes des dernières décennies ont identifié les symptômes cognitifs comme étant les plus importants de la maladie. En effet, ce type de symptôme, hautement prévalant chez les patients schizophrènes (Keefe et al., 2005), est présent durant le prodrome de la maladie (Heinrichs and Zakzanis, 1998) et dure majoritairement tout au long de la vie, même lorsqu'il y a rémission des symptômes positifs (Hoff et al., 2005). Certains dysfonctionnements cognitifs sont mêmes présents chez les membres familiaux non psychotiques de patients schizophrènes, ce qui démontre un certain caractère de prédisposition génétique à la maladie (Sitskoorn et al., 2004).

Le cours de la maladie suit généralement une trajectoire séquentielle qui débute par une séquence pré-morbide parsemée de subtils et génériques déficits cognitifs, sociaux et

parfois moteurs (Tandon et al., 2009). S'en suit la phase prodromale caractérisée par des symptômes positifs atténués ainsi qu'une constellation d'autres signes cliniques tels que des déficits cognitifs, des symptômes négatifs et de l'humeur. La différence entre les deux premières phases est imprécise et est fondée sur des assumptions que les dysfonctions pré-morbides reflètent plutôt une prédisposition au développement de la maladie alors que la phase prodromale est une manifestation prématurée de la schizophrénie. À la suite de la phase prodromale commence la phase psychotique déterminée par les premiers symptômes positifs de pleine envergure. Durant la première décennie, le patient vacille entre de fréquents épisodes psychotiques et quelques périodes de rémission partielle. Plus tard, la phase stable ou plateau décrit une période avec beaucoup moins d'épisodes psychotiques, mais persistants dans le déclin cognitif et les symptômes négatifs. Le rétablissement est très variable et peut survenir à n'importe quelle étape de la maladie et contrairement à ce que l'on croyait au début de la caractérisation de la maladie, une bonne proportion d'individus atteints de schizophrénie se remettent de la maladie. La schizophrénie est aussi associée à plusieurs autres désordres comorbides comme la dépression, les troubles obsessionnels-compulsifs, l'anxiété, le suicide et l'abus de substance (Tandon et al., 2009). Par son caractère hautement invalidant, la schizophrénie projette un profond impact sur les familles des patients et sur la société. En effet, ses impacts sur la société sont énormes en proportion de la prévalence de la maladie dans la population. Ils sont principalement dus à l'incapacité des individus schizophrènes au travail et aux coûts élevés associés aux fréquentes hospitalisations. En 2004, les coûts directs et indirects associés à la maladie, au Canada s'élevaient à plus de 6,85\$ milliards CAN (Goeree et al., 2005). La stigmatisation continue et l'incarcération accrue des individus schizophrènes accentuent le problème sociétal de ce désordre mental. Le bouc émissaire de ces coûts désastreux est sans aucun doute la médication qui est encore à ce jour très modeste en matière d'efficacité.

La schizophrénie est une maladie complexe et les causes semblent nombreuses, mais toujours nébuleuses. Il existe définitivement une composante génétique puisque les études

d'épidémiologie et de génétique décrivent bien une héritabilité accrue dans les familles de schizophrènes (Sullivan et al., 2003). Plus le lien entre deux personnes est rapproché, plus les chances d'héritabilité sont augmentées. Toutefois, comme le risque de schizophrénie chez les jumeaux identiques homozygotes n'est que de 40-50% (Kendler, 1983; Sullivan et al., 2003), il doit aussi y avoir une composante environnementale importante qui ne peut être négligée. Certaines études ont fait la démonstration que l'urbanité, l'émigration, la malnutrition ou l'infection virale pendant la grossesse ainsi que l'utilisation de cannabis ou de psychostimulants pouvaient augmenter le facteur de risque de 2-3 %, ce qui est aussi important que d'avoir un parent schizophrène au deuxième degré (Tandon et al., 2008). Malgré l'avènement du décodage du génome humain et la multitude d'études visant l'identification d'un gène spécifique aucun candidat n'est général à tous les cas de schizophrénie. C'est donc que la schizophrénie, en plus d'être une maladie complexe au niveau des facteurs de risque semble être aussi très complexe au niveau génétique et physiologique. Il faut croire que cette maladie provient d'un déséquilibre ou d'une dysfonction cérébrale possiblement déclenchée durant le développement et qui pourrait résulter d'une multitude de causes différentes.

2.1.1 L'hypothèse dopaminergique de la schizophrénie

L'hypothèse que la dopamine et certains mécanismes dopaminergiques sont au cœur des dérèglements qui causent la schizophrénie, en particulier les psychoses, est l'une des avenues les plus durables en psychiatrie. À travers l'Histoire, cette théorie a su évoluer pour intégrer les nouvelles observations cliniques (Howes and Kapur, 2009). Cette hypothèse a pris fondement à la découverte des antipsychotiques à la suite des travaux effectués par Carlsson et Lindqvist qui ont démontré que ces drogues augmentent le métabolisme de la dopamine lorsqu'administrées à des animaux (Carlsson and Lindqvist, 1963). Des preuves supplémentaires proviennent d'études démontrant que la réserpine peut être efficace pour le

traitement des psychoses. Il a été découvert ultérieurement que cette drogue bloque la recapture de la dopamine, menant à la disparition quasi complète de ce neurotransmetteur (Carlsson et al., 1957). Par la suite, une étude démontrant que l'amphétamine, une drogue d'abus qui augmente les niveaux synaptiques de dopamine, pouvant causer des psychoses chez des personnes saines est venue renforcer l'idée de l'hypothèse dopaminergique (Flaum and Schultz, 1996; Yui et al., 2000). C'est toutefois dans les années 70 que l'hypothèse dopaminergique fut cristallisée lorsque les premières manifestations cliniques d'efficacité des antipsychotiques ont été corrélées avec leur capacité à bloquer les récepteurs de la dopamine D₂ (Seeman and Lee, 1975; Seeman, 2002). Au début des années 90, l'hypothèse dopaminergique fut contrainte à de nouvelles observations cliniques et une révision semblait nécessaire. Cette première révision incorpore une nouvelle spécificité spatiale des dérèglements dopaminergiques. Les nouveaux résultats d'imagerie, de caractérisation *post-mortem* et d'études animales montrent maintenant que l'élévation de dopamine suggérée dans la première version n'est pas globale. En contradiction avec le premier modèle, certaines études ont démontré une baisse des niveaux de dopamine dans le cortex préfrontal. La version révisée de l'hypothèse dopaminergique propose donc que la schizophrénie résulte d'une hypodopaminergie dans le cortex préfrontal et d'une hyperdopaminergie dans le striatum (Davis et al., 1991). De plus, cette version offre pour la première fois un lien avec les symptômes spécifiques de la schizophrénie alors qu'il est présenté que l'hypofrontalité est reliée aux symptômes négatifs de la maladie alors que l'hyperdopaminergie sous-corticale explique les symptômes psychotiques positifs (Davis et al., 1991; Abi-Dargham et al., 2002). Récemment, des observations prises à l'aide d'équipement de haute technologie comme la tomographie à émission simple photon sont venues corroborer cette hypothèse. Par cette technique, un groupe de chercheurs est parvenu à montrer *in vivo* que la libération de dopamine induite par l'amphétamine était significativement plus élevée chez les schizophrènes jamais traités en comparaison avec des contrôles sains et que ce phénomène corrélait avec l'induction de symptômes psychotiques accrus (Laruelle et al., 1996; Abi-Dargham et al., 1998). Une troisième et dernière révision de l'hypothèse dopaminergique a été récemment proposée par Howes et Kapur. Celle-ci

incorpore les composantes génétiques et environnementales attribuables à l'étiologie de la schizophrénie en précisant que plusieurs aspects doivent être combinés pour mener au déséquilibre dopaminergique et converger vers les psychoses (Howes and Kapur, 2009). Ils suggèrent aussi que le déséquilibre dopaminergique provient plutôt d'une dysfonction dans le contrôle des mécanismes dopaminergiques pré-synaptiques. Dans cette révision, les psychoses sont expliquées par des aberrances dans la façon de distinguer des stimuli pertinents ou non (*aberrant salience*) et dans l'interprétation de ceux-ci ce qui confère une possibilité d'avoir différents types de psychose selon l'environnement culturel des individus (Kapur, 2003; Kapur et al., 2005; Howes and Kapur, 2009). L'ensemble des versions disponibles de l'hypothèse dopaminergique arrive à fournir des bases assez solides pour expliquer les symptômes positifs ainsi que la pathophysiologie de la schizophrénie. Toutefois, cette hypothèse est loin d'être capable d'expliquer les symptômes négatifs et positifs de la maladie.

2.1.2 L'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie

Les études initiales utilisant la phencyclidine (PCP) et la kétamine au début des années 1960 ont démontré qu'elles pouvaient susciter chez des volontaires sains des symptômes à la fois positifs, négatifs et cognitifs rappelant le spectre symptomatique observé chez les patients schizophrènes (Javitt and Zukin, 1991; Krystal et al., 1994; Lahti et al., 1995). De plus, ces mêmes drogues exacerbent les symptômes de patients schizophrènes suggérant que ces antagonistes non compétitifs des récepteurs NMDA affectent un système qui est déjà vulnérable dans la schizophrénie (Malhotra et al., 1997; Lahti et al., 2001). De plus, les psychoses ainsi que les changements moléculaires et physiologiques engendrés par le PCP, peuvent être prévenus avec des antipsychotiques (Corbett et al., 1995; Lopez-Gil et al., 2007). Cette hypothèse suggère donc qu'une hypoactivité des récepteurs NMDA pourrait être la cause de certains symptômes (Javitt and

Zukin, 1991). Les rongeurs traités avec du PCP sont d'ailleurs des modèles expérimentaux de schizophrénie très utilisés dans les recherches en biologie moléculaire et en pharmacologie (Lipska and Weinberger, 2000; Gainetdinov et al., 2001). De ces nouvelles observations ont émergé des preuves importantes du lien très étroit qui relie la dopamine au glutamate. Ces deux hypothèses n'expliquent en aucun cas l'étiologie de la maladie, mais plutôt ses symptômes.

2.2 Les antipsychotiques

Les antipsychotiques (APD) ont été découverts de manière fortuite au milieu des années 50 à l'arrivée de la chlorpromazine qui fut d'abord utilisée comme anesthésique chirurgical pour ensuite devenir le prototype de ce qui était précédemment appelé neuroleptique. Dès lors, cette classe de médicaments est utilisée couramment pour le traitement des psychoses, mais aussi pour pallier à certains symptômes du désordre bipolaire et certains cas de dépression.

2.2.1 Les antipsychotiques typiques ou de première génération

Depuis les 50 dernières années plusieurs molécules ont été créées afin d'améliorer l'efficacité de cette médication. En effet, la première génération d'APD, ou communément appelé APD typiques (tableau 1), est efficace pour traiter les symptômes positifs de la schizophrénie, mais peu ou pas efficace contre les symptômes négatifs et cognitifs. De plus, cette première génération d'APD est reconnue pour provoquer d'importants effets secondaires moteurs de type parkinsonien qui ajoutent au fardeau incapacitant de la maladie. Ces effets secondaires sont appelés symptômes extrapyramidaux (SEP) et sont caractérisés par de sérieux problèmes de contrôle moteur comme les dystonies, l'akathisie, les bradykinésies et les tremblements. Les patients développant de l'akathisie sont

contraints avec des piétinements incessants souvent difficiles à distinguer d'une agitation volontaire. Ces symptômes spécifiques entraînent souvent l'arrêt du traitement antipsychotique. C'est pourquoi un co-traitement avec le propranolol était souvent utilisé pour contrôler l'akathisie et ainsi améliorer la thérapie générale (Kramer et al., 1989). Les bradykinésies sont décrites par une rigidité musculaire importante qui se manifeste par des mouvements ralentis au niveau des extrémités et la perte progressive des mouvements fins. D'un point de vue clinique, les bradykinésies miment souvent les symptômes de la dépression. Les traitements aux antipsychotiques sont souvent donnés en concomitance avec des drogues anti-parkinsoniennes et anticholinergiques (e.g. cogentin, kémadrin) pour réduire les bradykinésies (Freedman, 2003). Les dyskinésies tardives (ou mouvements choréiformes) et les mouvements orofaciaux sont des manifestations cliniques fréquentes qui se présentent chez près de 30 % des patients généralement après plusieurs années de médication (Gardos et al., 1994). Les dyskinésies tardives peuvent être irréversibles, mais disparaissent généralement après l'arrêt du traitement avec des APD typiques (Gardos et al., 1994). Ce type de médication peut aussi mener à des troubles endocriniens comme la production accrue de prolactine (Milano et al., 2011). Plus de 120 études d'imagerie ont investigué l'effet in vivo des traitements antipsychotiques (revue dans (Frankle and Laruelle, 2002)). Elles démontrent qu'à doses cliniquement pertinentes tous les APD couramment permis et utilisés bloquent les récepteurs D₂ de la dopamine. De plus, on doit obtenir une occupation de 65-70 % des récepteurs D₂ striataux pour obtenir un effet favorable sur les psychoses (Farde et al., 1992; Kapur et al., 1996). Toutefois, le blocage abusif des récepteurs D₂ mène aussi aux effets secondaires si communs de cette médication. L'effet antipsychotique est attribué aux récepteurs D₂ bloqués dans les aires limbiques du striatum ventral, soit le noyau de l'accumbens alors que les effets moteurs surviennent parce que les récepteurs D₂ du striatum dorsal, principal intégrateur des fonctions motrices, sont bloqués (Wadenberg et al., 2001).

Tableau 1 : Principaux antipsychotiques typiques utilisés dans le traitement des symptômes de la schizophrénie

Famille	Nom générique	Nom commercial
Phénothiazines	Chlorpromazine	Thorazine®
	Fluphénazine	Prolixin®
	Perphénazine	Trilafon®
	Prochlorpérazine	Compazine®
	Thioridazine	Mellaril®
	Trifluopérazine	Stelazine®
Butyrophénones	Halopéridol	Haldol®
	Dropéridol	Dropletan®

2.2.2 Les antipsychotiques atypiques ou de seconde génération

Quelques années après l'entrée des APD typiques, le monde pharmaceutique a vu naître une nouvelle génération d'antipsychotiques avec comme premier candidat la clozapine. Ces nouveaux antipsychotiques aussi appelés atypiques (tableau 2) possèdent toujours une certaine affinité pour les récepteurs D₂ (Meltzer, 1995; Pickar et al., 1996), mais contrairement aux APD de première génération, ces nouveaux venus possèdent de plus fortes affinités pour d'autres types de récepteurs principalement sérotoninergiques (5-HT). En clinique, les APD atypiques, à dose efficace, occupent de 80 à 100 % des récepteurs de la sérotonine (5-HT_{2A}) (Travis et al., 1997). Meltzer et collègues ont démontré qu'un ratio élevé des affinités pour les récepteurs 5-HT_{2A} par rapport aux récepteurs D₂ (5-HT_{2A}/D₂) pouvait prédire l'atypicalité d'un antipsychotique et corrélait avec une meilleure efficacité clinique ainsi qu'une diminution dans la production des SEP (Meltzer et al., 1989; Schotte et al., 1996). Le blocage des récepteurs 5-HT_{2A} viendrait donc compenser celui des récepteurs D₂ et réduire la production des SEP. Comme la sérotonine inhibe la neurotransmission dopaminergique (Navailles and De Deurwaerdere, 2011), il est suggéré que l'inhibition des récepteurs 5-HT₂ augmente la libération de dopamine et

renverse l'effet du blocage des récepteurs D2 spécifiquement dans la voie nigrostriée (Casey, 2004). D'une autre façon, la composante 5-HT_{2A} des APD atypiques semble augmenter l'efficacité de la composante D₂, réduisant ainsi le besoin d'un fort blocage de cette dernière. L'administration concomitante d'antagoniste spécifique 5-HT_{2A} réduit la dose nécessaire d'APD typique pour l'obtention d'effets comportementaux similaires (Meltzer and Huang, 2008). De manière similaire, l'administration conjointe d'un agoniste 5-HT_{1A} et d'un APD typique produit des effets antipsychotiques supérieurs à l'injection d'APD typique seul (Prinssen et al., 1996; Wadenberg et al., 1998). Cette dernière observation démontre que les récepteurs 5-HT_{1A} sont aussi responsables de l'efficacité soi-disant supérieure des APD atypiques, dont la majorité partage un profil d'agoniste partiel pour ce récepteur (Newman-Tancredi et al., 1998). Étant donné la présence des récepteurs 5-HT dans plusieurs régions cérébrales associées aux effets antipsychotiques, il est difficile d'établir un réel lien de cause à effet de ces récepteurs dans le mécanisme d'action des antipsychotiques. La majorité des conséquences directes du blocage des récepteurs 5-HT semblent provenir de la régulation des systèmes neuronaux corticaux, surtout pour les 5-HT₁. D'autre part, comme ils modulent la neurotransmission dopaminergique leurs effets peuvent s'exprimer dans toutes les régions innervées par celle-ci. Finalement, ils peuvent aussi exercer des effets importants directement dans le striatum. Récemment, une étude a démontré un rôle important des récepteurs 5-HT_{2A} dans la modulation de la plasticité synaptique de la voie corticostriée (Mathur et al., 2011). Ce processus est possiblement altéré dans la schizophrénie ainsi que lors d'un traitement antipsychotique menant au développement de SEP.

Bien que la majorité des APD typiques et atypiques aient une composante adrénérgique α_1 , certains APD atypiques comme la clozapine et la rispéridone démontrent aussi une forte affinité pour les récepteurs α_2 (Schotte et al., 1996; Minzenberg and Yoon, 2011). Une activité antagoniste au niveau de ce récepteur pourrait contribuer à l'atypicalité des APD de nouvelle génération (Svensson, 2003). Malheureusement, l'affinité des récepteurs

adrénergiques pour les APD est aussi généralement associée à l'apparition d'effets secondaires comme la sédation, le gain de poids important et l'hypotension orthostatique (Muller and Kennedy, 2006). Le blocage de ces récepteurs augmente la concentration de dopamine dans le cortex et prévient des comportements, caractéristiques des effets secondaires produits par l'halopéridol tels que les catalepsies (Wadenberg et al., 2007). L'idazoxan, un antagoniste des α_2 arrive même, à lui seul, à réduire les déficits sensorimoteurs induits par l'amphétamine et le PCP, deux modèles animaux partiels de la schizophrénie (Larrauri and Levin, 2011).

D'autres APD atypiques, comme l'aripiprazol, possèdent des mécanismes d'action différents. Ce médicament est connu pour faciliter la transmission dopaminergique, améliorant ainsi certains problèmes de cognition, tout en bloquant, grâce à ses propriétés d'agoniste partiel, les niveaux trop élevés de transmission qui causent les psychoses (Freedman, 2003). Il se pourrait aussi que les APD atypiques possèdent leurs propriétés en partie par leur interaction, sensiblement indirecte, sur le système glutamatergique. En effet, la clozapine et l'olanzapine, deux APD atypiques, inhibent, par des mécanismes encore inconnus, les effets du PCP tant sur le plan biochimique que comportemental alors que l'halopéridol et le raclopride, deux APD typiques, n'y parviennent pas (Bakshi et al., 1994; Arvanov and Wang, 1999).

L'avantage majeur des APD atypiques réside dans leur faible capacité à produire des SEP tout en gardant des propriétés cliniques semblables et dans certains cas supérieures en comparaison avec les APD typiques. La seconde génération d'APD possède une efficacité similaire aux APD typiques pour traiter les symptômes positifs (Bouchard et al., 2000), mais semble plus adéquate au traitement des symptômes négatifs (Martyns-Yellowe, 1994) et cognitifs (Bilder et al., 2002) de la maladie menant par le fait même à une diminution des rechutes psychotiques (Csernansky et al., 2002). Toutefois, la réduction des SEP avec l'arrivée des APD atypiques a laissé place à d'autres types d'effets secondaires non

négligeables qui sont selon plusieurs spécialistes d'une gravité similaire à ceux observés par le passé. Parmi ces effets néfastes, on retrouve de l'agranulocytose, des gains de poids sévères, de l'hypotension, le développement de certains types de diabète et une forte tendance à la discontinuation du traitement (Lieberman et al., 2005).

Tableau 2 : Principaux antipsychotiques atypiques utilisés dans le traitement des symptômes de la schizophrénie

Famille	Nom générique	Nom commercial
Diazépine	Clozapine	Clozaril®
	Olanzapine	Zyprexa®
Thiazépine	Quetiapine	Seroquel®
Dérivés	Ziprasidone	Geodon®
Indoliques	Sertindol	Serlect®
Autres	Risperidone	Risperdal®
	Aripiprazole	Abilify®

Une étude d'envergure de Lieberman et collaborateurs (The CATIE Study ; *Clinical Antipsychotic Trials in Intervention Effectiveness*), comparant près de 1500 patients traités avec différents antipsychotiques, a révélé que les sujets sous traitement aux antipsychotiques atypiques abandonnaient plus fréquemment leur traitement (Lieberman et al., 2005). En considérant ces niveaux élevés d'abandon et l'efficacité respective des deux classes d'APD, le portrait global de cette étude laisse croire que l'efficacité thérapeutique entre les typiques et atypiques est très semblable. Ces observations viennent mettre en évidence que, bien qu'il y ait eu amélioration, le traitement aux antipsychotiques atypiques n'est pas encore tout à fait au point. Comme il n'existe encore aucun APD capable d'améliorer la variété complète des symptômes de la schizophrénie, un traitement efficace devra donc comporter plusieurs produits qui seront utilisés en concomitance avec les APD

pour réduire au maximum les effets secondaires néfastes tout en gardant le profil pharmaceutique désiré.

2.2.3 Les antipsychotiques de la prochaine génération?

La popularité ascendante de l'hypothèse glutamatergique de la schizophrénie a mené récemment à une nouvelle approche pharmaceutique utilisant des modulateurs des récepteurs NMDA ou de la neurotransmission glutamatergique en général. Ceux-ci ont démontré jusqu'à maintenant une efficacité significative en préclinique. Tout d'abord, des approches directes et indirectes visent le site modulateur de la glycine des récepteurs NMDA. Par exemple, l'acide aminé naturel glycine, qui sert de modulateur endogène des récepteurs NMDA, ou le médicament contre la tuberculose D-cyclosérine, qui réagit aussi avec le site de la glycine, ont tous deux montré une efficacité dans des modèles précliniques. La glycine démontre aussi un potentiel clinique lorsqu'on la donne conjointement avec un APD (Javitt, 2010). Pour l'instant, les produits utilisés pour moduler le site de la glycine sont tous des produits naturels ce qui limite leur utilisation réelle en clinique, mais leur efficacité démontre tout de même une certaine preuve conceptuelle qui pourrait mener à l'éventuel développement de molécules synthétiques plus spécifiques et efficaces. Il existe aussi la possibilité de cibler les transporteurs de la glycine, normalement responsable de sa recapture de la fente synaptique, pour augmenter la concentration de cet acide aminé dans le SNC (Javitt, 2010). Pour l'instant, l'avenue glutamatergique la plus prometteuse provient des études précliniques et cliniques d'un modulateur allostérique positif des récepteurs mGluR2/3 (Woolley et al., 2008; Kinon et al., 2011). C'est donc pour cet apparent manque de médication à haute efficacité et/ou spécificité pour traiter les symptômes de la schizophrénie que la recherche de différentes avenues doit continuer. Comme les molécules qui partagent une affinité pour les récepteurs D₂ n'arrivent pas à une pharmacologie pertinente, une nouvelle approche pourrait donner de meilleures cibles.

Malgré les recherches intensives effectuées dans le domaine de la pharmacologie des antipsychotiques, les cascades signalétiques intracellulaires déclenchées lors de la liaison de l'agent thérapeutique aux récepteurs membranaires des différents neurotransmetteurs restent encore méconnues. Les changements physiologiques de longue durée produits par les antipsychotiques impliquent que ces derniers activent des kinases, des récepteurs nucléaires et la production de nouvelles protéines pour pallier à ces changements. Un tel phénomène requiert l'activation de facteurs de transcription précis qui mène à la transcription génique. De plus, bien que les antipsychotiques soient des antagonistes, la plupart de ces molécules exercent des propriétés d'agonistes inverses, du moins *in vitro* (Akam and Strange, 2004), et peuvent altérer les autres systèmes de neurotransmission (voir sections suivantes).

Chapitre 3 : Les facteurs de transcription

La majorité des antipsychotiques induisent la transcription de certains gènes d'induction précoce qui sont des facteurs de transcription (Nguyen et al., 1992; Robertson et al., 1994; Beaudry et al., 2000). Dans cette famille, *c-fos* est sans contredit le plus étudié et est souvent reconnu comme marqueur d'activité cellulaire à la suite d'un traitement pharmacologique. L'induction de l'ARNm de *c-fos* a fait l'objet d'innombrables recherches afin de cartographier son induction à la suite d'un traitement aigu ou chronique aux antipsychotiques. Généralement, tous les APD, typiques ou atypiques, induisent *c-fos* dans le noyau accumbens, phénomène qui correspondrait à l'effet antipsychotique de ces drogues (Robertson et al., 1994). L'induction de l'expression de l'ARNm de *c-fos* dans le cortex préfrontal serait liée à l'amélioration des symptômes négatifs par les APD atypiques (Robertson and Fibiger, 1992). Finalement, les APD typiques induisent ce gène d'induction rapide dans le striatum dorsal, ce qui est indicatif de la production des SEP, caractéristique à cette classe d'APD (Dragunow et al., 1990). Ce gène peut donc être utile pour prédire l'efficacité clinique d'une drogue antipsychotique ainsi que sa prévalence à causer des SEP.

Δ FosB est un facteur de transcription unique récemment associé aux importants changements adaptatifs du cerveau déclenchés par certaines conditions (pour une revue, voir (McClung et al., 2004). Il se distingue des autres membres de sa famille par sa grande stabilité et sa capacité à s'accumuler dans la cellule à la suite d'une variété de traitements chroniques avec des drogues d'abus (e.g. cocaïne, amphétamine, PCP) ou des APD typiques et atypiques (Atkins et al., 1999; McClung et al., 2004). C'est cette persistance qui lui confère des propriétés importantes pour moduler la plasticité synaptique (McClung et al., 2004).

3.1 La famille des *Nurs*

Depuis les dernières années, le laboratoire d'accueil a identifié certains récepteurs nucléaires qui semblent impliqués dans l'action des antipsychotiques et des SEP qu'ils provoquent (pour revue, voir (Levesque and Rouillard, 2007)). Les *Nurs* (*Nur77*, *Nurr1* et *Nor-1*) sont des récepteurs nucléaires orphelins étroitement reliés à la famille des récepteurs hormonaux thyroïdiens/stéroïdiens (Hazel et al., 1988; Milbrandt, 1988). L'appellation « orphelin » vient du fait que ces récepteurs nucléaires ne possèdent pas de ligand endogène connu à ce jour et plusieurs preuves suggèrent que leur domaine de liaison au ligand est défectueux en raison de liaisons hydrophobes anormales qui bloquent la cavité (Wang et al., 2003). *Nurr1* (NR4A2), exprimé dans les neurones dopaminergiques de la substance noire et de l'aire tegmentaire ventrale, est indispensable au développement et au maintien du phénotype des neurones dopaminergiques (Zetterstrom et al., 1997; Kadkhodaei et al., 2009). Il est responsable de la transcription de la tyrosine hydroxylase (TH), enzyme de biosynthèse de la dopamine, du transporteur de la dopamine (DAT) et du transporteur vésiculaire des monoamines (Sakurada et al., 1999; Hermanson et al., 2003). *Nur77* (NR4A1) (aussi connu sous le nom de *Nerve Growth Factor Inducible gene B* ou NGFI-B) et *Nor-1* (*Neuron Derived Receptor-1*, NR4A3) sont exprimés tous deux dans les structures cibles des afférences dopaminergiques comme le noyau caudé et le putamen (striatum), le noyau accumbens, les tubercules olfactifs et les cortex préfrontal et cingulaire (Zetterstrom et al., 1996a; Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000). Ces récepteurs nucléaires sont aussi des facteurs de transcription qui peuvent se lier à l'ADN sous différentes formes pour initier la transcription de gènes différents. Le domaine de liaison à l'ADN de *Nur77* consiste en deux doigts de zinc qui interagissent avec le sillon majeur de l'ADN, reconnaissant ainsi la séquence consensus, alors que la partie C-terminale se loge dans le sillon mineur pour assurer la stabilité du complexe (Meinke and Sigler, 1999). Les *Nurs* se distinguent des autres membres de la famille des récepteurs nucléaires par leur capacité à lier l'ADN sous forme de monomère à l'aide de la séquence consensus NBRE (*NGFI-B*

responsive element) (Wilson et al., 1991) et sous forme d'homodimère sur la séquence NurRE (*Nurs responsive element*) (Philips et al., 1997). *Nur77* et *Nurr1*, mais pas *Nor-1*, peuvent aussi former un nouveau complexe transcriptionnel avec le récepteur nucléaire des rétinoïdes RXR (*Retinoid X receptor*) sur la séquence consensus DR-5 et ainsi engager, d'une manière dépendante aux rétinoïdes, la transcription d'un autre groupe de gènes (Zetterstrom et al., 1996b) (figure 8).

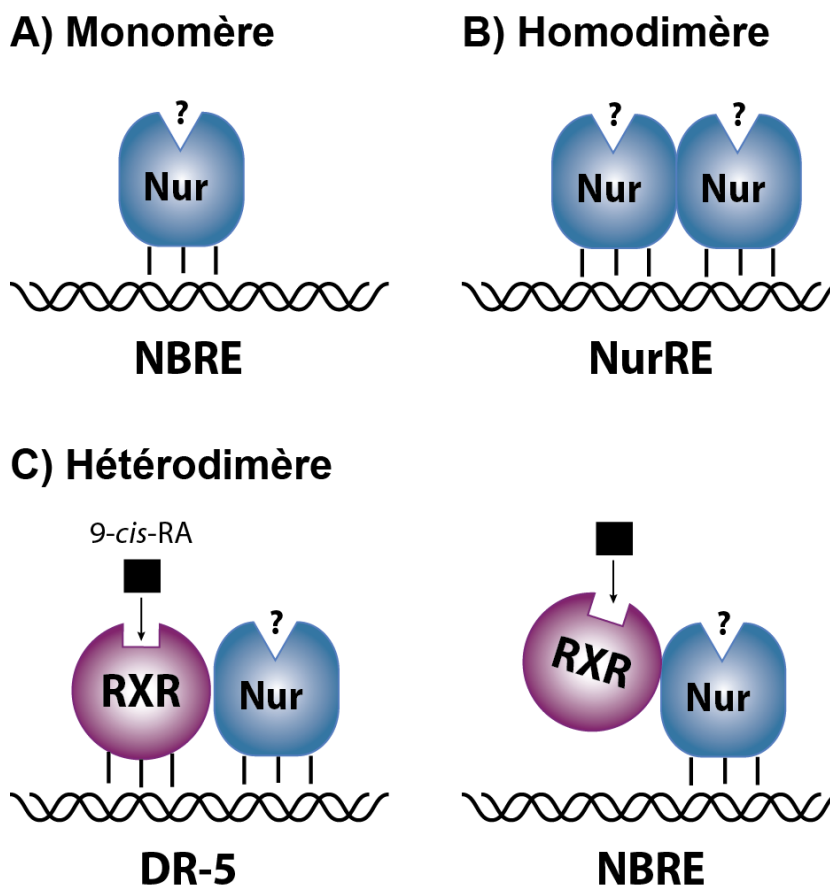


Figure 8 : Schématisation des différentes activités transcriptionnelles de *Nur77*.

Nur77 peut se lier à différents éléments de réponse de l'ADN en tant que monomère, homodimère ou hétérodimère avec RXR. (adapté de (Levesque and Rouillard, 2007))

Dans le système nerveux central, *Nur77* est très sensible à tout changement dans la transmission dopaminergique. Un traitement avec l'halopéridol (APD typique) module fortement l'ARNm de *Nur77* dans le striatum, dans le noyau accumbens et dans le cortex préfrontal, alors que la clozapine (APD atypique) reste inactive dans le striatum (Beaudry et al., 2000; Maheux et al., 2005) (figure 9). Une étude exhaustive établie pour tester le patron d'induction de l'ARNm de *Nur77* par différents APD typiques et atypiques a démontré que l'induction de l'ARNm de *Nur77* dans le striatum corrèle avec le ratio d'affinité 5HT_{2A}/D₂ (Maheux et al., 2005). Ainsi, l'induction de ce gène peut être utilisée pour déterminer le profil clinique (l'atypicalité) des APD nouvellement développés. Dans le même sens, la réduction sévère des niveaux de dopamine dans le striatum à la suite d'une lésion de la voie nigro-striée à la neurotoxine 6-OHDA chez le rat, induit fortement *Nur77* dans les neurones exprimant l'ENK et le récepteur D₂ (St-Hilaire et al., 2003). Ces mêmes neurones striataux subissent une perte accrue de leurs épines dendritiques à la suite d'un traitement à la 6-OHDA (Day et al., 2006; Deutch et al., 2007; Neely et al., 2007). Cette perte est des plus pertinentes dans le développement des mouvements anormaux connus de la maladie de Parkinson. Elle semble être associée à une dépolarisation aberrante des D₂-MSN et à une induction de *Nur77* suivant l'ouverture de canaux calciques dépendant du voltage (Cav1.2 et/ou Cav1.3) et l'activation de messagers cellulaires impliquant MEF-2 (*Myocyte Enhancer Factor – 2*) (Tian et al., 2010).

La réponse cataleptique chez les rongeurs est reconnue comme étant un modèle fidèle des SEP chez l'homme (Hoffman and Donovan, 1995). Cette réponse consiste en une incapacité motrice survenant à la suite du traitement antipsychotique. Elle est mesurée par la durée d'immobilité de l'animal. Les souris déficientes en *Nur77* (*Nur77*(-/-)) démontrent une réponse cataleptique de moins grande ampleur à la suite d'un traitement à l'halopéridol (Ethier et al., 2004b). Les dyskinésies tardives surviennent généralement après un traitement prolongé aux APD typiques. Ces dyskinésies sont modélisées chez la souris comme des mouvements orofaciaux qui consistent à des mâchouillements aléatoires et sans

but, nommés *vacuous chewing movements* (VCM) (Casey, 2000; Turrone et al., 2002). Les souris *Nur77(-/-)* montrent une réponse dyskinétique exagérée après un traitement chronique à l'halopéridol (Ethier et al., 2004a). Les observations tirées des souris déficientes en *Nur77* suggèrent que ce facteur de transcription est très important dans les fonctions physiologiques qui mènent au développement des SEP et dans le phénomène d'adaptation qui survient après un traitement soutenu. Récemment, un polymorphisme nucléotidique dans le gène de *Nur77* chez l'humain (NR4A1) a été associé au développement des dyskinésies tardives dans une cohorte caucasienne de schizophrènes (Novak et al., 2010).

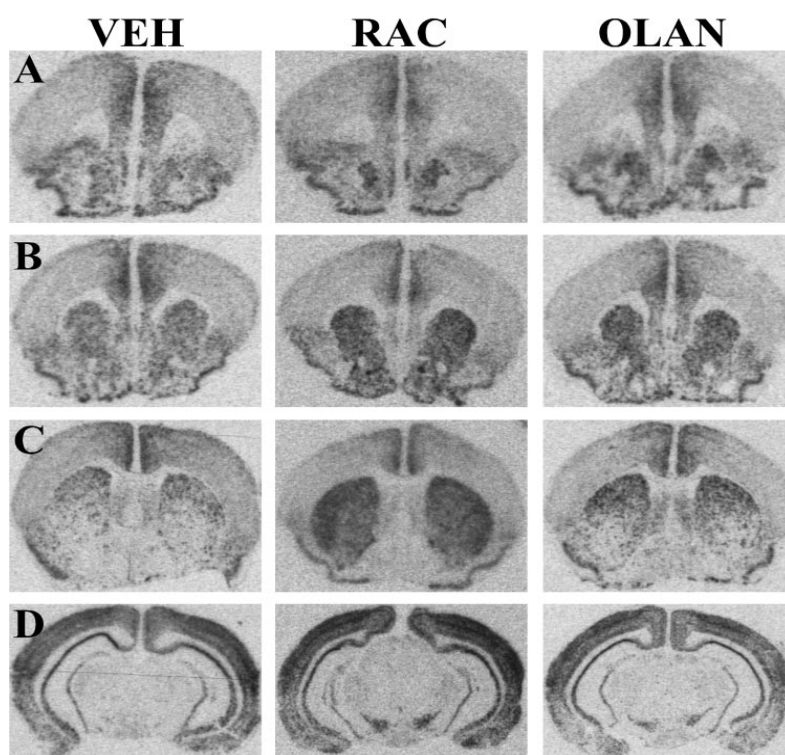


Figure 9 : Induction de l'ARNm de *Nur77* par les différents antipsychotiques.

Exemple d'autoradiogramme de cerveau de souris issu d'une hybridation *in situ* contre l'ARNm de *Nur77*. L'administration d'un APD typiques, mais non atypiques, induit l'ARNm de *Nur77* dans le striatum. Abréviations : VEH; véhicule salin, RAC; raclopride, antagoniste spécifique des récepteurs $D_{2/3}$, OLAN; olanzapine, antipsychotique de seconde génération (tiré de (Maheux et al., 2005)).

Nur77 a la capacité de former un complexe hétérodimérique avec RXR, un facteur de transcription des rétinoïdes, pour initier une nouvelle activité transcriptionnelle (Perlmann and Jansson, 1995; Zetterstrom et al., 1996b). Un traitement aigu avec l'halopéridol provoque une co-localisation de *Nur77* et de l'isoforme $\gamma 1$ de RXR (RXR $\gamma 1$) dans les neurones striato-pallidaux du striatum (Ethier et al., 2004b). Cette co-localisation induite par le traitement à l'halopéridol suggère une nouvelle interaction entre *Nur77* et RXR qui semble être importante dans le phénomène des dyskinésies tardives. Les ligands exogènes des rétinoïdes comme l'acide rétinoïque 9-*cis* (9-*cis*-RA), le DHA (un acide gras polyinsaturé qui agit comme ligand des RXR dans le SNC) et le HX-531 (antagoniste des RXR) perturbent la réponse cataleptique et dyskinétique. L'hypothèse de la nouvelle interaction entre *Nur77* et RXR vient, dans ce cas, prendre de la crédibilité puisque les effets provoqués par les ligands des rétinoïdes disparaissent dans les souris *Nur77* KO (Ethier et al., 2004a).

De plus, *Nur77* ne semble pas seulement impliqué au niveau des effets néfastes induits par les antipsychotiques, mais aussi dans la manifestation des symptômes de la schizophrénie directement. Bhardwaj et collaborateurs ont observé une réduction marquée de l'expression de *Nur77* dans les cortex préfrontal et cingulaire de rongeurs adultes ayant subi une lésion néonatale de l'hippocampe (Bhardwaj et al., 2003), l'un des modèles animaux qui reproduit certains symptômes associés à la schizophrénie. Chez l'humain, des études sur des tissus *post-mortem* ont montré des diminutions similaires de *Nur77* dans le cortex préfrontal des schizophrènes (Xing et al., 2006).

Les observations disponibles à ce jour laissent peu de doute quant à l'implication de *Nur77* dans certains changements moléculaires engendrés par les antipsychotiques. Toutefois, les cascades moléculaires qui mènent à l'induction de ce gène d'induction précoce dans le système nerveux central sont toujours inconnues. En périphérie, comme dans le système immunitaire, *Nur77* peut être modulé par plusieurs kinases ou plusieurs voies signalétiques

comme par la protéine kinase A (PKA) (Kovalovsky et al., 2002; Maira et al., 2003), les MAP (Mitogen-Activated Protein) kinase (Jacobs and Paulsen, 2005; Han et al., 2006), les MSK (Mitogen- and Stress-activated Kinase) (Darragh et al., 2005), les RSK (Ribosomal S6 Kinase) (Wingate et al., 2006) et finalement l'Akt (Protéine Kinase B) (Masuyama et al., 2001; Pekarsky et al., 2001). Dans le cerveau, notre laboratoire a démontré que l'induction de l'ARNm de *Nur77* dans le striatum est régulée au moins par la voie des ERK et de la PKC (Bourhis et al., 2008). En effet, l'activation de la PKC est partiellement responsable de cette réponse déclenchée par un antagoniste spécifique D₂/D₃. En contradiction, il semblerait que la voie des ERK régule négativement l'induction de *Nur77* puisque l'inhibition de cette voie mène à l'exacerbation des effets de l'antagoniste D₂/D₃. Comme mentionnée précédemment, l'induction de *Nur77* peut aussi être régulée par MEF-2 (Shalizi et al., 2006; Tian et al., 2010). L'identification des événements signalétiques en amont de l'induction de *Nur77* ainsi que des gènes qu'elle régule pourrait donner une meilleure compréhension des phénomènes adaptatifs dopaminergiques et peut-être éventuellement mener à la découverte de nouvelles cibles pharmaceutiques pour améliorer les traitements existants pour les symptômes de la schizophrénie.

Chapitre 4 : Objectif général

La médication actuellement utilisée pour traiter les symptômes de la schizophrénie est encore loin de la perfection. L'arrivée des APD atypiques a résolu quelques problèmes, mais leur réelle efficacité est toujours mitigée. Le laboratoire du Dr. Daniel Lévesque s'intéresse depuis plusieurs années aux mécanismes cellulaires qui régulent la modulation de l'expression génique de *Nur77*. En effet, comme il a été discuté, l'importance de ce facteur de transcription au niveau du système dopaminergique, et surtout face aux effets modulés par les APD, fait de cet acteur une cible intéressante pour reconsidérer la thérapeutique actuelle. De plus, l'utilisation de l'expression de l'ARNm *Nur77* en tant que lecture de la finalité cellulaire des APD est un excellent outil pour déterminer les composantes moléculaires qui résident en amont de cette expression et qui constituent ainsi une partie des mécanismes cellulaires propres des APD. En combinant l'analyse des niveaux d'ARNm de *Nur77* avec les bons outils pharmacologiques et génétiques, j'ai su mieux comprendre l'implication des récepteurs sérotonergique, adrénérgique et glutamatergique dans les effets liés à l'administration d'un antipsychotique ou d'un pure antagoniste D₂.

4.1 Objectifs spécifiques

4.1.1 Caractérisation des composantes sérotonergique et adrénérgique dans l'augmentation de l'ARNm de *Nur77* induite par l'halopéridol.

Les APD atypiques génèrent un patron d'induction de l'ARNm de *Nur77* différent de celui des APD typiques (Maheux et al., 2005). Une des différences notables entre ces

deux générations de médicaments est l'affinité qu'ont les récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_{1A} pour les APD atypiques. En effet, l'atypicalité clinique des APD de seconde génération corrèle bien avec leur niveau d'affinité pour les récepteurs 5-HT_{2A}. De là, nous avons émis l'hypothèse que l'administration concomitante d'un antagoniste des récepteurs 5-HT_{2A} avec un APD typique, l'halopéridol, changerait le profil d'induction de l'ARNm de *Nur77* de ce dernier en un profil ressemblant à celui d'un APD atypique. Nous avons émis une conjecture similaire, cette fois-ci concernant un agoniste des récepteurs 5-HT_{1A}, puisque les APD atypiques possèdent aussi une telle composante dans leur profil pharmacologique. Ainsi, le premier article de cet ouvrage porte sur l'implication des récepteurs sérotonergiques mentionnés dans l'augmentation de l'ARNm de *Nur77* induit par l'halopéridol. De plus, comme la majeure partie des APD de toute sorte agissent aussi au niveau des récepteurs adrénergiques α_1 et α_2 , nous avons aussi testé l'implication de ces récepteurs dans l'induction de l'ARNm de *Nur77*.

4.1.2 Implication de la neurotransmission glutamatergique dans la modulation de la transcription de l'ARNm de *Nur77* modulée par les antagonistes D₂.

Tel que mentionné à l'introduction, plusieurs études ont démontré la présence de récepteurs dopaminergiques D₂ sur les afférences corticostriées. Ces récepteurs contrôlent la libération de glutamate dans le striatum. Des résultats préliminaires provenant d'études effectuées au début de mon doctorat ont démontré que l'expression de l'ARNm *Nur77* peut être modulée par la transmission glutamatergique. De ce fait, nous avons émis l'hypothèse que la modulation de l'expression génique contrôlée par les antagonistes D₂ dans le striatum fait intervenir les récepteurs des afférences corticostriées et que la résultante module l'expression de l'ARNm de *Nur77* via certains récepteurs glutamatergiques. Pour en arriver à ce résultat, nous avons opté pour une approche pharmacologique avec des

souris déficientes pour l'isoforme D_{2L} et avec des rats portant une lésion à l'acide iboténique du cortex. Nous avons aussi procédé à certaines études pharmacologiques chez des souris de type sauvages pour déterminer quels étaient les récepteurs post-synaptiques responsables de l'induction de la transcription de *Nur77*. Ainsi, le second article décrit les résultats démontrant l'implication de ces récepteurs D_2 hétérosynaptiques ainsi que les rôles des récepteurs mGluR5 et A_{2A} dans l'induction de l'ARNm de *Nur77* à la suite d'un traitement avec un antagoniste D_2 .

Chapitre 5 : Caractérisation des composantes sérotonergique et adrénergique dans l'augmentation de l'ARNm de *Nur77* induite par l'halopéridol

5.1 Contribution du candidat

Laura Vuillier et Mylène Mahfouz ont été des stagiaires formées par le candidat. Ce dernier a exécuté toutes les manipulations *in vivo* et les expériences subséquentes en compagnie des coauteurs. La quantification et l'analyse des données ont été partagées entre les coauteurs. Le candidat a participé à la rédaction de l'article avec le directeur de recherche. Cet article est publié dans *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15:509-521 (2012).

5.2 Article #1 : Modulation of haloperidol-induced patterns of the transcription factor *Nur77* and *Nor-1* expression by serotonergic and adrenergic drugs in the mouse brain

Jérôme Maheux¹, Laura Vuillier¹, Mylène Mahfouz¹, Claude Rouillard^{2,3} and Daniel Lévesque^{1*}

¹ Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Qc, H3C 3J7, Canada

² Département de Psychiatrie et Neurosciences, Faculté de Médecine, Université Laval

³ Neurosciences, Centre de Recherche du CHUQ (CRCHUQ), Québec, Qc, Canada

Running title: Modulation of haloperidol-induced gene expression

ABSTRACT

Different patterns of expression of the transcription factors of *Nur77* and *Nor-1* are induced following acute administration of typical and atypical antipsychotic drugs. The pharmacological profile of atypical antipsychotics suggests that serotonergic and/or adrenergic receptors might contribute to these reported differences. In order to test this possibility, we examined the abilities of serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/2C}, and α_1 - and α_2 -adrenergic receptor drugs to modify the pattern of *Nur77* (NR4A1) and *Nor-1* (NR4A3) mRNA expression induced by haloperidol. Various groups of mice were treated with either saline, DOI, a 5-HT_{2A/2C} agonist, MDL11939, a 5-HT_{2A} antagonist, 8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist, prazosin, a α_1 -adrenergic antagonist and idazoxan, a α_2 -adrenergic antagonist, alone or in combination with haloperidol. The 5-HT_{2A/2C} agonist DOI alone significantly increased *Nur77* expression in the medial striatum and nucleus accumbens. DOI reduced *Nor-1* expression, while MDL11939 increased the expression of this transcript in the cortex. Prazosin reduced *Nur77* expression in the dorsal striatum and nucleus accumbens. Interestingly, 8-OH-DPAT and MDL11939 partially prevent haloperidol-induced *Nur77* upregulation, while MDL11939 completely abolished *Nor-1* expression in the striatum. In addition, MDL11939 decreased haloperidol-induced *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels in the ventral tegmental area. On the contrary, idazoxan (α_2 antagonist) consistently potentiated haloperidol-induced *Nur77*, but not *Nor-1* mRNA levels in the striatum, whereas prazosin (α_1 antagonist) remained without effect. Taken together, these results show the ability of a 5-HT_{1A} agonist or a 5-HT_{2A} antagonist to reduce haloperidol-induced *Nur77* and *Nor-1* striatal expression, suggesting that these serotonin receptor subtypes participate in the differential pattern of gene expression induced by typical and atypical antipsychotic drugs.

Key words: antipsychotic drug, striatum, serotonin, noradrenalin, *in situ* hybridization

INTRODUCTION

Nuclear receptors are a vast family of proteins that regulate gene transcription. These receptors provide multicellular organisms with a means to directly control gene expression in response to a wide range of developmental and physiological cues, as well as to internal and environmental stimuli. The NR4A subgroup is constituted of three closely related receptors (collectively called *Nurs*); i.e. *Nur77* (NR4A1; also known as Nerve-Growth Factor Inducible gene B (NGFI-B) and TR3), *Nurr1* (NR4A2) and *Nor-1* (NR4A3) (for review, see (Maxwell and Muscat, 2005)). *Nurs* are classified as early response genes and are induced by a wide range of stimuli, including growth factors, cytokines, peptide hormones, stress and neurotransmitters. Their ability to sense and rapidly respond to changes in the cellular environment appears to be a hallmark of this subgroup. The NR4A subgroup members are expressed in various part of the brain, but a close neuroanatomical association can be observed with the dopamine system. Basal expression of *Nurr1* is found in the hippocampus, hypothalamus, cortex and most notably in midbrain areas containing dopamine producing neurons, i.e. the substantia nigra and ventral tegmental area (Zetterström et al., 1996; Gofflot et al., 2007). Contrary to *Nurr1*, which is enriched in the mesencephalon, *Nur77* and *Nor-1* are mainly expressed in the forebrain i.e. the olfactory bulb and tubercle, cortex, striatum, nucleus accumbens, hippocampal formation, hypothalamus and amygdala (Zetterström et al., 1996; Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000; Ponnio and Conneely, 2004; Gofflot et al., 2007). Their expression patterns suggest an involvement in various brain functions including cognition, emotion, reward, motivated behavior, learning, memory and locomotion. Unfortunately, only a few of these functions have been thoroughly investigated so far.

Although gene targets for *Nur77* and *Nor-1* were not systematically characterized in the central nervous system, some evidence strongly suggest that neuropeptides known to be related to dopamine system such as enkephalin and neurotensin might represent transcriptional targets for *Nur77* (Ethier et al., 2004b; St-Hilaire et al., 2006). In addition, we have shown that catechol-O-methyltransferase (COMT) mRNA levels and activity are reduced in *Nur77*-deficient mice, suggesting that *Nur77* could modulate COMT expression and participates in the control of enzymatic degradation of dopamine (Gilbert et al., 2006).

Antipsychotic drugs currently used in the treatment of schizophrenia can be classified as either typical or atypical antipsychotic drugs or neuroleptics. Typical neuroleptics such as haloperidol have a high propensity to cause a variety of extrapyramidal motor symptoms (Casey, 1991). New generation of atypical antipsychotics such as clozapine and olanzapine are defined as drugs active in the treatment of schizophrenia but with a lesser propensity to induce motor symptoms (Serretti et al., 2004). Haloperidol, a typical neuroleptic, increased *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels in the striatum, a brain region involves in the control of locomotion (Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000; Maheux et al., 2005). Using *Nur77* and *Nor-1* induction patterns by various typical and atypical antipsychotic drugs, we have shown that modulation of *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels can be used to calculate an index predictive of the typical vs atypical profile of antipsychotic drugs (Maheux et al., 2005). Inductions of *Nurs* (*Nur77* and *Nor-1*) can be correlated with dopamine D₂ and D₃ receptor affinities and serotonin (5-HT) 5-HT_{2A}/D₂ affinity ratios could also be used to predict *Nur77* and *Nor-1* patterns of expression. Interestingly, *Nur77* mRNA up-regulation is maintained upon chronic typical antipsychotic drug treatments without any apparent desensitization, suggesting that *Nur77* not only participate in the initiation of a neuroadaptive signaling cascade, but also to more prolonged effects (Beaudry et al., 2000; Langlois et al., 2001). As opposed to *Nurr1*, *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels are extremely low in the substantia nigra and ventral tegmental area in basal conditions in the adult brain (Maheux et al., 2005). However, their expression can be significantly increased in these

brain areas by administration of both typical and atypical antipsychotic drugs (Maheux et al., 2005). These data strongly suggest that *Nur77* and *Nor-1* expression is tightly regulated in central dopamine systems (for a review, see (Lévesque and Rouillard, 2007)).

It is generally recognized that the atypical profile of antipsychotic drugs is associated with their additional interaction with 5-HT receptor subtypes, i.e. blockade of 5-HT_{2A} and agonism at the 5-HT_{1A} receptors (Ichikawa and Meltzer, 2000; Ichikawa et al., 2001; Meltzer et al., 2003; Meltzer and Huang, 2008). These pharmacological properties are thought to be responsible for their lower propensity to generate extrapyramidal motor side effects. Indeed, blockade of 5-HT_{2A/2C} or activation of 5-HT_{1A} in combination with administration of a typical neuroleptic was shown to prevent haloperidol-induced catalepsy (Ohno et al., 2008; Ohno et al., 2009). Interaction of antipsychotic drugs with 5-HT_{2A} and/or 5-HT_{1A} receptors has also been shown to increase cortical dopamine release (Ichikawa and Meltzer, 2000; Ichikawa et al., 2001; Meltzer et al., 2003; Meltzer and Huang, 2008), suggesting that with the effects on 5-HT receptor subtypes might also contribute to their antipsychotic clinical profile in addition to reducing motor side effects.

Most antipsychotic drugs also interact with α_1 - and α_2 -adrenergic receptor subtypes. Although recent reports indicates that *Nur77* and *Nor-1* can be modulated by β -adrenergic receptor activity in the periphery (Maxwell and Muscat, 2005; Pearen et al., 2008; Myers et al., 2009) and by adrenergic drugs in the pineal gland (Humphries et al., 2004), no data is available on the modulation of *Nur77* and *Nor-1* by selective α -adrenergic receptors in the central nervous system. While most antipsychotic drugs display a strong α_1 -adrenergic receptor interaction, some atypical antipsychotic drugs such as clozapine and risperidone also display high affinity for the α_2 -adrenergic receptor subtype (Bymaster et al., 1996; Schotte et al., 1996). Interestingly, α_2 -adrenergic receptor blockade enhanced cortical dopamine release, reduced dopamine D₂ receptor antagonist-induced conditioned avoidance

response, in addition to reverse haloperidol-induced catalepsy (Hertel et al., 1999; Invernizzi et al., 2003; Wadenberg et al., 2007). Thus, α_2 -adrenergic receptor might also contribute to the clinical profile of these atypical antipsychotic drugs.

Distinct patterns of immediate-early gene (IEG) modulation have also been associated with the respective clinical profile of typical and atypical antipsychotic drugs (Robertson et al., 1994; Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000; Maheux et al., 2005). An important number of studies on the effects of typical and atypical antipsychotics on the region-specific expression of IEG, such as Fos and *Nur* families, have been performed. Specifically, cortical IEG expression by atypical antipsychotics, such as clozapine, has been speculated to be indicative of beneficial effects against negative symptoms of schizophrenia, whereas typical antipsychotics, such as haloperidol, induce striatal IEG expression, an effect that is thought to be related to the extrapyramidal side effects liability of dopamine D₂ receptor antagonists (Merchant and Dorsa, 1993; Robertson et al., 1994; Maheux et al., 2005; Bruins Slot et al., 2009).

Since *Nur77* and *Nor-1* are distinctly modulated by typical and atypical antipsychotic drugs (Maheux et al., 2005) and *Nur77* is closely related to antipsychotic drug motor effects such as catalepsy (acute Parkinsonism) and tardive dyskinesias (Ethier et al., 2004b; Ethier et al., 2004a), we conducted a series of pharmacological investigations aimed at exploring the contribution of serotonergic and adrenergic receptor subtypes in the pattern of expression *Nur77* and *Nor-1* induced by the conventional antipsychotic drug haloperidol. We report that 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/2C} receptors contribute significantly to the gene expression patterns induced by this antipsychotic drug.

MATERIALS AND METHODS

Animals

The experiments were performed on male wild type C57BL/6 mice (Charles River, St-Constant, Quebec, Canada) weighing 20-25 g. Animals were housed in groups of 5 per cage. They were maintained on 12:12 h light:dark cycle (07:00 h on, 19:00 h off) under controlled temperature (24°C) and humidity (40-50%). Food and drinking water were allowed *ad libitum*. Handling of mice was performed in accordance with the Canadian Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and all procedures, including means to minimize discomfort, were approved by the institutional Animal Care Committee of Université de Montréal. In order to minimize the possibility of stress-induced *Nur* expression, mice were handled for about 3 days prior to the day of experiment and we initiated strict environmental controls on all experimental procedures, including the use of one animal handler and injecting animals within the same room. After drug administration, the animals were kept in their home cage until anesthetized and sacrificed.

Drugs

A 5 mg/ml solution of haloperidol was obtained commercially from Sabex Inc. (Boucherville, Quebec, Canada) and diluted in saline to its final concentration. (+/-)DOI-HCl, (+/-)[1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-aminopropane]-hydrochloride, (+/-)-8-OH-DPAT-HBr, (8-hydroxy-2-(di-*n*-propylamino)-tetralin)-hydrobromide, prazosin and idazoxan were obtained from Sigma-Aldrich Canada Inc. (Oakville, ON). MDL11939, α -phenyl-1-(2-phenylethyl)-4-piperidine-methanol, was purchased from Tocris Bioscience (Ellisville, MI).

Experimental protocols

Mice were acutely treated intraperitoneally (i.p.) with the different drugs in a final volume of 0.5 ml. Two series of experiments were performed in this study. Each group of animals consisted of 5 mice. For serotonin agents, treatments were: saline, DOI, a 5-HT_{2A/C} agonist (2.5 mg/kg), 8-OH-DPAT, a selective 5-HT_{1A} agonist (2.5 mg/kg), MDL11939, a 5-HT_{2A} antagonist (2 mg/kg), haloperidol, a typical antipsychotic drug (0.5 mg/kg), DOI + haloperidol, 8-OH-DPAT + haloperidol and MDL11939 + haloperidol. For adrenergic agents, treatments were: saline, prazosin, a selective α_1 -adrenergic antagonist (1 mg/kg), idazoxan, a selective α_2 -adrenergic antagonist (1 mg/kg), haloperidol (0.5 mg/kg), prazosin + haloperidol and idazoxan + haloperidol. All serotonergic or adrenergic drugs and saline were administered 30 min before saline (control groups) or haloperidol, so that all animals have received two injections. The animals were sacrificed by decapitation under CO₂ anesthesia 1 hour after saline (controls) or haloperidol drug administration. All drug dosages and the time of sacrifice were based on previous data in the literature showing modulations of *Nur77*, *Nor-1* or other immediate-early genes, such as *c-fos*, and preliminary work from our laboratory (Tremblay et al., 1998; Gervais et al., 1999; Beaudry et al., 2000; Wadenberg et al., 2000; Maheux et al., 2005; Marcus et al., 2005). After decapitation, brains were rapidly removed and immediately immersed into cold isopentane (-40°C) for a few seconds and kept at -80°C until used.

In situ hybridization procedure

Cryostat coronal brain sections (12 μ m) were mounted onto Snowcoat X-traTM slides (Surgipath, Winnipeg, MA, Canada) and stored at -80°C until used. Brain sections were fixed in 4% paraformaldehyde at 4°C for 20 min. Specific [³⁵S]UTP-radiolabeled complementary RNA (cRNA) probes were used. The *Nur77* probe preparation and radiolabeling have been described in details elsewhere (Beaudry et al., 2000; Ethier et al., 2004b). The mouse *Nor-1* probe was generated from a PCR fragment of 393 bp (from

nucleotide 572 to 964) subcloned into pBluscript SK⁺ linearized with HindIII to generate to antisense complementary RNA (cRNA) (Maheux et al., 2005). Single-stranded riboprobes were synthesized and labeled using Promega riboprobe kit (Promega, Madison, WI), [³⁵S]-UTP (Perkin Elmer Inc., Canada) and the RNA polymerase T₇. *In situ* hybridization of riboprobes with tissue sections were done at 56-58°C, overnight, in a standard hybridization buffer containing 50% formamide (Beaudry et al., 2000; Langlois et al., 2001; Ethier et al., 2004b; Maheux et al., 2005). Tissue sections were then apposed against BiomaxMR (Kodak, New Haven, CT) radioactive sensitive films for 2 to 5 days.

Quantification analysis

Levels of radioautographic labeling on films were quantified by computerized densitometry. Digitized brain images were obtained by a CCD camera model XC-77 (Sony) equipped with a 60 mm f/2.8D (Nikon) magnification lens. Images were analyzed using the ImageJ 1.43u software (Wayne Rasband, NIH). Optical densities of autoradiograms were transformed to nCi/g of tissue using [¹⁴C] radioactivity standards (ARC 146A-¹⁴C standards, American Radiolabeled Chemicals Inc., St-Louis). Brain areas investigated included the dorsolateral (StDL), dorsomedial (StDM), ventrolateral (StVL) and ventromedial (StVM) portions of the striatum, the shell (AcSh) and core (AcC) of the nucleus accumbens, medial prefrontal (mPFC) and cingulate (CC) cortices, substantia nigra *pars compacta* (SNc) and ventral tegmental area (VTA). Figure 1 illustrates the exact coordinates and brain areas used for quantification of mRNA levels.

Statistical analysis

For each animal and for all brain regions investigated, we measured *Nur* mRNA levels on 4 different sections. Average signals from both brain hemispheres were made. All data were then expressed as group mean \pm SEM from 5 animals per group. Homogeneity of variances was first determined with Bartlett's Chi-Square test, and square root or log data

transformation was performed to increase homogeneity when necessary. Statistical analyses of mRNA level variances were performed using a one-way ANOVA. When a significant variance analysis was observed, a Tukey's test was performed as *post hoc* analysis. Statistical analyses and graphs were performed with GraphPad Prism version 4.0 software (GraphPad Software Inc., San Diego, CA).

RESULTS

As previously reported, there is significant basal expression of *Nur77* and *Nor-1* mRNA in the mouse forebrain including the dorsomedial and dorsolateral portions of the striatum, the medial prefrontal and cingulate cortices and the nucleus accumbens. Interestingly, *Nur77* and *Nor-1* mRNA are barely detectable in the SN/VTA complex in untreated animals (Zetterström et al., 1996; Maheux et al., 2005). As previously observed, haloperidol induced strong upregulations of *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels in the ventrolateral and ventromedial portions of the striatum and in the SN/VTA complex (Maheux et al., 2005). In this study, haloperidol only upregulated *Nor-1* in the prefrontal and cingulate cortices. The absolute *Nur77* and *Nor-1* mRNA values in the vehicle-treated animals expressed in nCi/g of tissue are presented in Table 1. These values have been used to determine % of control levels presented in following figures and tables.

Effects of serotonergic drugs on haloperidol-induced Nur expression

Treatment of animals with the 5-HT_{2A/2C} agonist DOI alone increased *Nur77* mRNA levels in the nucleus accumbens (Table 2) and medial striatum (Fig. 2, left panels). However, DOI remained without effect on haloperidol-induced *Nur77* mRNA levels in all brain areas investigated (Fig. 2 and Table 2). Administration of the 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT alone did not alter *Nur77* expression, but significantly reduced haloperidol-induced *Nur77* mRNA levels in the striatum (except in the StVM portion) and nucleus accumbens

shell (Fig. 2 and Table 2). The 5-HT_{2A} antagonist MDL11939 also remained inactive when administered alone, except for a small increase in the cingulate cortex (Table 2). But, it significantly reduced haloperidol-induced *Nur77* expression in the striatum, except for the StDM subterritory (Fig. 2). MDL11939 also decreased haloperidol-induced *Nur77* expression in the ventral tegmental area (VTA), but remained without effect in the substantia nigra *pars compacta* (SNc) (Table 2). We did not observe any significant modulation of *Nur77* in the prefrontal and cingulate cortices (Table 2).

DOI alone significantly reduced *Nor-1* mRNA levels in the prefrontal and cingulate cortices, whereas MDL11939 significantly up-regulated *Nor-1* expression in the cortex (Table 3). However, DOI did not alter haloperidol-induced *Nor-1* expression in any of the brain areas investigated (Fig. 3 and Table 3). The 5-HT_{1A} agonist 8-OH-DPAT alone did not alter the expression of *Nor-1* in the brain area investigated (Fig. 3 and Table 3). However, pre-treatment with the 5-HT_{1A} agonist was able to reduce haloperidol-induced *Nor-1* mRNA levels in many brain areas, including the cortex, VTA and striatum (Fig. 3 and Table 3). The most striking effects were observed with pre-treatment with the 5-HT_{2A} antagonist MDL11939, which strongly reduced or totally prevented haloperidol-induced *Nor-1* in all the brain areas investigated, except for the SNc (Fig. 3 and Table 3).

Effects of adrenergic drugs on haloperidol-induced Nur expression

Treatment with prazosin (an α_1 -adrenergic antagonist) alone significantly reduced basal *Nur77* mRNA levels in the nucleus accumbens (Table 4) and dorsal striatum (Fig. 4, top panels), while idazoxan (an α_2 -adrenergic antagonist) had no effect in all brain regions investigated (Fig. 4 and Table 4). On the other hand, pre-treatment with idazoxan potentiated haloperidol-induced *Nur77* expression in the SNc, nucleus accumbens shell and all striatal subterritories (Fig. 4 and Table 4). Pre-treatment with prazosin also induced a potentiation of haloperidol-induced *Nur77* mRNA levels in the VTA (Table 4) and a small

but significant increase in the nucleus accumbens core (Table 4). But, prazosin had no effect on haloperidol-induced *Nur77* expression in all striatal subterritories (Fig. 4).

Contrary to *Nur77* expression, adrenergic drugs had no effect on basal or haloperidol-induced *Nor-1* expression, except for the α_2 -adrenergic antagonist idazoxan, which potentiated haloperidol-induced *Nor-1* expression in the nucleus accumbens shell (Table 5). Idazoxan also selectively reduced haloperidol-induced *Nor-1* in the VTA, whereas prazosin remained without effect (Table 5).

DISCUSSION

We and others have previously shown that typical and atypical antipsychotic drugs induced distinct patterns of expression of *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels in brain areas related to their clinical efficacy, i.e. the prefrontal and cingulate cortices, nucleus accumbens, striatum and substantia nigra/ventral tegmental area complex (Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000; Maheux et al., 2005; Bruins Slot et al., 2009). These transcription factors are strongly upregulated in striatal areas associated with locomotor functions by typical antipsychotic drugs, whereas atypical drugs induced only mild effects in these areas. Given the preferentially high affinity of atypical antipsychotic for some 5-HT receptors and most notably for 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors, it has been postulated for decades that 5-HT and its receptors are key mediators for atypical antipsychotic action's (Meltzer, 1999). In support to this hypothesis, we show here that a 5-HT_{1A} receptor agonist or a 5-HT_{2A} antagonist can reduce haloperidol-induced *Nur77* and *Nor-1* mRNA upregulation in the striatum. As previously demonstrated with *c-fos* expression (Tremblay et al., 1998; Ohno et al., 2008; Bruins Slot et al., 2009), the present results demonstrate that it is possible to transform the pattern of expression of *Nur77* and *Nor-1* induced by haloperidol into a pattern resembling the one induced by atypical antipsychotics simply

with the addition of drugs targeting these 5-HT receptor subtypes. We also demonstrate that adrenergic receptor blockade is not involved. On the contrary, α_2 -adrenergic receptor blockade potentiate the effect of haloperidol on *Nur77* mRNA levels in the striatum.

Interestingly, our results suggest that both 5-HT_{2A} and α_1 -adrenergic, but not 5-HT_{1A} receptors, are involved in *Nur* expression in basal conditions. Briefly, basal expression of *Nur77* in the striatum is modulated by 5-HT_{2A} and α_1 -adrenergic drugs, whereas basal expression of *Nor-1* in the cortex is modulated only by 5-HT_{2A} receptors. Concomitant activation of serotonin 5-HT_{2A} receptors has no effect, but blockade of 5-HT₂ receptors strongly reduced haloperidol-induced *Nur77* expression in the ventral striatum, ventral tegmental area, and almost totally abolished haloperidol-induced expression of *Nor-1* in all the brain areas investigated, except within the substantia nigra. The regionally selective effect of MDL11939 (5-HT_{2A} antagonist) might be explained in part by the medio-ventral to dorso-lateral gradients of expression of this 5-HT₂ receptor subtype (Appel et al., 1990; Laprade et al., 1996). The α_1 -adrenergic antagonist prazosin had no effect on haloperidol-induced *Nur77* expression, whereas the α_2 -adrenergic receptor antagonist idazoxan potentiated haloperidol-induced *Nur77* expression in nucleus accumbens shell, the entire striatum and substantia nigra. No effect was observed on *Nor-1* expression. Activation of 5-HT_{1A} receptors has no effect on basal expression of *Nur77* and *Nor-1*. However, when these nuclear receptors are upregulated by haloperidol, both 5-HT_{1A} agonism or 5-HT_{2A} antagonism can be involved, whereas adrenergic receptors are not. On the other hand, haloperidol-induced *Nur77* and *Nor-1* expression are further upregulated in the nucleus accumbens shell by a 5-HT_{1A} agonist. Taken together these results on gene transcription are consistent with the beneficial effect of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor subtypes at reducing dopamine nigrostriatal pathway activity, while promoting dopamine mesolimbic pathway activity.

Therefore, our results clearly indicate that 5-HT receptors contribute to the distinct transcriptional patterns induced by typical and atypical antipsychotic drugs. But how? There are at least two possibilities. First, it could be an indirect effect through the modulation of dopamine release. Indeed, there is considerable evidence obtained from microdialysis and electrophysiological studies that 5-HT_{2A} receptor antagonists modulate differentially nigrostriatal, mesolimbic and mesocortical dopamine systems (Meltzer et al., 2003). Administration of selective D₂ antagonists to rodents produces large increases in extracellular dopamine concentrations in the striatum and nucleus accumbens and only a modest one in the prefrontal cortex (Meltzer et al., 2003). Administration of a selective 5-HT_{2A} receptor antagonist alone had little effect on dopamine release in any of these brain regions. However, when the 5-HT_{2A} and the D₂ antagonist are combined, there is an increase in dopamine release in the prefrontal cortex, but no change in the striatum (Andersson et al., 1995; Westerink et al., 2001; Liégeois et al., 2002). These differential effects on regional dopamine release are thought to be involved in both gene expression patterns and in the differential clinical profile of atypical antipsychotic drugs. A second possibility is a direct effect on gene expression pattern via their effects on various receptor subtypes. We and others have previously demonstrated that *Nur77* and *Nor-1* can be modulated by 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A/2C} receptors (present data and (Gervais et al., 1999; Bruins Slot et al., 2009)). We show here that DOI, a 5-HT_{2A/2C} agonist, administered alone increased *Nur77* in nucleus accumbens and medial striatum (limbic portions of the striatal complex), while it reduced *Nor-1* in prefrontal and cingulate cortices. On the other hand, MDL11939, a preferential antagonist of the 5-HT_{2A} receptor, increased *Nor-1* in cortical areas. This strongly suggests that *Nur77* and *Nor-1* are differentially modulated by 5-HT neurotransmission in the mouse forebrain. However, DOI did not alter haloperidol-induced *Nur77* and *Nor-1* expression patterns. This indicates that activation of 5-HT₂ receptors participate in the tonic basal expression of *Nur77*, but it is the blockade of 5-HT₂ that is responsible for the reduction of haloperidol-induced *Nur77* expression. In addition, haloperidol-induced *Nor-1* mRNA levels are strongly modulated by 5-HT antagonists in

striatal and extra-striatal brain areas, suggesting that this transcription factor is particularly sensitive to manipulation of 5-HT neurotransmission. It is interesting to note that vector delivery of a *Nor-1* short hairpin RNA (shRNA) in the brain ameliorated depressive-like behaviors in Wistar-Kyoto rats (Schaffer et al., 2010).

It is interesting to observe that in absence of D₂ blockade, the 5-HT₂ antagonist increased *Nor-1* mRNA levels, while it reduced haloperidol-induced *Nor-1* expression in the cortex. At the present time, we have no explanation for this paradoxical effect of MDL11393. The 5-HT_{1A} agonist (8-OH-DPAT) is also able to reduce haloperidol-induced *Nor-1* expression in the cortex. Modulations of the haloperidol-induced pattern of *Nor-1* expression in the cortex are reminiscent of the modulation of dopamine release in the cortex upon combined administration of a 5-HT_{1A} agonist or a 5-HT_{2A} antagonist with a dopamine D₂ receptor antagonist, as previously discussed. Interestingly, these effects were not observed with *Nur77*, suggesting that *Nor-1* might be a better marker of atypicality in the cortex, as compared to *Nur77*.

It has been shown that striatal 5-HT₂ receptors exert a positive control on basal dopamine release and mediate a tonic inhibitory serotonergic tone on dopamine neurons in the ventral tegmental area. Consequently, administration of 5-HT₂ receptor antagonists can directly increase dopamine release in the nucleus accumbens and in the prefrontal cortex and 5-HT₂ agonists can suppress dialysate levels of dopamine in the frontal cortex (Millan et al., 1998; Gobert and Millan, 1999). Interestingly, MDL11393 (5-HT₂ antagonist) displayed a selective effect on *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels in the ventral tegmental area, as compared to the substantia nigra indicating that a 5-HT₂ antagonist can also exert a selective transcriptional activity within dopamine neurons of the mesolimbic and mesocortical pathways.

8-OH-DPAT, a 5-HT_{1A} agonist, tends to reduce *Nur77* in the striatum, which is consistent with a previous report (Gervais et al., 1999). Although we used a higher dose of 8-OH-DPAT, modulations of haloperidol-induced *Nur77* and *Nor-1* expression in the striatum by this 5-HT_{1A} agonist are also consistent with the report of Bruins Slot and colleagues (2009). The partial activity of the 5-HT_{1A} agonist might result from interactions at both pre-synaptic autoreceptor and post-synaptic sites by the present 8-OH-DPAT dose. These effects are also similar to previous data on striatal Fos immunohistochemistry or *c-fos* mRNA levels (Tremblay et al., 1998; Ohno et al., 2008; Bruins Slot et al., 2009). One of the proposed mechanism for these effects is a reduction of the activity of 5-HT projections (through stimulation of pre-synaptic 5-HT_{1A} autoreceptors or blockade of post-synaptic 5-HT_{2A} receptors) that inhibit dopaminergic nigrostriatal neurons, thus increasing striatum dopamine levels, which partially or totally overcoming the blockade of D₂ receptors by the antipsychotic drug.

Post-synaptic α_1 - and α_2 -adrenergic receptors are highly expressed in the cerebral cortex, while pre-synaptic α_2 -adrenergic receptors are also present in noradrenergic terminals and locus coeruleus neurons. So, they are well placed to exert an important modulation on dopamine neurotransmission (Shen and Gundlach, 2000). The present results indicate that *Nur77*, but not *Nor-1* expression, can be modulated by an α_2 -adrenergic antagonist in the mouse forebrain in the presence of haloperidol, whereas the α_1 -adrenergic drug remained without effect in the striatum and cortex. Similar data were obtained using *c-fos* expression (Fink-Jensen et al., 1995) or catalepsy behavior (Wadenberg et al., 2000; Wadenberg et al., 2007). Interestingly, it has been shown that prazosin can selectively modulate the firing pattern of dopamine neurons in the ventral tegmental area (Grenhoff and Svensson, 1993). We also observed a selective transcriptional activity on *Nur77* by prazosin in the ventral tegmental area, while idazoxan had a preferential activity in the substantia nigra. Potentiation of the effect of haloperidol by idazoxan was surprising because it has been

shown that α_2 -adrenergic antagonists are able to reduce haloperidol-induced catalepsy (Invernizzi et al., 2003; Wadenberg et al., 2007). However, the mechanism of the effect of α_2 -adrenergic receptors might be complex, since 5-HT neurotransmission seems to be involved in the effect of idazoxan (Invernizzi et al., 2003). In addition, the contribution of other receptor targets, such as histamine H₁, 5-HT₆, 5-HT₇ or muscarinic m1-m4, cannot be excluded. Further experiments will be necessary to determine their contributions to *Nur77* and *Nor-1* gene expression patterns. Muscarinic m1-m4 receptors are of particular interest (Conn et al., 2009), but co-administration of scopolamine, a muscarinic m1-m4 antagonist, failed to reduced haloperidol-induced *Nur77* expression in the striatum (unpublished observation).

In summary, our results clearly indicate that 5-HT receptors contribute to the distinct transcriptional patterns induced by typical and atypical antipsychotic drugs. While the exact nature of the influence of antipsychotic drug-induced *Nur77* and *Nor-1* expression on downstream *in vivo* responses remains to be clarified, the region specific modulations of these transcription factors may constitute useful markers of antipsychotic drug activity and to predict the clinical profile of potential antipsychotic drugs in development.

Acknowledgements

We acknowledge the support of grants from the Canadian Institutes for Health Research (CIHR) and the Stanley Medical Research Institute (SMRI). JM holds a Michael Smith honorific fellowship for research on schizophrenia of the CIHR.

Statement of interest

None

REFERENCES

- Andersson JL, Nomikos GG, Marcus M, Hertel P, Mathe JM, Svensson TH (1995) Ritanserin potentiates the stimulatory effects of raclopride on neuronal activity and dopamine release selectivity in the mesolimbic dopaminergic system. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 352:374-385.
- Appel NM, Mitchell WM, Garlick RK, Glennon RA, Teitler M, De Souza EB (1990) Autoradiographic characterization of (+)-1-(2,5-dimethoxy-4-[¹²⁵I]iodophenyl)-2-aminopropane ([¹²⁵I]DOI) binding to 5-HT₂ and 5-HT_{1c} receptors in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 255:843-857.
- Beaudry G, Langlois M-C, Weppe I, Rouillard C, Lévesque D (2000) Contrasting patterns and cellular specificity of transcriptional regulation of the nuclear receptor nerve growth factor-inducible B by haloperidol and clozapine in the rat forebrain. *J Neurochem* 75:1694-1702.
- Bruins Slot LA, Lestienne F, Grevoz-Barret C, Newman-Tancredi A, Cussac D (2009) F15063, a potential antipsychotic with dopamine D(2)/D(3) receptor antagonist and 5-HT(1A) receptor agonist properties: influence on immediate-early gene expression in rat prefrontal cortex and striatum. *Eur J Pharmacol* 620:27-35.
- Bymaster FP, Calligaro DO, Falcone JF, Marsh RD, Moore NA, Tye NC, Seeman P, Wong DT (1996) Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. *Neuropsychopharmacology* 14:87-96.
- Casey DE (1991) Neuroleptic drug-induced extrapyramidal syndromes and tardive dyskinesia. *Schizophr Res* 4:109-120.
- Conn PJ, Jones CK, Lindsley CW (2009) Subtype-selective allosteric modulators of muscarinic receptors for the treatment of CNS disorders. *Trends Pharmacol Sci* 30:148-155.

- Ethier I, Kagechika H, Shudo K, Rouillard C, Lévesque D (2004a) Docosahexaenoic acid reduces haloperidol-induced dyskinesias in mice: Involvement of Nur77 and retinoid receptors. *Biol Psychiatry* 56:522-526.
- Ethier I, Beaudry G, St-Hilaire M, Milbrandt J, Rouillard C, Levesque D (2004b) The transcription factor NGFI-B (Nur77) and retinoids play a critical role in acute neuroleptic-induced extrapyramidal effect and striatal neuropeptide gene expression. *Neuropsychopharmacology* 29:335-346.
- Fink-Jensen A, Ludvigsen TS, Korsgaard N (1995) The effect of clozapine on Fos protein immunoreactivity in the rat forebrain is not mimicked by the addition of alpha 1-adrenergic or 5HT2 receptor blockade to haloperidol. *Neurosci Lett* 194:77-80.
- Gervais J, Soghomonian J-J, Richard D, Rouillard C (1999) Dopamine and serotonin interactions in the modulation of the expression of the immediate-early transcription factor, nerve growth factor-inducible B, in the striatum. *Neuroscience* 91:1045-1054.
- Gilbert F, Morissette M, St-Hilaire M, Paquet B, Rouillard C, Di Paolo T, Lévesque D (2006) Nur77 gene knockout alters dopamine neuron biochemical activity and dopamine turnover. *Biol Psychiatry* 60:538-547.
- Gobert A, Millan MJ (1999) Serotonin (5-HT)_{2A} receptor activation enhances dialysate levels of dopamine and noradrenaline, but not 5-HT, in the frontal cortex of freely-moving rats. *Neuropharmacology* 38:315-317.
- Gofflot F, Chartoire N, Vasseur L, Heikkinen S, Dembele D, Le Merrer J, Auwerx J (2007) Systematic gene expression mapping clusters nuclear receptors according to their function in the brain. *Cell* 131:405-418.
- Grenhoff J, Svensson TH (1993) Prazosin modulates the firing pattern of dopamine neurons in rat ventral tegmental area. *Eur J Pharmacol* 233:79-84.
- Hertel P, Fagerquist MV, Svensson TH (1999) Enhanced cortical dopamine output and antipsychotic-like effects of raclopride by alpha(2) adrenoceptor blockade. *Science* 286:105-107.

- Humphries A, Weller J, Klein D, Baler R, Carter DA (2004) NGFI-B (Nurr77/Nr4a1) orphan nuclear receptor in rat pinealocytes: circadian expression involves an adrenergic-cyclic AMP mechanism. *J Neurochem* 91:946-955.
- Ichikawa J, Meltzer HY (2000) The effect of serotonin(1A) receptor agonism on antipsychotic drug-induced dopamine release in rat striatum and nucleus accumbens. *Brain Res* 858:252-263.
- Ichikawa J, Ishii H, Bonaccorso S, Fowler WL, O'Laughlin IA, Meltzer HY (2001) 5-HT_{2A} and D₂ receptor blockade increases cortical DA release via 5-HT_{1A} receptor activation: a possible mechanism of atypical antipsychotic-induced cortical dopamine release. *J Neurochem* 76:1521-1531.
- Invernizzi RW, Garavaglia C, Samanin R (2003) The alpha(2)-adrenoceptor antagonist idazoxan reverses catalepsy induced by haloperidol in rats independent of striatal dopamine release: Role of serotonergic mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 28:872-879.
- Langlois M-C, Beaudry G, Zekki H, Rouillard C, Lévesque D (2001) Impact of antipsychotic drug administration on the expression of nuclear receptors in the neocortex and striatum of the rat brain. *Neuroscience* 106:117-128.
- Laprade N, Radja F, Reader TA, Soghomonian JJ (1996) Dopamine receptor agonists regulate levels of the serotonin 5-HT_{2A} receptor and its mRNA in a subpopulation of rat striatal neurons. *J Neurosci* 16:3727-3736.
- Lévesque D, Rouillard C (2007) Nur77 and retinoid X receptors: crucial factors in dopamine-related neuroadaptation. *Trends Neurosci* 30:22-30.
- Liégeois J-F, Ichikawa J, Meltzer HY (2002) 5-HT_{2A} receptor antagonism potentiates haloperidol-induced dopamine release in rat medial prefrontal cortex and inhibits that in the nucleus accumbens in a dose-dependent manner. *Brain Res* 947:157-165.
- Maheux J, Ethier I, Rouillard C, Lévesque D (2005) Induction patterns of transcription factors of the Nur family (Nurr1, Nur77 and Nor-1) by typical and atypical

- antipsychotics in the mouse brain: Implication for their mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther* 313:460-473.
- Marcus MM, Jardemark KE, Wadenberg ML, Langlois X, Hertel P, Svensson TH (2005) Combined alpha2 and D2/3 receptor blockade enhances cortical glutamatergic transmission and reverses cognitive impairment in the rat. *Int J Neuropsychopharmacol* 8:315-327.
- Maxwell MA, Muscat GEO (2005) The NR4A subgroup: immediate early response genes with pleiotropic physiological roles. *Nucl Recept Signal* 4:e002 Epub.
- Meltzer HY (1999) The role of serotonin in antipsychotic drug action. *Neuropsychopharmacology* 21 (Suppl.):S106-S115.
- Meltzer HY, Huang M (2008) In vivo actions of atypical antipsychotic drug on serotonergic and dopaminergic systems. *Prog Brain Res* 172:177-197.
- Meltzer HY, Li Z, Kaneda Y, Ichikawa J (2003) Serotonin receptors : their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 27:1159-1172.
- Merchant KM, Dorsa DM (1993) Differential induction of neurotensin and c-fos gene expression by typical versus atypical antipsychotics. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:3447-3451.
- Millan MJ, Dekeyne A, Gobert A (1998) Serotonin (5-HT)(2C) receptors tonically inhibit dopamine (DA) and noradrenaline (NA), but not 5-HT, release in the frontal cortex in vivo. *Neuropharmacology* 37:953-955.
- Myers SA, Eriksson N, Burow R, Wang SC, Muscat GE (2009) Beta-adrenergic signaling regulates NR4A nuclear receptor and metabolic gene expression in multiple tissues. *Mol Cell Endocrinol* 309:101-108.
- Ohno Y, Shimizu S, Imaki J (2009) Effects of tandospirone, a 5-HT1A agonistic anxiolytic agent, on haloperidol-induced catalepsy and forebrain Fos expression in mice. *J Pharmacol Sci* 109:593-599.

- Ohno Y, Shimizu S, Imaki J, Ishihara S, Sofue N, Sasa M, Kawai Y (2008) Anticatalytic 8-OH-DPAT preferentially counteracts with haloperidol-induced Fos expression in the dorsolateral striatum and the core region of the nucleus accumbens. *Neuropharmacology* 55:717-723.
- Pearen MA, Myers SA, Raichur S, Ryall JG, Lynch GS, Muscat GE (2008) The orphan nuclear receptor, NOR-1, a target of beta-adrenergic signaling, regulates gene expression that controls oxidative metabolism in skeletal muscle. *Endocrinology* 149:2853-2865.
- Ponnio T, Conneely OM (2004) Nor-1 regulates hippocampal axon guidance, pyramidal cell survival, and seizure susceptibility. *Mol Cell Biol* 24:9070-9078.
- Robertson GS, Matsumura H, Fibiger HC (1994) Induction patterns of Fos-like immunoreactivity in the forebrain as predictors of atypical antipsychotic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 271:1058-1066.
- Schaffer DJ, Tunc-Ozcan E, Shukla PK, Volenec A, Redei EE (2010) Nuclear orphan receptor Nor-1 contributes to depressive behavior in the Wistar-Kyoto rat model of depression. *Brain Res* 1362:32-39.
- Schotte A, Janssen PFM, Gommeren W, Luyten WHML, Van Gompel P, Lesage AS, De Loore K, Leysen JE (1996) Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding. *Psychopharmacology* 124:57-73.
- Serretti A, De Ronchi D, Lorenzi C, Berardi D (2004) New antipsychotics and schizophrenia: A review on efficacy and side effects. *Curr Med Chem* 11:343-358.
- Shen PJ, Gundlach AL (2000) Differential modulatory effects of alpha- and beta-adrenoceptor agonists and antagonists on cortical immediate-early gene expression following focal cerebrocortical lesion-induced spreading depression. *Brain Res Mol Brain Res* 83:133-144.

- St-Hilaire M, Bourhis E, Lévesque D, Rouillard C (2006) Impaired behavioural and molecular adaptations to dopamine denervation and repeated L-DOPA treatment in Nur77 knockout mice. *Eur J Neurosci* 24:795-805.
- Tremblay P-O, Gervais J, Rouillard C (1998) Modification of haloperidol-induced pattern of c-fos expression by serotonin agonists. *Eur J Neurosci* 10:3546-3555.
- Wadenberg ML, Wiker C, Svensson TH (2007) Enhanced efficacy of both typical and atypical antipsychotic drugs by adjunctive alpha2 adrenoceptor blockade: experimental evidence. *Int J Neuropsychopharmacol* 10:191-202.
- Wadenberg ML, Hertel P, Fernholm R, Hygge Blakeman K, Ahlenius S, Svensson TH (2000) Enhancement of antipsychotic-like effects by combined treatment with the alpha1-adrenoceptor antagonist prazosin and the dopamine D2 receptor antagonist raclopride in rats. *J Neural Transm* 107:1229-1238.
- Werme M, Ringholm A, Olson L, Brené S (2000) Differential patterns of induction of NGFI-B, Nor1 and c-fos mRNAs in striatal subregions by haloperidol and clozapine. *Brain Res* 863:112-119.
- Westerink BHC, Kawahara Y, De Boer P, Geels C, De Vries JB, Wikstrom HV, Van Kalker A, Van Vliet B, Kruse CG, Long SK (2001) Antipsychotic drugs classified by their effects on the release of dopamine and noradrenaline in the prefrontal cortex and striatum. *Eur J Pharmacol* 412:127-138.
- Zetterström RH, Williams R, Perlmann T, Olson L (1996) Cellular expression of the immediate-early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamine system. *Mol Brain Res* 41:111-120.

FIGURES AND TABLES

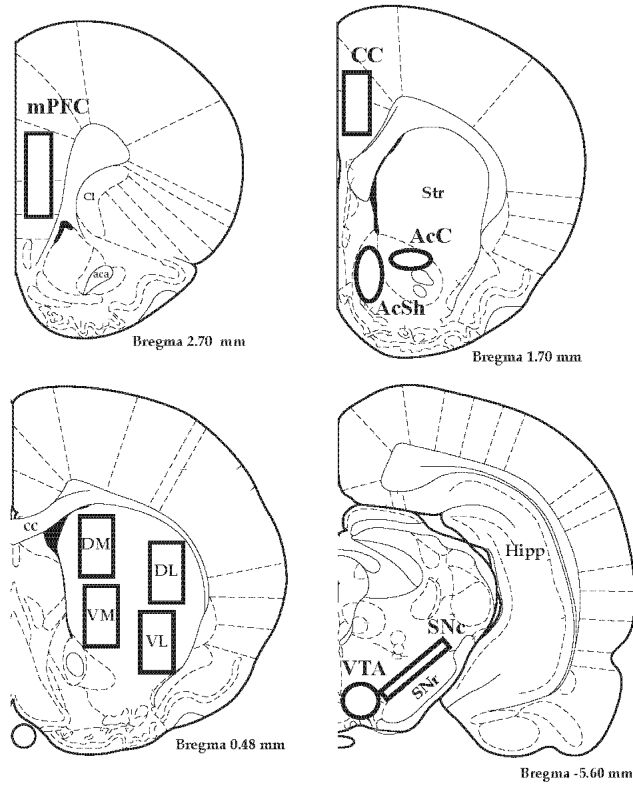


Figure 1. Schematic illustration of the mouse brain regions selected for quantitative analysis of *Nur* mRNA levels.

Blank boxes indicate the sampled areas in the medial prefrontal cortex (mPFC) (top left), nucleus accumbens core (AcC) and shell (AcSh), and cingulate cortex (CC) (top right), dorsomedial (StDM), dorsolateral (StDL), ventromedial (StVM) and ventrolateral (StVL) portions of the striatum (bottom left), and substantia nigra *pars compacta* (SNc) and ventral tegmental area (VTA) (bottom right). Corresponding Bregma levels are indicated in respective diagrams. Other abbreviations shown are: aca, anterior commissure; cl, clustrum; Str, striatum; cc, corpus callosum; Hipp, hippocampus; SNr, substantia nigra pars reticulata.

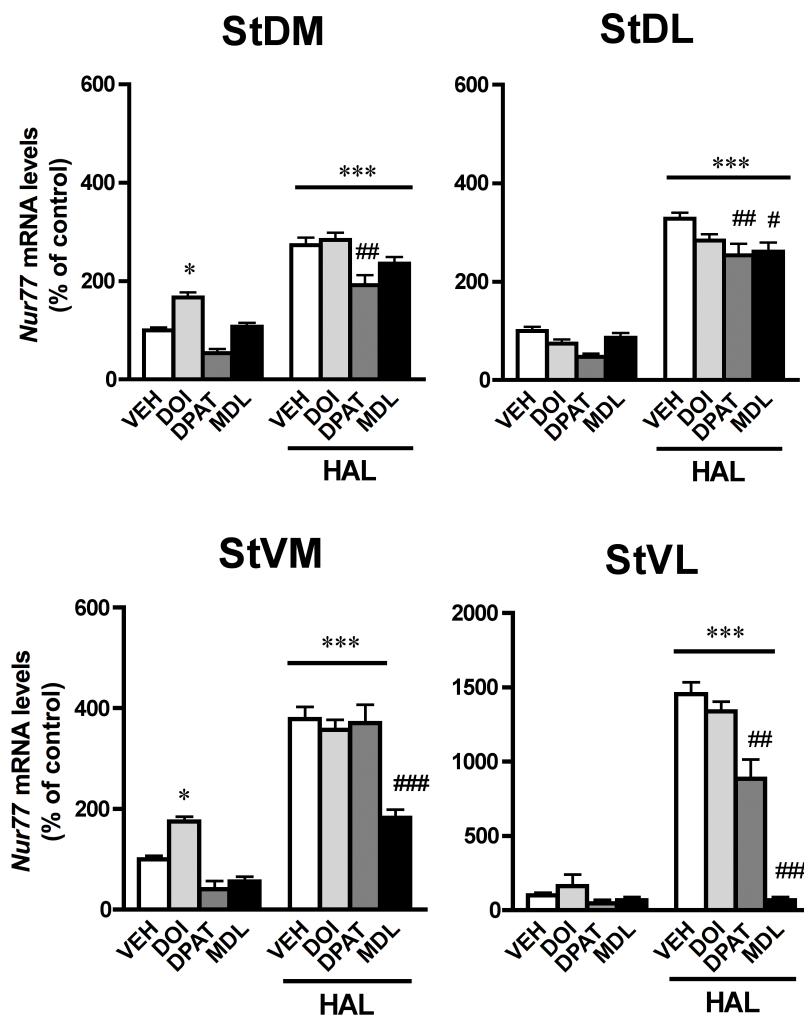


Figure 2. Histograms illustrating the effect of 5-HT drugs on haloperidol-induced *Nur77* mRNA levels in the mouse striatum.

Values are expressed in percentage of change compared to vehicle-treated animals (control) and represent mean \pm S.E.M. Each group included 5 animals. See materials and methods for dose regimens. VEH, vehicle; DPAT, 8-OH-DPAT; MDL, MDL11939; HAL, haloperidol; StDM, dorsomedial striatum; StDL, dorsolateral striatum; StVM, ventromedial striatum; StVL, ventrolateral striatum (* p<0.05 and *** p<0.001 vs VEH; # p<0.05, ## p<0.01 and ### p<0.001 vs HAL).

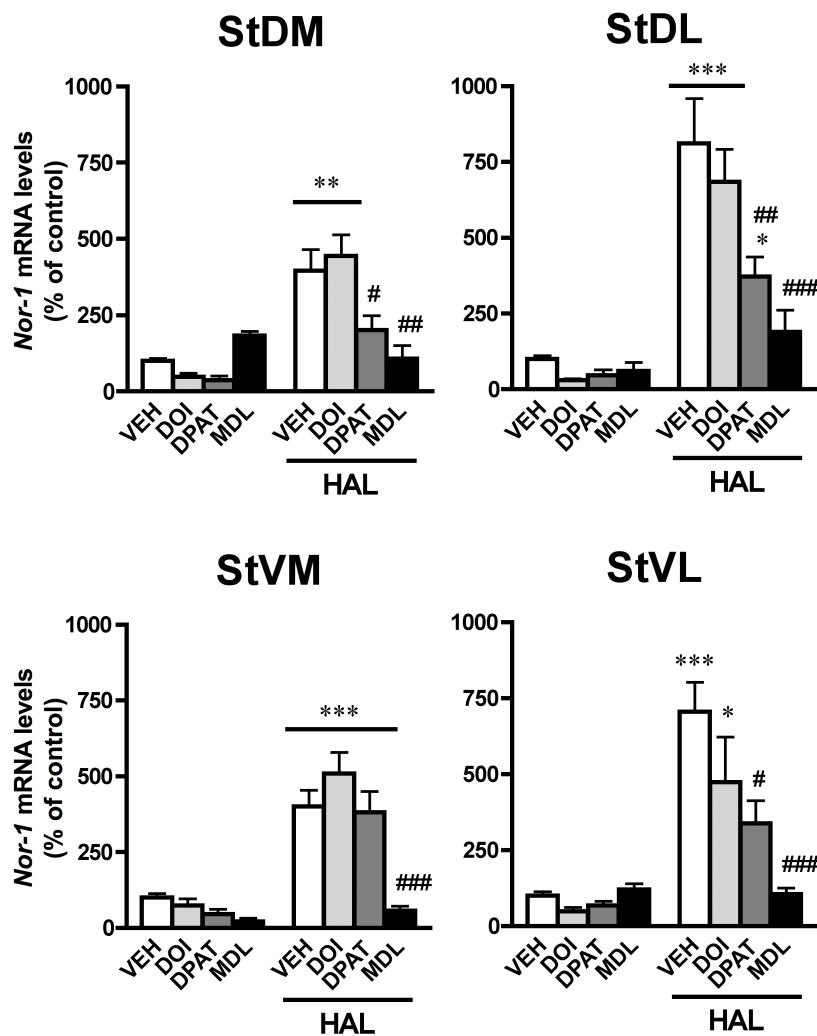


Figure 3. Histograms illustrating the effect of 5-HT drugs on haloperidol-induced *Nor-1* mRNA levels in the mouse striatum.

Values are expressed in percentage of change compared to vehicle-treated animals (control) and represent mean \pm S.E.M. Each group included 5 animals. See materials and methods for dose regimens. VEH, vehicle; DPAT, 8-OH-DPAT; MDL, MDL11939; HAL, haloperidol; StDM, dorsomedial striatum; StDL, dorsolateral striatum; StVM, ventromedial striatum; StVL, ventrolateral striatum (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs VEH; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ vs HAL).

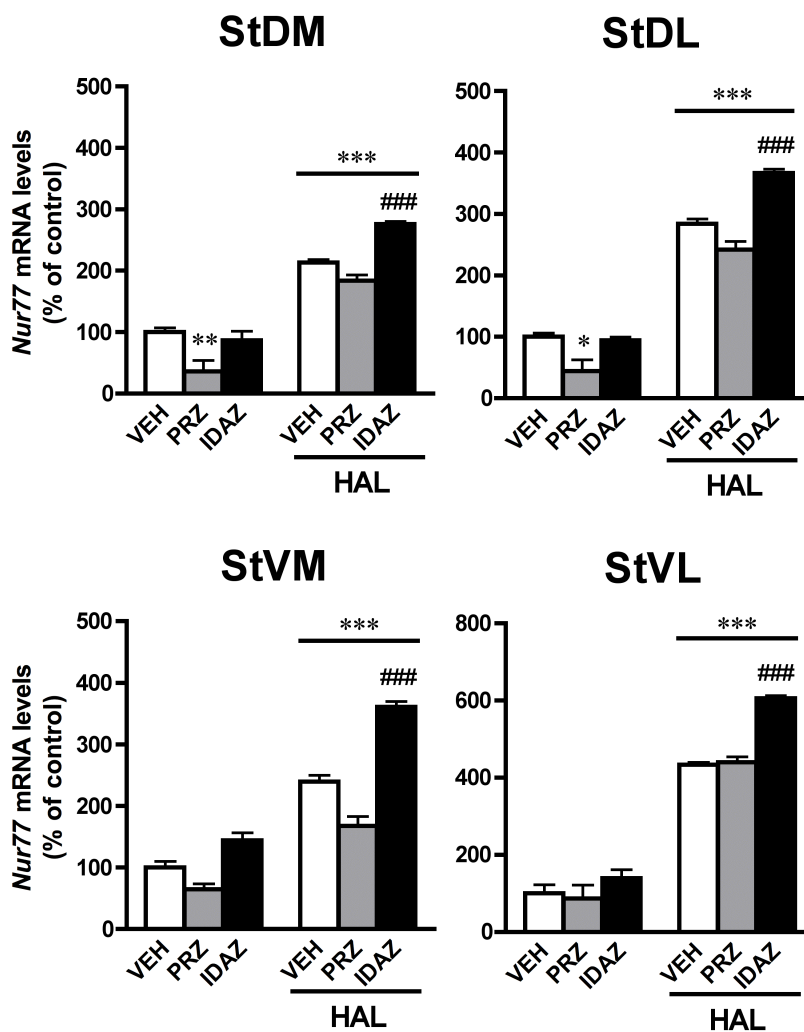


Figure 4. Histograms illustrating the effect of adrenergic drugs on haloperidol-induced *Nur77* mRNA levels in the mouse striatum.

Values are expressed in percentage of change compared to vehicle-treated animals (control) and represent mean \pm S.E.M. Each group included 5 animals. See materials and methods for dose regimens. VEH, vehicle; PRZ, prazosin; IDAZ, idazoxan; HAL, haloperidol; StDM, dorsomedial striatum; StDL, dorsolateral striatum; StVM, ventromedial striatum; StVL, ventrolateral striatum (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs VEH; ### $p < 0.001$ vs HAL).

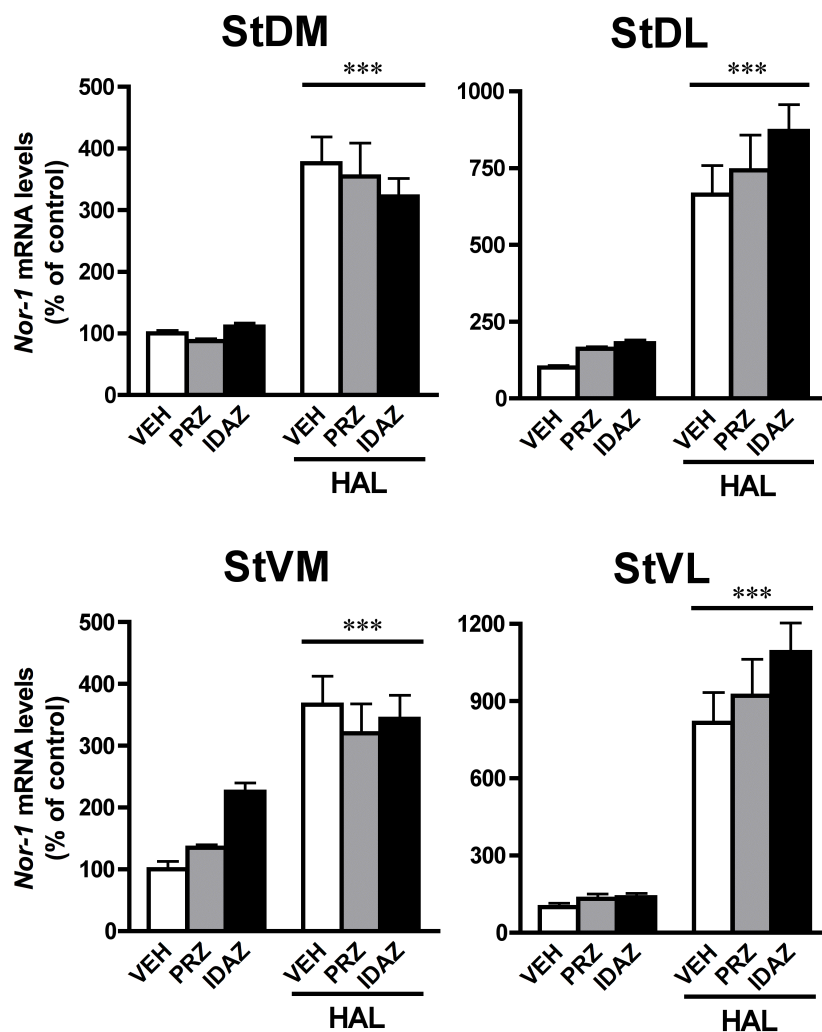


Figure 5. Histograms illustrating the effect of adrenergic drugs on haloperidol-induced *Nor-1* mRNA levels in the mouse striatum.

Values are expressed in percentage of change compared to vehicle-treated animals (control) and represent mean \pm S.E.M. Each group included 5 animals. See materials and methods for dose regimens. VEH, vehicle; PRZ, prazosin; IDAZ, idazoxan; HAL, haloperidol; StDM, dorsomedial striatum; StDL, dorsolateral striatum; StVM, ventromedial striatum; StVL, ventrolateral striatum (***) $p < 0.001$ vs VEH).

Table 1. *Nur77* and *Nor-1* mRNA levels in vehicle-treated animals in the brain areas analyzed.

Brain areas	mRNA levels (nCi/g tissue)	
	<i>Nur77</i>	<i>Nor-1</i>
mPFC	389 ± 46	123 ± 12
CC	445 ± 33	106 ± 16
AcSh	103 ± 13	42 ± 4
AcC	151 ± 21	29 ± 2
StDM	207 ± 11	70 ± 6
StDL	177 ± 14	19 ± 2
StVM	105 ± 8	24 ± 4
StVL	38 ± 7	31 ± 4
SNc	4 ± 2	8 ± 1
VTA	6 ± 2	5 ± 2

Values represent mean ± SEM from vehicle-treated animals (n=5). Abbreviations are: AcC, nucleus accumbens core; AcSh, nucleus accumbens shell; CC, cingulate cortex; mPFC, medial prefrontal cortex; SNc, substantia nigra *pars compacta*; StDM, dorsomedial striatum; StDL, dorsolateral striatum; StVM, ventromedial striatum; StVL, ventrolateral striatum; VTA, ventral tegmental area.

Table 2. Effects of serotonin drugs on *Nur77* expression in extra-striatal areas.

	VEH	DOI	8-OH-DPAT	MDL11939	Haloperidol	DOI +	8-OH-DPAT +	MDL11939 +
					Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol
<i>Nur77</i> mRNA levels (% of vehicle)								
mPFC	100 ± 12	133 ± 14	125 ± 11	149 ± 11	148 ± 12	122 ± 19	115 ± 7	143 ± 15
CC	100 ± 7	133 ± 8	100 ± 12	143 ± 11*	116 ± 7	100 ± 11	140 ± 13	135 ± 6
AcSh	100 ± 12	275 ± 36*	233 ± 32	153 ± 18	338 ± 21**	434 ± 39***	562 ± 75***##	442 ± 38***
AcC	100 ± 14	218 ± 26*	149 ± 39	209 ± 31	267 ± 42**	347 ± 27***	305 ± 31***	323 ± 23***
SNc	100 ± 58	264 ± 103	201 ± 129	63 ± 36	2146 ± 342***	1777 ± 235***	1996 ± 303***	1726 ± 337***
VTA	100 ± 40	144 ± 43	93 ± 17	111 ± 31	1418 ± 155***	1186 ± 180***	1024 ± 37***	848 ± 115***##

Values represent mean ± SEM from 5 animals per group (* p<0.05, ** p<0.01, and *** p<0.001 vs VEH group and ## p<0.01 vs haloperidol group). Abbreviations are: AcC, nucleus accumbens core; AcSh, nucleus accumbens shell; CC, cingulate cortex; mPFC, medial prefrontal cortex; SNc, substantia nigra *pars compacta*; VTA, ventral tegmental area; VEH, vehicle.

Table 3. Effects of serotonin drugs on *Nor-1* expression in extra-striatal areas.

	VEH	DOI	8-OH-DPAT	MDL11939	Haloperidol	DOI +	8-OH-DPAT +	MDL11939 +
					Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol	Haloperidol
<i>Nor-1</i> mRNA levels (% of vehicle)								
mPFC	100 ± 10	35 ± 3*	71 ± 18	194 ± 27*	241 ± 38*	236 ± 50*	115 ± 16 [#]	68 ± 20 ^{##}
CC	100 ± 15	34 ± 9*	58 ± 15	220 ± 45*	228 ± 34*	211 ± 56*	119 ± 20 [#]	41 ± 9 ^{##}
AcSh	100 ± 9	46 ± 16	180 ± 58	257 ± 58	589 ± 60**	526 ± 131**	773 ± 80***	101 ± 19 ^{###}
AcC	100 ± 8	80 ± 25	124 ± 40	314 ± 76*	654 ± 94***	642 ± 148**	407 ± 66**	108 ± 22 ^{###}
SNC	100 ± 18	118 ± 46	47 ± 7	42 ± 17	975 ± 162***	682 ± 88**	889 ± 135***	743 ± 125***
VTA	100 ± 36	159 ± 47	103 ± 19	123 ± 34	1608 ± 188***	1307 ± 199***	1128 ± 41*** [#]	911 ± 114*** ^{##}

Values represent mean ± SEM from 5 animals per group (* p<0.05, ** p<0.01, and *** p<0.001 vs VEH group and # p<0.05, ## p<0.01, and ### p<0.001 vs haloperidol group). Abbreviations are: AcC, nucleus accumbens core; AcSh, nucleus accumbens shell; CC, cingulate cortex; mPFC, medial prefrontal cortex; SNC, substantia nigra *pars compacta*; VTA, ventral tegmental area; VEH, vehicle.

Table 4. Effects of adrenergic drugs on *Nur77* expression in extra-striatal areas.

	VEH	Prazosin	Idazoxan	Haloperidol	Prazosin + Haloperidol	Idazoxan + Haloperidol
<i>Nur77</i> mRNA levels (% of vehicle)						
mPFC	100 ± 14	73 ± 4	151 ± 10	116 ± 9	131 ± 9	150 ± 18
CC	100 ± 16	62 ± 16	125 ± 16	109 ± 11	124 ± 8	148 ± 9
AcSh	100 ± 12	41 ± 20*	77 ± 14	221 ± 11***	216 ± 4***	304 ± 10***##
AcC	100 ± 1	38 ± 4**	96 ± 5	250 ± 9***	197 ± 6***##	263 ± 6***
SNC	100 ± 23	132 ± 35	141 ± 20	772 ± 80***	827 ± 93***	1094 ± 119***,#
VTA	100 ± 18	113 ± 18	104 ± 11	475 ± 60***	707 ± 69***#	618 ± 55***

Values represent mean ± SEM from 5 animals per group (* p<0.05, ** p<0.01, and *** p<0.001 vs VEH group and # p<0.05 and ## p<0.01 vs haloperidol group). Abbreviations are: AcC, nucleus accumbens core; AcSh, nucleus accumbens shell; CC, cingulate cortex; mPFC, medial prefrontal cortex; SNC, substantia nigra *pars compacta*; VTA, ventral tegmental area; VEH, vehicle.

Table 5. Effects of adrenergic agents on *Nor-1* expression in extra-striatal areas.

	VEH	Prazosin	Idazoxan	Haloperidol	Prazosin + Haloperidol	Idazoxan + Haloperidol
<i>Nor-1</i> mRNA levels (% of vehicle)						
mPFC	100 ± 11	114 ± 7	110 ± 5	72 ± 3	110 ± 14	110 ± 17
CC	100 ± 8	110 ± 11	109 ± 9	81 ± 7	129 ± 10 [#]	88 ± 9
AcSh	100 ± 4	113 ± 11	109 ± 16	312 ± 29 ^{***}	384 ± 21 ^{***}	452 ± 36 ^{***##}
AcC	100 ± 10	127 ± 14	117 ± 7	333 ± 29 ^{***}	366 ± 53 ^{***}	304 ± 21 ^{***}
SNC	100 ± 17	89 ± 29	85 ± 6	208 ± 29 [*]	216 ± 24 [*]	195 ± 19 [*]
VTA	100 ± 14	77 ± 22	72 ± 19	177 ± 15 [*]	175 ± 8 [*]	95 ± 8 [#]

Values represent mean ± SEM from 5 animals per group (* p<0.05 and *** p<0.001 vs VEH group, and # p<0.05 and ## p<0.01 vs haloperidol group). Abbreviations are: AcC, nucleus accumbens core; AcSh, nucleus accumbens shell; CC, cingulate cortex; mPFC, medial prefrontal cortex; SNC, substantia nigra *pars compacta*; VTA, ventral tegmental area; VEH, vehicle.

Chapitre 6 : Implication de la neurotransmission glutamatergique dans la modulation de la transcription de l'ARNm de *Nur77* modulée par les antagonistes D₂

6.1 Contribution du candidat

Le candidat a effectué tous les manipulations et expérimentation présentés dans ce manuscrit à l'exception du traitement des souris D2L (-/-) qui a été fait par Emanuele Tirota à l'Université d'Irvine, CA, USA. Les lésions corticales ont été effectuées dans le laboratoire du Dr. Pierre-Paul Rompré. L'analyse des résultats a été accomplie essentiellement par le candidat. Les cultures organotypiques de tranches cérébrales ont été développé et mise au point dans le laboratoire par le candidat. Celui-ci a participé activement à l'écriture du manuscrit en collaboration avec le directeur de recherche. Ce manuscrit est en processus de soumission.

6.2 Article #2 : Dopamine D2 antagonist-induced striatal gene expression requires activation of mGluR5 receptors by cortical afferents

Jérôme Maheux ¹, Michel St-Hilaire ², David Voyer¹, Emanuele Tirota ³, Emiliana Borrelli³, Claude Rouillard ², Pierre-Paul Rompré ⁴ and Daniel Lévesque ¹

¹ Faculté de Pharmacie, Université de Montréal, Montréal, Qc, Canada H3C 3J7

² Dept. of Psychiatry and Neuroscience, Laval University and Neuroscience Unit, Laval University Hospital Research Centre (CRCHUL), Quebec, Qc, G1V 4G2, Canada

³ Department of Microbiology & Molecular Genetics, University of California Irvine, Irvine, California, 92697, USA and

⁴ Faculty of Medicine, Dept. of Psychiatry, Université de Montréal, Montreal, Qc, Canada.

Abbreviated title: Glutamate receptors in D₂ antagonist effect

Keywords: antipsychotic drugs, transcription factors, *Nur77*, Nr4a1, organotypic culture, dopamine D_{2S} receptors, glutamate receptors, adenosine receptors

ABSTRACT

Dopamine D₂ receptor antagonists modulate gene transcription in the striatum. However, the molecular mechanism underlying this effect remains elusive. Here we used the expression of *Nur77*, a transcription factor of the orphan nuclear receptor family, to explore the role of dopamine, glutamate and adenosine receptors in the effect of a dopamine D₂ antagonist in the striatum. First, we investigated D₂ antagonist-induced *Nur77* mRNA in D_{2L} receptor knockout mice. Surprisingly, deletion of the D_{2L} receptor isoform did not reduce eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA levels in the striatum. Next, we tested if an ibotenic cortical lesion could block the effect of eticlopride on *Nur77* expression. Cortical lesions strongly reduced eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA. Then, we investigated if glutamatergic neurotransmission could modulate eticlopride-induced *Nur77* expression. A combination of a metabotropic glutamate type 5 (mGluR5) antagonist with an antagonist of its synergistic partner adenosine A_{2A} receptor abolished eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA levels in the striatum. Direct modulation of striatal *Nur77* expression by glutamate and adenosine receptors was confirmed using corticostriatal organotypic cultures. Taken together, these results indicate that blockade of postsynaptic D₂ receptors is not sufficient to trigger striatal transcriptional activity and that interaction with corticostriatal presynaptic D₂ receptors and subsequent activation of postsynaptic glutamate and adenosine receptors in the striatum is required. These results uncover a new mechanism of action of D₂ antagonists and support a prominent role of glutamate in the effect of classic antipsychotic drugs.

INTRODUCTION

Dopamine antagonists have been used to alleviate schizophrenia symptoms for more than a half-century. There is a general agreement that *in vitro* binding affinity for dopamine D₂ receptors predicts efficacy and likelihood of causing extrapyramidal side effects of antipsychotic drugs (Miyamoto et al., 2005). However, although all antipsychotic drugs used in clinic share the similar pharmacological profile of being D₂ antagonists (with the exception of aripiprazole, which is a partial D₂ agonist), the exact mechanisms that convey their therapeutic and undesired effects remain elusive. A growing body of evidence indicate that drugs targeting other neurotransmitters, such as glutamate and adenosine, might also display antipsychotic activity (Lara et al., 2006; Conn et al., 2009; Krystal et al., 2010). But, because of the *in vivo* reciprocal functional relationships between dopamine, glutamate and adenosine receptor activities, it is difficult to pin point the specific contribution of different receptor subtypes.

The striatum expresses high levels of dopamine D₂ receptors and is considered as an important brain area where dopamine and glutamate inputs are integrated to modulate psychomotor responses. The main striatal inputs are excitatory glutamatergic terminals coming from the cortex and thalamus, and dopamine afferences from the substantia nigra/ventral tegmental area complex. In order to process information coming from these multiple sources, striatal cells express a large array of neurotransmitter receptor subtypes at their surface (Gerfen and Surmeier, 2011). Striatal cells express glutamate receptors and a functional interaction has been described between the activity of dopamine D₂ and metabotropic glutamate receptors. For example, blockade of metabotropic glutamate receptor type 5 (mGluR5) reduces haloperidol (D₂ antagonist)-induced catalepsy (Ossowska et al., 2001). In addition, an interaction between dopamine D₂, adenosine A_{2A} and mGluR5 receptors has been demonstrated in the striatum (Ferré et al., 2002; Kachroo et al., 2005; Cabello et al., 2009). An important contributing factor to the striatal activity is

the presence of neurotransmitter receptors located on cortical inputs to the striatum that regulate glutamate release. Indeed, activation of presynaptic D₂ heteroreceptors located on glutamate neuron terminals (Schwarcz et al., 1978; Wang and Pickel, 2002) modulates glutamate release within the striatum and represents an important regulator of striatal excitatory inputs (Maura et al., 1988; Cepeda et al., 2001; Bamford et al., 2004).

Dopamine D₂ receptors exist in two receptor isoforms derived from alternative splicing of the same gene (Giros et al., 1989). Accumulating evidence indicates that the D₂ short (D_{2S}) receptor isoform is mainly associated with presynaptic activities (Khan et al., 1998b; Usiello et al., 2000; Lindgren et al., 2003). Interestingly, it has been shown that dopaminergic modulation of corticostriatal glutamate release depended upon the D_{2S} receptors (Centonze et al., 2004). On the other hand, the D₂ long (D_{2L}) receptor isoform seems to mediate postsynaptic dopamine receptor functions (Khan et al., 1998b; Usiello et al., 2000; Lindgren et al., 2003).

Modulation of gene transcription within neurons rapidly leads to protein synthesis and subsequent cellular adaptation. It is well documented that D₂ antagonists, such as typical antipsychotic drugs rapidly induce genes like *c-fos*, *Zif268*, or *Nur77* (NGFI-B, Nr4a1) (Guo et al., 1998; Beaudry et al., 2000; Maheux et al., 2005). However, the exact contribution of glutamate, adenosine, and dopamine D_{2S} and D_{2L} receptors in the regulation of striatal gene expression remains to be clarified. In the present study, we show that D₂ antagonist-induced transcriptional activity in the striatum is mediated by interaction of the drug with presynaptic D_{2S} heteroreceptors located at corticostriatal terminals and subsequent activation of postsynaptic glutamate mGluR5 and adenosine A_{2A} receptors.

MATERIALS AND METHODS

Animals

For pharmacological experiments, adult male wild type C57BL/6 mice (Charles River, Canada, St-Constant, Qc, Canada) and mice lacking dopamine D_{2L} receptors (D_{2L} receptor knockouts, D_{2L}(-/-)) and their littermates (Usiello et al., 2000) were used. All mice weighted 20-25 g and were housed five per cage in a temperature-controlled environment maintained under a 12-h light/dark cycle with *ad libitum* access to food and water. For experiments involving ibotenic acid lesions, we used male Sprague-Dawley rats (Charles River, St-Constant, Quebec) weighing 280-320g. Experimental procedures, including means to minimize discomfort, were reviewed and approved by the institutional Animal Ethics Committee of the Université de Montréal and were done in accordance with the Canadian Council on Animal Care guidelines for use of experimental animals.

Drugs and treatments

The selective dopamine D₂/D₃ receptor antagonist eticlopride, the selective adenosine A_{2A} antagonist SCH58261 (7-(2-phenylethyl)-5-amino-2-(2-furyl)-pyrazolo-[4,3-e]-1,2,4-triazolo[1,5-c]pyrimidine), the cannabinoid CB₁ receptor antagonist 1-(2,4-dichlorophenyl)-5-(4-iodophenyl)-4-methyl-N-1-piperidinyl-1H-pyrazole-3-carboxamide (AM251) and the muscarinic antagonist scopolamine were purchased from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA). The selective mGluR5 antagonist 2-methyl-6-(phenylethynyl)pyridine hydrochloride (MPEP), the mGluR1/5 agonist (RS)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG), the selective mGluR5 agonist (RS)-2-Chloro-5-hydroxyphenylglycine sodium salt (CHPG), the selective A_{2A} agonist 4-[2-[[6-amino-9-(N-ethyl-β-D-ribofuranuronamidoyl)-9H-purin-2-yl]amino]ethyl]benzene propanoic acid hydrochloride (CGS21680), the excitatory amino acid transporter 1-2 (EAAT1-2) blocker (3S)-3-[[3-[[4-(trifluoromethyl)benzoyl] amino]phenyl]methoxy]-L-aspartic acid (TBOA) was purchased from Tocris Bioscience (Avonmouth, UK). The non-competitive NMDA

antagonists MK-801 and phencyclidine (PCP) was obtained from Sigma-Aldrich (St-Louis, MO, USA) through a restricted importation permit.

In the first experiment, we compared the effect of vehicle (NaCl 0.9%) and eticlopride (1 mg/kg) on striatal *Nur77* mRNA expression in wild type ($D_{2L}(+/+)$) and $D_{2L}(-/-)$ mice in order to assess the contribution of D_{2S} and D_{2L} receptor isoforms in the effect of the D_2 antagonist. We used eticlopride, a selective D_2/D_3 receptor antagonist, because typical antipsychotic drugs used in clinics display a wider pharmacological profile, which further complicate interpretation of the data. In the second experiment, we assessed the effect of glutamatergic drugs on *Nur77* gene transcription. We acutely treated (0.25 ml, i.p.) 5 different groups of wild-type mice ($N = 5$) as follows: (a) vehicle (NaCl 0.9%); (b) MK-801 (non competitive NMDA antagonist, 0.75 mg/kg); and (c) phencyclidine (PCP, 5mg/kg). In the third experiment, lower doses of MK-801 were used alone or in combination with eticlopride. Groups of mice were formed as follows: (a) vehicle (NaCl 0.9%) ($N = 6$); (b) eticlopride (1 mg/kg) ($N = 5$); (c) MK-801 (0.3 mg/kg) ($N = 5$); (d) MK-801 (0.03 mg/kg) ($N = 5$); (e) eticlopride (1 mg/kg) + MK-801 (0.3 mg/kg); (f) eticlopride (1 mg/kg) + MK-801 (0.03 mg/kg). MK-801 was injected 15 min before eticlopride. In the fourth pharmacological experiment, involvement of mGluR5 and A_{2A} receptor drugs on eticlopride-induced *Nur77* upregulation was investigated. Animals were distributed into 7 groups and treated as follows: (a) vehicle (NaCl 0.9%); (b) MPEP (mGluR5 antagonist, 10 mg/kg); (c) SCH58261 (A_{2A} antagonist, 5 mg/kg); (d) eticlopride (dopamine D_2 antagonist, 1 mg/kg); (e) eticlopride (1 mg/kg) + MPEP (10 mg/kg); (f) eticlopride (1 mg/kg) + SCH58261 (5 mg/kg); (g) eticlopride (1 mg/kg) + MPEP (10 mg/kg) + SCH58261 ($N = 5$ per group). MPEP and SCH58261 were administered 30 min before the dopamine antagonist. A similar paradigm was used to investigate the effect of the CB_1 antagonist AM251 (5 mg/kg, i.p.) and muscarinic m1-4 antagonist scopolamine (2.5 mg/kg, i.p.).

For all treatments, mice were sacrificed by decapitation 60 min after the last drug injection under CO₂ anesthesia. Brains were rapidly removed, immediately immersed into cold 2-methylbutane (-40°C) for a few seconds and kept frozen at -80°C until further used.

In situ hybridization

Nur77 mRNA expression was used as a readout for striatal transcriptional activity. This nuclear receptor is rapidly induced in the striatum after treatment with D₂ antagonists, such as typical antipsychotic drugs (Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000; Maheux et al., 2005) and plays an important role in the maintenance of dopaminergic system homeostasis (Lévesque and Rouillard, 2007). *In situ* hybridization procedure, as well as *Nur77* probe preparation and radiolabeling, has been described in details previously (Beaudry et al., 2000; St-Hilaire et al., 2003; Maheux et al., 2005).

Briefly, single-stranded riboprobes were synthesized and labelled using Promega riboprobe kit (Promega, Madison, WI), [³⁵S]UTP (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Woodbridge, ON, Canada) and the RNA polymerase T₃. *In situ* hybridization of riboprobes with cryostat coronal brain sections mounted on Snowcoat X-tra slides (Surgipath, Winnipeg, MA, Canada) were done at 58°C overnight in a standard hybridization buffer containing 50% formamide (Beaudry et al., 2000; St-Hilaire et al., 2003; Maheux et al., 2005). Brain sections were then apposed against BiomaxMR radioactive sensitive films (Eastman Kodak, New Haven, CT) for 2 days.

Quantification and statistical analysis

Levels of autoradiographic labeling on films were quantified by computerized densitometry as previously described (Beaudry et al., 2000; St-Hilaire et al., 2003; Maheux et al., 2005). Optical density of the autoradiograms was translated in nCi/g of tissue using [¹⁴C]-radioactivity standards (ARC 146A-¹⁴C standards, American Radiolabeled Chemicals

Inc., St-Louis, MO). *Nur77* mRNA levels were measured in the dorsomedial (StDM), dorsolateral (StDL), ventromedial (StVM), and ventrolateral (StVL) portions of the striatum, and the nucleus accumbens shell (AcSh) and core (AcC). The average level of labeling for each area was calculated from three to four adjacent brain sections of the same animal. Background intensity was subtracted from every measurement.

All data are expressed as group mean \pm SEM and statistical analysis were performed using GraphPad Prism version 4.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Statistical comparisons between groups were obtained by using a one-way analysis of variance and a Bartlett's test for equal variance. When the Bartlett's test showed significant differences between variance, the log or square root of data were used in the analysis. One-way analyses of variance were followed by a Tukey's multiple comparison test as a *post-hoc* test when appropriate.

Ibotenic acid cortical lesions

Rats were anesthetized with isoflurane (2.5-3.5%, O₂ 0.6 L/min) and mounted on a stereotaxic apparatus. The surface of cranium was exposed and the bone and dura above the left or right sensory cortex was removed. A needle (300 μ m in diameter) containing 5 μ g/ μ l of ibotenic acid, or its vehicle, was inserted into the cortex at four anterior-posterior (0.5 mm apart) and 2 to 4 medial-lateral sites using the following flat skull coordinates: between 0.5 posterior and 1.5 mm anterior to Bregma; 1.4 to 3.3 mm lateral to the sagittal line and 1.2 to 2.2 mm below the surface of the cortex. At each site, the needle was lowered to 2.2 mm below the cortex and a volume of 0.15 μ l solution was injected over a minute; two (three for the most lateral and anterior sites) similar injections were made 0.5 and 1.0 mm above. The solution was injected using a microinfusion pump to activate a Hamilton microsyringe connected to the injection needle by polyethylene tubing. A total of 34 injections were made per animal.

Ten days after surgery, animals were injected with eticlopride (1 mg/kg, i.p.) or saline and returned their home cage. Sixty minutes after the injection, they were anesthetised with isoflurane (3.5%, O₂ 0.6L/min) and killed by decapitation. The brains were quickly removed dipped in cold 2-methylbutane and stored at -80°C.

Corticostriatal organotypic slices

Corticostriatal organotypic slice cultures were prepared from 4-5 days old mice using the methods of Stoppini (1991) and Stahl (2009) with minor modifications (Stoppini et al., 1991; Stahl et al., 2009). Briefly, mice brain were extracted and immersed in complete Hank's buffer solution supplemented with glucose (5.6 mM) and sucrose (27.8 mM). Coronal 400 µm slices were cut using a McIlwain tissue chopper (Harvard Apparatus, St-Laurent, QC). Slices containing the striatum were transferred on Millicell filter inserts (0.4 µm; Millipore, Fisher scientific, Whitby, ON) placed into a six-well plate filled with 1 ml of Neurobasal medium containing 10% FBS, 1X N-2 supplement, 1X glutamine, 1X antibio-antimyc and 0.6% glucose and maintained in culture for 3 days. Slices were then serum deprived for 14 h before pharmacological treatments. Drugs such as TBOA, DHPG, CHPG and CGS 21680 were applied for 1 hour directly to the culture medium. MPEP or quinpirole were applied 15 min prior subsequent treatments. Striatum were removed using a glass Pasteur pipette as a tissue punch.

Tissue samples were expelled directly in Trizol reagent for RNA extraction (Sigma-Aldrich, St-Louis, MO, USA). Reverse transcriptase reactions of 2 µg RNA were performed in a final volume of 20 µl using the High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit with random primers (Applied Biosystems, Streetsville, ON). 1.5 µl of cDNA sample was used for SYBR green qPCR amplification of *Nur77* (NR4A1; NM_010444.2) using Fast SYBR Green Master Mix (Applied Biosystems, Streetsville, ON). Gene expression

level for endogenous controls was determined using pre-validated Taqman Gene Expression Assays (Applied Biosystems, Streetsville, ON). Four endogenous controls (glyceraldehyde-3-phosphate; GAPDH, hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase; HPRT1, β -actin; ACTB and TATA binding protein; TBP) were first assessed to determine which ones had the more stable expression in our experimental conditions. Further analysis of each sample was controlled using both GAPDH (NM_008084.2) and HPRT1 (NM_013556). The ABI PRISM[®] 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems, Streetsville, ON) was used to detect the amplification level. All reactions were run in triplicate and average values of cycle thresholds (Cts) were used for quantification. The relative quantification of target genes was determined using the $\Delta\Delta$ CT method.

RESULTS

In the first experiment, we investigated the contribution of D_{2S} and D_{2L} receptors in the modulation of *Nur77* mRNA expression in the striatum by comparing basal and eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels in wild type (+/+) and D_{2L} knockout (-/-) mice (Usiello et al., 2000; Lindgren et al., 2003). D_{2L}(-/-) mice display a >50% reduction in their basal *Nur77* mRNA levels in the StDM, as compared with their wild type littermates (Fig. 1). As expected, administration of eticlopride, in wild type mice, leads to a strong increase of *Nur77* transcript levels (Fig. 1). Surprisingly, this modulation is still present in D_{2L} mutant mice (Fig. 1), and is even significantly stronger when compared to their wild type littermates in most striatal subterritories (Fig. 1). These data indicate that D_{2L} receptors might not play an important role in the effect of eticlopride-induced *Nur77* expression in the striatal tissue.

This led us to investigate the contribution of presynaptic D₂ receptors located on cortical glutamatergic afferences (presynaptic D_{2S} heteroreceptors) (Bamford et al., 2004; Centonze et al., 2004; Higley and Sabatini, 2010). In order to investigate whether integrity of the

corticostriatal pathway, and therefore involvement of presynaptic D₂ heteroreceptors, in eticlopride-induced *Nur77* mRNA in the striatum, we proceeded to unilateral lesions of the corticostriatal fibers using intra cortical injections of ibotenic acid. Ibotenic acid injections led to the lesion of most cortical neurons located in the primary motor cortex (M1) and affected most layers of the cortex. In some individuals, the lesion extended to the primary sensorimotor cortex (Fig. 2A-C). Nissl staining showed that underlying subcortical regions were left intact (Fig. 2B). As expected, eticlopride induced a strong increase in *Nur77* mRNA levels in control animals bearing a sham lesion (Fig. 2D). On the other hand, unilateral cortical lesion almost totally prevented eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA levels in the ipsilateral dorsal striatum (Fig. 2D). Striatal eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels were comparable to sham-lesioned animals in the contralateral side (Fig. 2D). We also conducted lesions of the medial prefrontal cortex and analyzed the underlying subcortical targets (Fig. 2E). As with motor cortex lesions, the effect of eticlopride on *Nur77* mRNA levels was drastically blunted in medial prefrontal cortex target areas (nucleus accumbens core and medial striatum) in lesioned animals (Fig. 2E). These data clearly indicate that the integrity of corticostriatal inputs is necessary for the upregulation of striatal *Nur77* mRNA levels by the D₂ antagonist.

Since presynaptic D₂ heteroreceptors located on glutamatergic terminals play an important role in regulating glutamatergic striatal inputs (Maura et al., 1988; Cepeda et al., 2001; Bamford et al., 2004; Higley and Sabatini, 2010), we then investigate if glutamate receptors located on postsynaptic striatal medium spiny neurons might contribute to the effect of the D₂ antagonist. To test this hypothesis, we combined the administration of eticlopride with ionotropic and metabotropic glutamate receptor antagonists. Although the modulation of *Nur77* mRNA levels by dopamine D₂ antagonists has been previously described (Beaudry et al., 2000; Werme et al., 2000; Maheux et al., 2005), modulation of this transcription factor by glutamate receptors remains largely unexplored. Thus, we first evaluated the effect of NMDA antagonists on striatal *Nur77* mRNA levels in wild type mice. Both MK-

801 (0.75 mg/kg, i.p.) and PCP (5 mg/kg, i.p.) strongly reduced basal *Nur77* mRNA levels in the striatal complex (unpublished data, Maheux and Levesque).

In the next step, we investigate the role of NMDA receptors into the upregulation of *Nur77* mRNA expression induced by the D₂ antagonist eticlopride. Since the initial dose of MK-801 (0.75 mg/kg) induced a strong reduction of basal *Nur77* expression, which could be mixed up with the putative effect of NMDA on eticlopride-induced *Nur77* expression, we investigated two lower doses of MK-801 (0.03 and 0.3 mg/kg) alone or in combination with eticlopride (Fig. 3A-D). At these concentrations, MK-801 is still able to reduce basal *Nur77* levels, but to a lesser extent (Fig. 3A-D). However, both MK-801 doses did not alter eticlopride-induced *Nur77* expression in lateral striatal subterritories (Fig. 3B,D) and the lower dose of MK-801 (0.03 mg/kg) also remained without an effect in medial portions of the striatum (Fig. 3A,C). Note that a similar low dose of MK-801 can modulate *c-fos* mRNA levels in the brainstem, as well as to reduce reward threshold induced by electrical self-stimulation of the ventral tegmental area (Hattori et al., 2004; Clements and Greenshaw, 2005), indicating that this dose is effective.

Since these results suggested a modest contribution of NMDA receptors in eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels in the striatum, we investigated the role of the metabotropic glutamate mGluR5 receptor and its partner, the adenosine A_{2A} receptor (Fig. 3E-I). Administration of MPEP (mGluR5 antagonist) or SCH58261 (A_{2A} antagonist) alone had no effect on *Nur77* mRNA expression in the brain areas analyzed, with the exception of an increase in the StVM by MPEP (Fig. 3E and Table 1). When co-administered with eticlopride, SCH58261 had no significant effect on the upregulation of *Nur77* mRNA expression (Fig. 3E-I). Selective blockade of mGluR5 with MPEP tended to reduce eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels, but this effect reached significance only in the StDL portion of the striatum (Fig. 3G). Interestingly, co-administration of both MPEP and

SCH58261 strongly reduced eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels in all striatal subterritories, restoring *Nur77* mRNA levels back to baseline (Fig. 3E-I).

The previous results show that metabotropic glutamate mGluR5 and adenosine A_{2A} receptor subtypes play an important role in the induction of *Nur77* mRNA levels after a D₂ antagonist treatment. To directly demonstrate their contribution to the modulation of *Nur77* mRNA expression, we tested whether an increase of glutamatergic neurotransmission or mGluR5 and A_{2A} receptor activation can modulate *Nur77* mRNA levels in corticostriatal organotypic slices in culture. To this end, we used TBOA, which is a high affinity blocker of glial excitatory amino acid transporter 1 and 2 (EAAT1-2), which has been shown to increase glutamate concentration in acute slice preparations (Beurrier et al., 2009). TBOA alone produce a nice and strong dose-dependent *Nur77* mRNA induction (Fig. 4A). Pre-treatment of organotypic cultures with MPEP, a selective mGluR5 antagonist, significantly reduced the effect of the low dose of TBOA on *Nur77* mRNA induction confirming the important role of mGluR5 in the induction of *Nur77* gene transcription by glutamate (Fig. 4B). We therefore tested direct activation of mGluR5 in organotypic corticostriatal slices. Exposition to DHPG, a mGluR1/5 agonist, significantly increased *Nur77* mRNA expression in the striatum by approximately five-fold (Fig. 4C). This effect was selective for mGluR5 receptors since co-administration of MPEP lead to a complete blockade of DHPG-induced *Nur77* mRNA upregulation (Fig. 4C). Additionally, activation of mGluR5 with a more specific agonist (CHPG) also led to a strong increase of *Nur77* mRNA (Fig. 4D). As previously observed *in vivo*, this effect can be potentiated by a concomitant activation of A_{2A} receptors with CGS21680 (Fig. 4D). Interestingly, direct exposure of corticostriatal organotypic slices to eticlopride alone or in combination with TBOA did not modulate *Nur77* mRNA levels (Fig. 4E,F). The dopamine D₂ receptor agonist (quinpirole) alone or in the presence of TBOA also did not modulate striatal *Nur77* mRNA levels in our organotypic slice preparations (Fig. 4G). This suggests a minimal contribution of

postsynaptic D₂ receptors in striatal transcriptional activity induced by the dopamine D₂ antagonist.

To complete the pharmacological characterization of the dopamine D₂ receptor antagonist, we also investigate the effect of cannabinoid and muscarinic drugs in the modulation of striatal *Nur77* mRNA levels induced by eticlopride. Systemic injections of AM251, a CB₁ receptor antagonist or scopolamine, a muscarinic m1-4 receptor antagonist, alone did not increase *Nur77* mRNA levels in the ventrolateral portion of the striatum (Fig. 5). Co-administration of AM251 or scopolamine with the D₂ antagonist did not reduce eticlopride-induced *Nur77* expression in the ventrolateral portion of the striatum (Fig. 5). In fact, scopolamine further increased eticlopride-induced *Nur77* expression (Fig. 5B). Similar results were obtained in other striatal subterritories (data not shown).

DISCUSSION

Our results indicate that the modulation of striatal *Nur77* mRNA expression by a dopamine D₂ antagonist depends on the integrity of the corticostriatal pathway (possibly through presynaptic D_{2S} receptors located on glutamate terminals in the striatum) and postsynaptic striatal mGluR5 and A_{2A} receptors activation (see Fig. 6 for a proposed model). Thus, presynaptic modulation of glutamate neurotransmission is required in the modulation of striatal transcriptional activity following the administration of a D₂ receptor antagonist (see Fig. 6).

It is generally recognized that blockade of striatal postsynaptic D₂ receptors is associated with antipsychotic drug activity. Thus, the absence of effect of the D₂ antagonist on *Nur77* mRNA expression in the D_{2L}(-/-) mice was somewhat surprising. In the D_{2L}(-/-) mouse, the lack of exon 6, specific for the D_{2L} isoform, results in the conversion of all dopamine D₂

receptor transcripts into D_{2S} receptors. Consequently, in D_{2L}(-/-) mice, a higher number of D_{2S} receptors are expressed by striatal neurons (Usiello et al., 2000; Lindgren et al., 2003)(Centonze et al., 2004). Our results clearly show that the D₂ receptor antagonist could still induce strong activation of *Nur77* gene transcription in D_{2L} mutant mice. Therefore, postsynaptic D_{2S} expression might have fulfilled D_{2L} activity in D_{2L}(-/-) mice. However, this possibility is unlikely because postsynaptic activity of dopamine, such as modulation of DARPP-32 phosphorylation in the striatum, is hampered in this mouse strain (Lindgren et al., 2003). A better understanding of the difference between the two isoforms subcellular expression would be required to better explain this observation. Since D_{2L} receptors are mainly associated with postsynaptic effect of dopamine (Khan et al., 1998a; Usiello et al., 2000; Lindgren et al., 2003), it suggests that a presynaptic event is needed for eticlopride-induced gene transcription in the striatum.

Dopamine D₂ receptors can modulate glutamate signaling through both pre- and postsynaptic mechanisms. These receptors can be found on cortical inputs from the corticostriatal pathway (presynaptic D₂ heteroreceptors), where they can modulate glutamate release in the striatum (Bamford et al., 2004; Higley and Sabatini, 2010). The present results show that the integrity of the corticostriatal pathway and therefore the presence of presynaptic D₂ heteroreceptors are essential for eticlopride-induced striatal gene expression. We demonstrated this by performing extensive lesions of motor and prefrontal cortices by means of intra cortical administration of ibotenic acid. Such lesions have been documented to decrease the role of excitatory amino acid transmission in targeted sub-cortical areas (Cromwell and Levine, 1996; Garcia et al., 2010). In accordance, the striatal areas altered by the present cortex lesions were restricted to striatal subterritories (Garcia et al., 2010). This suggests that the corticostriatal pathway is of the utmost importance in mediating D₂ antagonist regulation of transcription in those parts of the striatum.

These results fall in line with increasing evidence showing the importance of glutamate-dopamine interplay in striatal functions. Interestingly, the present results indicate that ionotropic NMDA receptors are minimally involved in the upregulation of striatal gene transcription by the D₂ antagonist, but rather support an important role for the metabotropic mGluR5 receptor subtype. Noteworthy, a number of reports have shown an important interaction between dopamine D₂ and mGluR5 receptors along with adenosine A_{2A} receptors. First, an intracellular signaling synergy has been observed between mGluR5 and adenosine A_{2A} in the striatum (Nishi et al., 2003). It has been shown also that co-activation of these receptors can induce *c-fos* expression in a synergistic manner in the nucleus accumbens and dual blockade of these receptors leads to a synergistic activation of locomotor activity (Ferré et al., 2002; Kachroo et al., 2005). Our data (both *in vivo* and *in vitro*) reveal another system in which activation of mGluR5 and A_{2A} produces an additive response. Although previous observations support a direct postsynaptic interaction between D₂, A_{2A} and mGluR5 receptors (Cabello et al., 2009), the present observations suggest that the D₂-A_{2A}-mGluR5 interaction may also occur indirectly from the activity of a presynaptic D₂ receptor (Fig. 6). This is also consistent with previous studies showing that acute and chronic administration of typical antipsychotic drugs, including haloperidol and eticlopride, increase glutamate concentration in the striatum (Bardgett et al., 1993; Yamamoto and Cooperman, 1994).

Experiments using organotypic corticostriatal slices confirm the direct modulation of *Nur77* expression following mGluR5 and A_{2A} receptor activation, which is consistent with results obtained in the hippocampus (Lindecke et al., 2006). In acute slice experiments, the glutamate uptake inhibitor TBOA can induce changes in postsynaptic currents (Beurrier et al., 2009) and quinpirole could decrease excitatory postsynaptic potential triggered by TBOA and low frequency cortical stimulation (Yin and Lovinger, 2006). However, we were not able to modulate *Nur77* mRNA levels with quinpirole in our organotypic cultures (with or without TBOA). This suggests that corticostriatal terminals might not

spontaneously release enough glutamate in our organotypic slice preparations to record a presynaptic effect of the dopamine D₂ receptor agonist. Since, direct postsynaptic D₂ receptor blockade by eticlopride in organotypic cultures also remained ineffective, these results support an indirect effect of the D₂ antagonist on striatal gene expression *in vivo*.

The contribution of other presynaptic D₂ heteroreceptors, such as those located on striatal cholinergic interneurons (Yan et al., 1997; Tozzi et al., 2011) is unlikely because we showed that the muscarinic antagonist scopolamine administration did not reduce eticlopride-induced *Nur77* mRNA expression in the striatum. On the contrary, scopolamine potentiated the effect of eticlopride. This might reflect a prominent activity of this non selective muscarinic antagonist at m1-2 receptor subtypes located on corticostriatal terminals, which can modulate glutamate release (Alcantara et al., 2001; Higley et al., 2009). The participation of presynaptic D₂ autoreceptors located on dopamine terminals is unlikely as well. Indeed, an elegant study recently showed that mice specifically lacking D₂ autoreceptors display similar haloperidol-induced reduction of horizontal locomotor activity compared to their littermate (Bello et al., 2011), indicating that these receptors are not involved in this D₂ antagonist-induced effect. Other receptor subtypes such as mGluR2/3 or cannabinoid CB₁ receptors might be involved in the regulation of glutamate release from corticostriatal terminals (Gerdeman and Lovinger, 2001; Kofalvi et al., 2005; Garcia et al., 2010). Although we showed that cannabinoid CB₁ receptors antagonist AM321 did not interfere with eticlopride-induced modulation of striatal *Nur77* mRNA expression, we cannot exclude a contribution of CB₁ or mGluR2/3 receptors, or from thalamostriatal afferents in the observed effects at the present time. In addition, the present set of data cannot rule out a contribution from postsynaptic D₂ receptors in the effect of the D₂ antagonist through a direct modulation of A_{2A}/mGluR5 receptor complex intracellular signaling cascade (Diaz-Cabiale et al., 2002; Cabello et al., 2009) (Fig. 6).

In conclusion, the present data suggest that both D₂ receptor antagonist and mGluR5-A_{2A} drug activities may in fact represent different parts of the same mechanism in which mGluR5-A_{2A} receptors mediate D₂ receptor antagonist effect on striatal gene expression (Fig. 6). Our results provide new evidences that adenosine and glutamate receptors play an important role in antipsychotic drug-mediated effects and uncover an unappreciated role of presynaptic D₂ heteroreceptors into the effect of dopamine D₂ receptor antagonists.

Acknowledgements

We acknowledge the support of grants from the Canadian Institutes for Health Research (CIHR). JM holds a Michael Smith honorific fellowship for research on schizophrenia from the CIHR.

Conflict of Interest

None

REFERENCES

- Alcantara AA, Mrzljak L, Jakab RL, Levey AI, Hersch SM, Goldman-Rakic PS (2001) Muscarinic m1 and m2 receptor proteins in local circuit and projection neurons of the primate striatum: anatomical evidence for cholinergic modulation of glutamatergic prefronto-striatal pathways. *J Comp Neurol* 434:445-460.
- Bamford NS, Zhang H, Schmitz Y, Wu N-P, Cepeda C, Levine MS, Schmauss C, Zakharenko SS, Zablow L, Sulzer D (2004) Heterosynaptic dopamine neurotransmission selects sets of corticostriatal terminals. *Neuron* 42:653-663.
- Bardgett ME, Wrona CT, Newcomer JW, Csernansky JG (1993) Subcortical excitatory amino acid levels after acute and subchronic administration of typical and atypical neuroleptics. *Eur J Pharmacol* 230:245-250.
- Beaudry G, Langlois M-C, Weppe I, Rouillard C, Lévesque D (2000) Contrasting patterns and cellular specificity of transcriptional regulation of the nuclear receptor nerve growth factor-inducible B by haloperidol and clozapine in the rat forebrain. *J Neurochem* 75:1694-1702.
- Bello EP, Mateo Y, Gelman DM, Noain D, Shin JH, Low MJ, Alvarez VA, Lovinger DM, Rubinstein M (2011) Cocaine supersensitivity and enhanced motivation for reward in mice lacking dopamine D(2) autoreceptors. *Nat Neurosci* 14:1033-1038.
- Beurrier C, Bonvento G, Kerkerian-Le Goff L, Gubellini P (2009) Role of glutamate transporters in corticostriatal synaptic transmission. *Neuroscience* 158:1608-1615.
- Cabello N, Gandia J, Bertarelli DC, Watanabe M, Lluís C, Franco R, Ferre S, Lujan R, Ciruela F (2009) Metabotropic glutamate type 5, dopamine D2 and adenosine A2A receptors form higher-order oligomers in living cells. *J Neurochem* 109:1497-1507.
- Centonze D, Gubellini P, Usiello A, Rossi S, Tschertter A, Bracci E, Erbs E, Tognazzi N, Bernardi G, Pisani A, Calabresi P, Borrelli E (2004) Differential contribution of dopamine D2S and D2L receptors in the modulation of glutamate and GABA transmission in the striatum. *Neuroscience* 129:157-166.

- Cepeda C, Hurst RS, Altemus KL, Flores-Hernandez J, Calvert CR, Jokel ES, Grandy DK, Low MJ, Rubinstein M, Ariano MA, Levine MS (2001) Facilitated glutamatergic transmission in the striatum of D2 dopamine receptor-deficient mice. *J Neurophysiol* 85:659-670.
- Clements RL, Greenshaw AJ (2005) Facilitation of brain stimulation reward by MK-801 (dizocilpine) may be independent of D2-like dopamine receptor stimulation in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 182:65-74.
- Conn PJ, Lindsley CW, Jones CK (2009) Activation of metabotropic glutamate receptors as a novel approach for the treatment of schizophrenia. *Trends Pharmacol Sci* 30:25-31.
- Cromwell HC, Levine MS (1996) Neocortical damage alters synaptic responses of neostriatal neurons in vitro. *Neuroscience* 75:361-372.
- Diaz-Cabiale Z, Vivo M, Del Arco A, O'Connor WT, Harte MK, Müller CE, Martinez E, Popoli P, Fuxe K, Ferré S (2002) Metabotropic glutamate mGlu5 receptor-mediated modulation of the ventral striopallidal GABA pathway in rats. Interactions with adenosine A2A and dopamine D2 receptors. *Neurosci Lett* 324:154-158.
- Ferré S, Karcz-Kubicha M, Hope BT, Popoli P, Burgueno J, Gutierrez MA, Casado V, Fuxe K, Goldberg SR, Lluís C, Franco R, Ciruela F (2002) Synergistic interaction between adenosine A2A and glutamate mGlu5 receptors: implications for striatal neuronal function. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:11940-11945.
- Garcia BG, Neely MD, Deutch AY (2010) Cortical regulation of striatal medium spiny neuron dendritic remodeling in parkinsonism: modulation of glutamate release reverses dopamine depletion-induced dendritic spine loss. *Cereb Cortex* 20:2423-2432.
- Gerdeman G, Lovinger DM (2001) CB1 cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum. *J Neurophysiol* 85:468-471.
- Gerfen CR, Surmeier DJ (2011) Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Annu Rev Neurosci* 34:441-466.

- Giros B, Sokoloff P, Martres M-P, Riou J-F, Emorine LJ, Schwartz J-C (1989) Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature* 342:923-926.
- Guo NN, Vincent SR, Fibiger HC (1998) Phenotypic characterization of neuroleptic-sensitive neurons in the forebrain: Contrasting targets of haloperidol and clozapine. *Neuropsychopharmacology* 19:133-145.
- Hattori Y, Watanabe M, Iwabe T, Tanaka E, Nishi M, Aoyama J, Satoda T, Uchida T, Tanne K (2004) Administration of MK-801 decreases c-Fos expression in the trigeminal sensory nuclear complex but increases it in the midbrain during experimental movement of rat molars. *Brain Res* 1021:183-191.
- Higley MJ, Sabatini BL (2010) Competitive regulation of synaptic Ca²⁺ influx by D2 dopamine and A2A adenosine receptors. *Nat Neurosci* 13:958-966.
- Higley MJ, Soler-Llavina GJ, Sabatini BL (2009) Cholinergic modulation of multivesicular release regulates striatal synaptic potency and integration. *Nat Neurosci* 12:1121-1128.
- Kachroo A, Orlando LR, Grandy DK, Chen JF, Young AB, Schwarzschild MA (2005) Interactions between metabotropic glutamate 5 and adenosine A(2A) receptors in normal and parkinsonian mice. *J Neurosci* 25:10414-10419.
- Khan ZU, Mrzljak L, Gutierrez A, de la Calle A, Goldman-Rakic PS (1998a) Prominence of the dopamine D2 short isoform in dopaminergic pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7731-7736.
- Khan ZU, Gutierrez A, Martin R, Penafiel A, Rivera A, De La Calle A (1998b) Differential regional and cellular distribution of dopamine D2-like receptors: An immunocytochemical study of subtype-specific antibodies in rat and human brain. *J Comp Neurol* 402:353-371.
- Kofalvi A, Rodrigues RJ, Ledent C, Mackie K, Vizi ES, Cunha RA, Sperlagh B (2005) Involvement of cannabinoid receptors in the regulation of neurotransmitter release in the rodent striatum: A combined immunochemical and pharmacological analysis. *J Neurosci* 25:2874-2884.

- Krystal JH, Mathew SJ, D'Souza DC, Garakani A, Gunduz-Bruce H, Charney DS (2010) Potential psychiatric applications of metabotropic glutamate receptor agonists and antagonists. *CNS Drugs* 24:669-693.
- Lara DR, Dall'Igna OP, Ghisolfi ES, Brunstein MG (2006) Involvement of adenosine in the neurobiology of schizophrenia and its therapeutic implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 30:617-629.
- Lévesque D, Rouillard C (2007) Nur77 and retinoid X receptors: crucial factors in dopamine-related neuroadaptation. *Trends Neurosci* 30:22-30.
- Lindecke A, Korte M, Zagrebelsky M, Horejschi V, Elvers M, Widera D, Prullage M, Pfeiffer J, Kaltschmidt B, Kaltschmidt C (2006) Long-term depression activates transcription of immediate early transcription factor genes: involvement of serum response factor/Elk-1. *Eur J Neurosci* 24:555-563.
- Lindgren N, Usiello A, Goiny M, Haycock J, Erbs E, Greengard P, Hökfelt T, Borrelli E, Fisone G (2003) Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:4305-4309.
- Maheux J, Ethier I, Rouillard C, Lévesque D (2005) Induction patterns of transcription factors of the Nur family (Nurr1, Nur77 and Nor-1) by typical and atypical antipsychotics in the mouse brain: Implication for their mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther* 313:460-473.
- Maura G, Giardi A, Raiteri M (1988) Release-regulating D2 dopamine receptors are located on striatal glutamatergic nerve terminals. *J Pharmacol Exp Ther* 247:680-684.
- Miyamoto S, Duncan GE, Marx CE, Lieberman JA (2005) Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Mol Psychiatry* 10:79-104.
- Nishi A, Liu F, Matsuyama S, Hamada M, Higashi H, Nairn AC, Greengard P (2003) Metabotropic mGlu5 receptors regulate adenosine A2A receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 100:1322-1327.

- Ossowska K, Konieczny J, Wolfarth S, Wieronska J, Pilc A (2001) Blockade of the metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGluR5) produces antiparkinsonian-like effects in rats. *Neuropharmacology* 41:413-420.
- Schwarcz R, Creese I, Coyle JT, Snyder SH (1978) Dopamine receptors localised on cerebral cortical afferents to rat corpus striatum. *Nature* 271:766-768.
- St-Hilaire M, Landry É, Lévesque D, Rouillard C (2003) Denervation and repeated L-DOPA induce a coordinate expression of the transcription factor NGFI-B in striatal projection pathways in hemi-parkinsonian rats. *Neurobiol Dis* 14:98-109.
- Stahl K, Skare O, Torp R (2009) Organotypic cultures as a model of Parkinson's disease. A twist to an old model. *ScientificWorldJournal* 9:811-821.
- Stoppini L, Buchs PA, Muller D (1991) A simple method for organotypic cultures of nervous tissue. *J Neurosci Methods* 37:173-182.
- Tozzi A, de Iure A, Di Filippo M, Tantucci M, Costa C, Borsini F, Ghiglieri V, Giampa C, Fusco FR, Picconi B, Calabresi P (2011) The Distinct Role of Medium Spiny Neurons and Cholinergic Interneurons in the D2/A2A Receptor Interaction in the Striatum: Implications for Parkinson's Disease. *J Neurosci* 31:1850-1862.
- Usiello A, Baik JH, Rougé-Pont F, Picetti R, Dierich A, LeMeur M, Piazza PV, Borrelli E (2000) Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature* 408:199-203.
- Wang H, Pickel VM (2002) Dopamine D2 receptors are present in prefrontal cortical afferents and their targets in patches of the rat caudate-putamen nucleus. *J Comp Neurol* 442:392-404.
- Werme M, Ringholm A, Olson L, Brené S (2000) Differential patterns of induction of NGFI-B, Nor1 and c-fos mRNAs in striatal subregions by haloperidol and clozapine. *Brain Res* 863:112-119.
- Yamamoto BK, Cooperman MA (1994) Differential effects of chronic antipsychotic drug treatment on extracellular glutamate and dopamine concentrations. *J Neurosci* 14:4159-4166.

- Yan Z, Song W-J, Surmeier J (1997) D2 dopamine receptors reduce N-type Ca²⁺ currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a membrane-delimited, protein-kinase-C-insensitive pathway. *J Neurophysiol* 77:1003-1015.
- Yin HH, Lovinger DM (2006) Frequency-specific and D2 receptor-mediated inhibition of glutamate release by retrograde endocannabinoid signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:8251-8256.

FIGURES AND TABLES

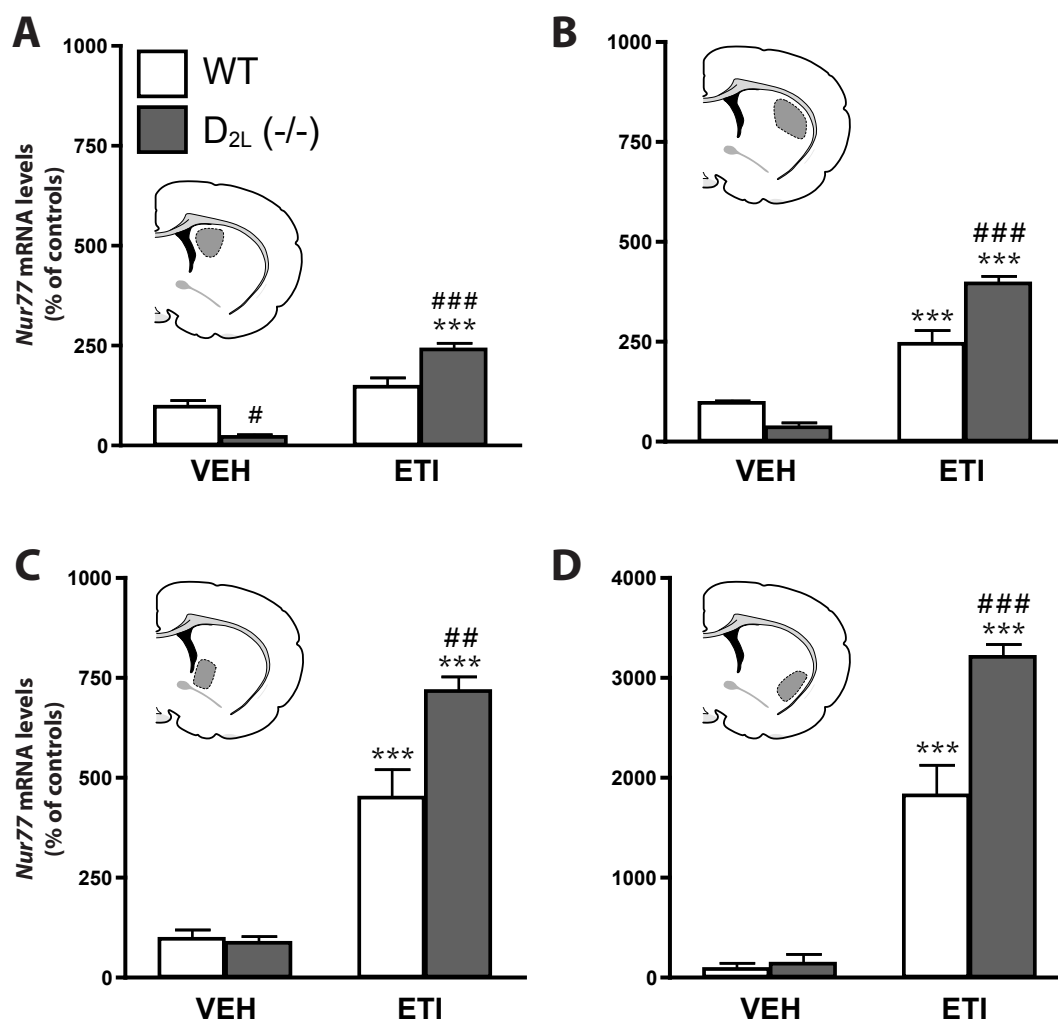


Figure 1. Eticlopride induces *Nur77* mRNA levels in D_{2L} knockout mice.

Nur77 mRNA levels (expressed as % of control) were measured in (A) dorsomedial (StDM), (B) dorsolateral (StDL), (C) ventromedial (StVM), (D) ventrolateral (StVL) portions of the striatum in dopamine D_2 long receptor isoform knockout ($D_{2L}(-/-)$) mice and their wild type littermates ($D_{2L}(+/+)$). Histograms represent mean \pm SEM (***) $p < 0.001$ vs vehicle (VEH) of the same strain, # $p < 0.05$ and ### $p < 0.001$ vs eticlopride (ETI)-treated wild type ($D_{2L}(+/+)$) mice, $N=8$ per group). Insets represent drawings of specific striatal areas (in grey) used for quantification.

Figure 2 (continued)

(A) Schematic representation showing the average extent of ibotenic acid lesions in the primary motor cortex (M1). The darker grey area represents the biggest lesions obtained, whereas lighter grey area shows the smallest ones. The shaded area indicates the region used for quantification of *Nur77* mRNA levels in the striatum. Similar quantifications were performed in the unlesioned side (contralateral). (B) Representative Nissl staining on a coronal slice showing that the lesions remain circumscribed in the cortex. (C) Representative autoradiogram showing *in situ* hybridization of the *Nur77* mRNA after eticlopride (ETI) administration. Dash lines depict the position of the corpus callosum identified on the Nissl staining. (D) Quantification of striatal *Nur77* mRNA levels in the ipsilateral (IPSI) and contralateral (CONTRA) sides of the lesion in animals treated with saline or eticlopride (ETI) and bearing a sham or an ibotenic acid-induced lesion. Data are expressed in $\mu\text{Ci/g}$ of tissue. Histogram bars represent means \pm SEM (N = 5, ** P < 0.01 and *** P < 0.001 vs same side control (Sham-Saline); ### P < 0.001 vs IPSI side of Ibotenic-ETI group and <<< P < 0.001 vs CONTRA side of Ibotenic-ETI group). (E) Effect of ibotenic acid injections in the medial prefrontal cortex (mPFC). Representative autoradiogram and quantification of *Nur77* mRNA levels showing the extent of the lesion in the mPFC is presented in the inset of nucleus accumbens core (Acc) graph. *Nur77* mRNA levels were evaluated in Acc, nucleus accumbens shell (AcSh), and medial (StM) and lateral (StL) parts of the rostral striatum in animals treated with vehicle (VEH) or eticlopride (ETI) bearing a sham or a ibotenic acid-induced unilateral lesion of the left mPFC (same legends as in D). Histograms represent means \pm SEM of *Nur77* mRNA levels expressed in nCi/g of tissue in the ipsilateral (IPSI) side (Sham or lesioned) to the lesion (*** p < 0.001 vs VEH; ## p < 0.01 and ### p < 0.001 vs respective SHAM group).

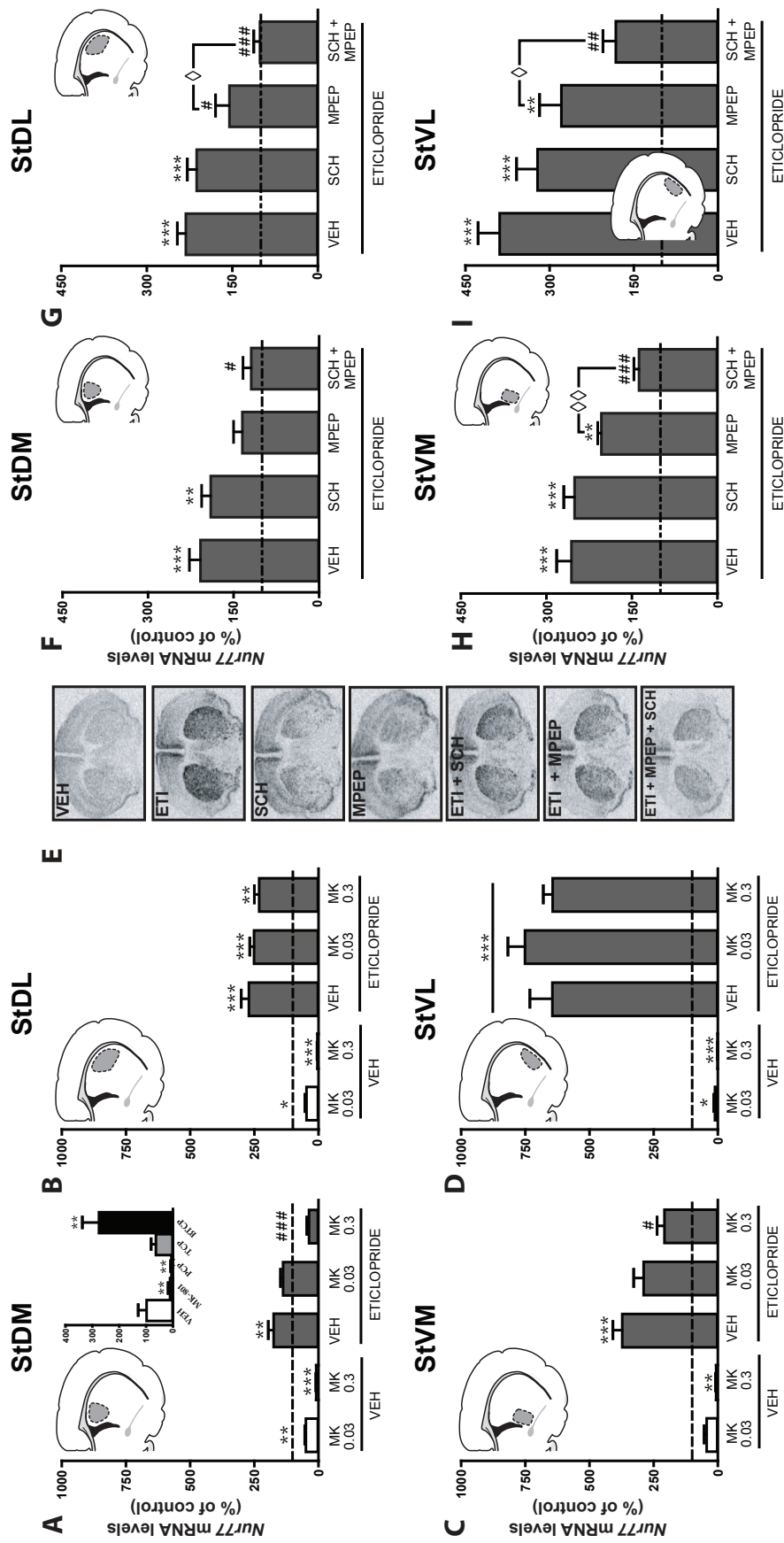


Figure 3. Blockade of mGluR5 and A_{2A} receptors abolishes eticlopride-induced upregulation of *Nur77* mRNA expression.

Modulation of basal and eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels by the NMDA antagonist MK-801 (0.03 or 0.3 mg/kg) was measured in (A) dorsomedial (StDM), (B) dorsolateral (StDL), (C) ventromedial (StVM), (D) ventrolateral (StVL) portions of the striatum. Insets represent drawings of specific striatal areas (in grey) used for quantifications. Basal *Nur77* mRNA levels in respective striatal subterritories of untreated animals were set to 100% and are indicated as dash lines. Histograms represent mean \pm SEM of animals treated with MK-801 (0.3 or 0.03 mg/kg) alone or eticlopride- and MK-801 (MK)-treated animals (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs vehicle (VEH); # $p < 0.05$ and ### $p < 0.001$ vs eticlopride, N=5 per group). (E) Representative autoradiograms showing *Nur77* mRNA levels following drug administrations. Inhibitions of eticlopride-induced *Nur77* expression (expressed as % of control, dash lines) by the vehicle (VEH), SCH58261 (SCH), MPEP or SCH + MPEP were measured in (F) dorsomedial (StDM), (G) dorsolateral (StDL), (H) ventromedial (StVM), (I) ventrolateral (StVL) portions of the striatum. *Nur77* mRNA levels in animal treated with VEH, MPEP or SCH58261 alone can be found in Table 1. Histograms represent mean \pm SEM of eticlopride-treated groups (** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ vs control; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ and ### $p < 0.001$ vs eticlopride alone (VEH), \diamond $p < 0.05$ and $\diamond\diamond$ $p < 0.01$ vs MPEP + eticlopride, N=5 per group).

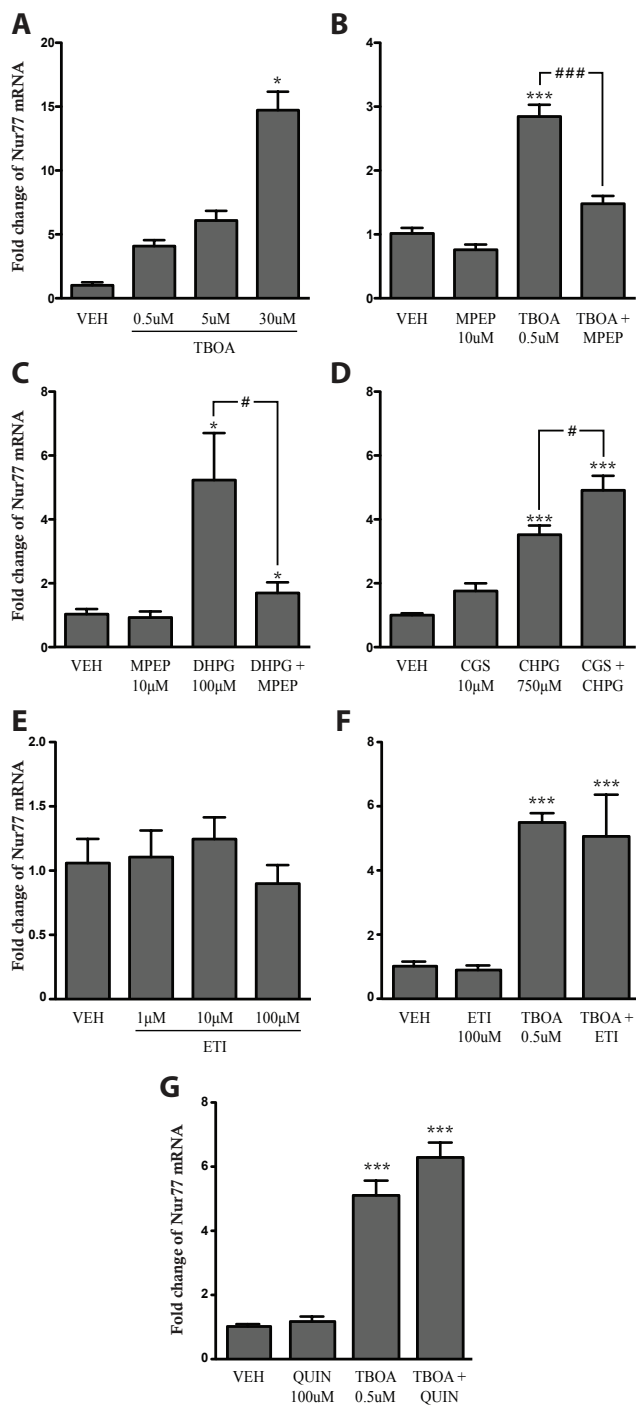


Figure 4. Striatal *Nur77* expression is induced by metabotropic glutamate and adenosine receptors in corticostriatal organotypic slice cultures.

Figure 4 (continued)

Nur77 mRNA levels were measured in striatal tissue punches using quantitative real-time RT-PCR from corticostriatal organotypic cultures treated with (A) vehicle (VEH) or increasing doses of TBOA (0.5, 5 and 30 μ M; N=3), (B) VEH (N=5), TBOA (0.5 μ M; N=6), MPEP (10 μ M; N=6) alone or TBOA + MPEP (N=6), (C) VEH (N=5), MPEP (10 μ M; N=5), DHPG (100 μ M; N=5) or MPEP + DHPG (N=5), (D) VEH (N=5), CGS21680 (CGS, 10 μ M; N=5), CHPG (750 μ M; N=5) and CGS + CHPG (N=5), (E) VEH or increasing doses of eticlopride (ETI) (1, 10, 100 μ M; N=6), (F) VEH (N=9), quinpirole (QUIN, 10 μ M, N=9), eticlopride (ETI, 10 μ M, N=6), TBOA (0.5 μ M, N=9), TBOA + QUIN (N=9) and (G) VEH (N=9), ETI (10 μ M, N=3), TBOA (0.5 μ M, N=3) and TBOA + ETI (N=3). Each experiment was performed in triplicate. Data are represented as fold change of induction compared to controls (VEH) and normalized with GAPDH house keeping transcript levels. (* $p < 0.05$ and *** $p < 0.001$ vs control (VEH); # $p < 0.05$ and ### $p < 0.001$). Similar results were obtained using normalization with the HPRT1 housekeeping gene (data not shown).

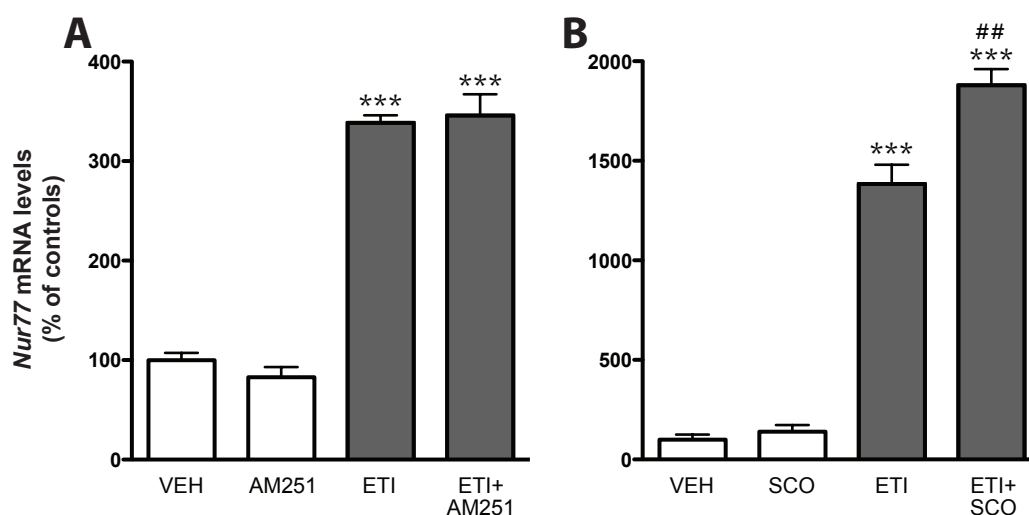


Figure 5. Cannabinoid and muscarinic receptor antagonists did not reduce eticlopride-induced *Nur77* mRNA levels in the striatum.

(A) Groups of mice were treated with, either saline 0.9% (VEH, N=5), eticlopride (ETI, 1 mg/kg, N=5), CB₁ antagonist AM251 (5 mg/kg, N=5), or a combination of ETI and AM251. (B) Groups of mice were treated with, either VEH (N=5), ETI (1 mg/kg, N=5), scopolamine (SCO, 2.5 mg/kg, N=5) or a combination of SCO and ETI. AM251 and SCO were administered 15 min prior ETI. *Nur77* mRNA levels were quantified by *in situ* hybridization (see Methods). Histograms represent means \pm SEM. *Nur77* mRNA levels are expressed in nCi/g of tissue in the ventrolateral portion of the striatum (***) $p < 0.001$ vs VEH and ## $p < 0.01$ vs ETI alone). Similar results were obtained in the other striatal subterritories (data not shown).

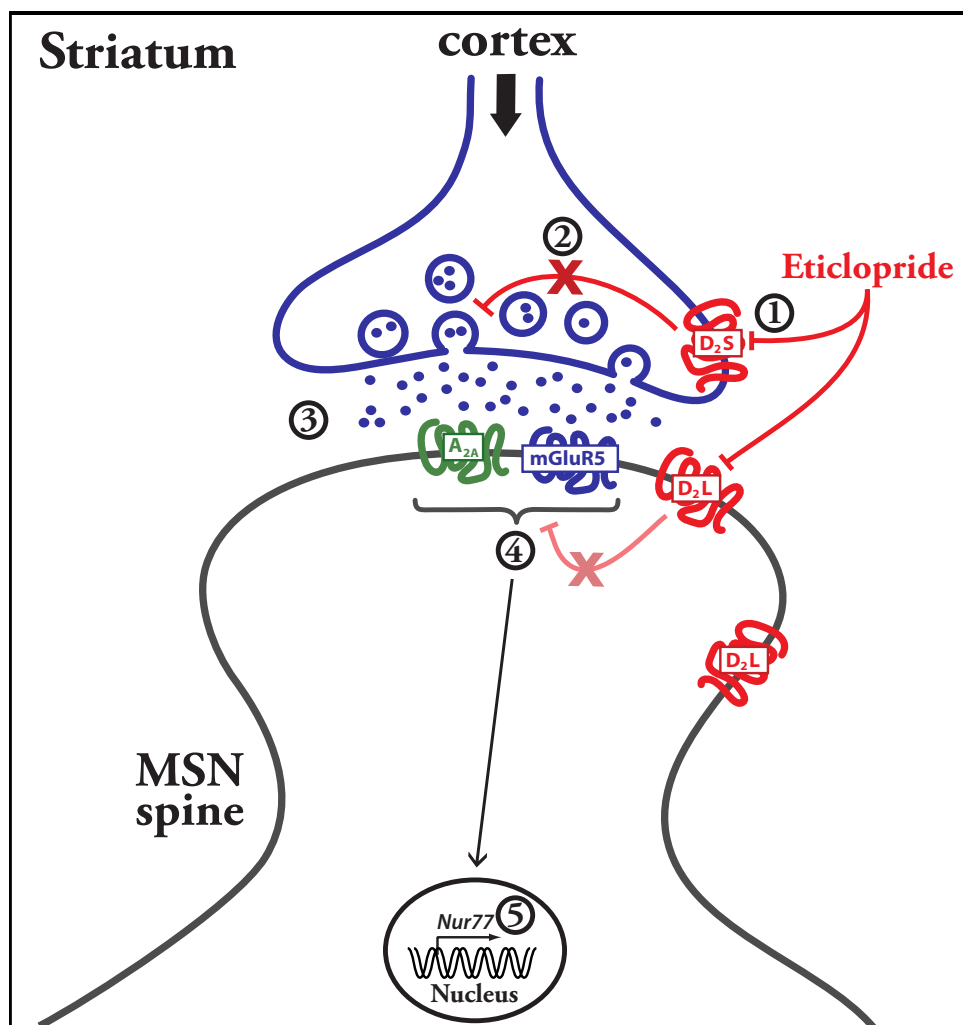


Figure 6. Suggested events leading to the modulation of striatal gene transcription by a dopamine D₂ antagonist.

The figure includes a schematic representation of a striatal medium spiny neuron (MSN) with a glutamatergic terminal coming from the cortex. Data presented herein suggest that the dopamine D₂ antagonist blocks presynaptic D₂ receptors (D_{2S}) located on glutamatergic terminals, which control glutamate release (step 1 and 2). This leads to an elevation of glutamate contents in the synapse (step 3), which in turn activate postsynaptic metabotropic mGluR5 and adenosine A_{2A} receptors (step 4). This effect is potentially combined to the direct effect of the blockade of postsynaptic D₂ receptors (D_{2L}), which can modulate A_{2A}/mGluR5 receptor complex intracellular signaling events. Intracellular signaling events associated with activation of mGluR5 (in addition to adenosine A_{2A} receptors) then lead to the increase of *Nur77* gene transcription in MSNs (step 5).

Table 1

Nur77 mRNA levels following vehicle, MPEP and SCH58261 in striatal subterritories.

Brain areas	<i>Nur77</i> mRNA levels (nCi/mg of protein)		
	VEH	MPEP	SCH58261
StDM	650 ± 100	561 ± 113	542 ± 38
StDL	554 ± 68	583 ± 129	515 ± 95
StVM	278 ± 38	432 ± 88*	213 ± 62
StVL	308 ± 48	368 ± 94	232 ± 116
AcSh	440 ± 46	386 ± 139	322 ± 16
AcC	409 ± 45	578 ± 73	401 ± 56

Abbreviations: AcC, nucleus accumbens core; AcSh, nucleus accumbens shell; StDM, dorsomedial striatum; StDL, dorsolateral striatum; StVM, ventromedial striatum; StVL, ventrolateral striatum; VEH, vehicle (* $p < 0.05$ vs VEH).

Chapitre 7 : Discussion complémentaire et conclusions

Les résultats recueillis lors de mes études doctorales et présentés dans cette thèse ont su clarifier le mécanisme d'action par lequel un antagoniste D₂ arrive à induire l'ARNm de *Nur77*, du moins dans le striatum. Ces résultats démontrent une interaction très complexe de plusieurs systèmes qui interviennent sur les fonctions du striatum. Ces résultats possèdent une haute pertinence clinique, car ils peuvent être transposés aux mécanismes d'action des antipsychotiques utilisés couramment en clinique. Bien que nos études soient faites dans un cadre de traitement aigu, la description des premiers événements cellulaires déclenchés par ce traitement peut être très pertinente pour caractériser le mécanisme d'action précis et améliorer la thérapeutique. Les résultats présentés dans le premier article de cette thèse corroborent adéquatement ceux détaillés auparavant démontrant que la différence dans le patron d'expression de l'ARNm de *Nur77* entre les APD typiques et atypiques (Maheux et al., 2005) dépend bien de la composante 5-HT_{2A/2C} de ces derniers. Nous avons auparavant démontré que la résultante d'induction de *Nur77* corrèle fortement avec le rapport d'affinité des récepteurs D₂/5-HT_{2A} pour les différents APD utilisés dans l'étude (Maheux et al., 2005). Il est donc intéressant de voir qu'en ajoutant une composante 5-HT_{2A} (antagoniste) à un APD typique, il est possible de changer son profil d'expression d'ARNm de *Nur77* en un profil qui ressemble à celui d'un APD atypique. Dès lors, il serait possible d'utiliser l'expression de *Nur77* pour déterminer rapidement l'atypicalité d'une nouvelle molécule dans des études précliniques (Bruins Slot et al., 2009). Par la suite, le second article présenté dans cette thèse démontre que l'induction de la transcription de *Nur77* requiert l'activation des récepteurs mGluR5 et A_{2A}. Nos résultats attestent qu'il existe un rôle indispensable de la part du récepteur hétérosynaptique D₂ localisé sur les afférences corticales dans les mécanismes qui régulent l'expression de *Nur77* dans le striatum à la suite d'un traitement avec un antagoniste D₂. Tel que mentionné précédemment, ces hétérorécepteurs modulent négativement la libération de glutamate et la levée de cette inhibition par un antagoniste D₂ augmente la libération de glutamate et ainsi active les récepteurs mGluR5 pour mener à l'induction de

l'ARNm de *Nur77* dans le striatum. Comme l'adénosine est co-libérée avec le glutamate (Ferre et al., 2007), la coactivation des récepteurs A_{2A} amplifie l'effet.

Le rôle des récepteurs A_{2A} dans l'induction de *Nur77* avait déjà été étudié auparavant en utilisant la caféine comme antagoniste non spécifique des récepteurs de A_{2A} et A_1 (Svenningsson et al., 1995). La caféine réduit les niveaux de base de *Nur77*, mais l'utilisation d'un antagoniste plus spécifique des récepteurs A_{2A} , le SCH 58261 produit un effet de loin plus modeste sur les niveaux de base de *Nur77* (Svenningsson et al., 1997), ce qui correspond aux résultats obtenus. À notre connaissance, le rôle des mGluR5 sur la régulation de l'expression génique de *Nur77* n'a jamais été étudié auparavant. Toutefois, il a déjà été démontré que l'activation de ce récepteur induit l'ARNm de *c-fos* dans les neurones du striatum, en fonction de l'activation de la PLC et de l'augmentation de la concentration de Ca^{2+} (Mao and Wang, 2003)

7.1 Les récepteurs A_{2A} et mGluR5, rôle potentiel dans le mécanisme d'action des APD

À ce jour, plusieurs études précliniques ont décrit une efficacité marquée pour des molécules spécifiques à ces récepteurs dans des modèles animaux de schizophrénie. Des modulateurs allostériques positifs des récepteurs mGluR5 (Lindsley et al., 2004; Kinney et al., 2005; Pietraszek et al., 2007) ainsi que des agonistes spécifiques A_{2A} arrivent à réduire les déficits sensoriels provoqués par l'administration de phencyclidine (PCP) (Sills et al., 2001; Wardas et al., 2003a). Ces récepteurs semblent aussi impliqués dans les effets secondaires cataleptiques des antipsychotiques. Les observations provenant d'études comportementales démontrent que l'inactivation pharmacologique ou génétique des récepteurs mGluR5 ou A_{2A} arrive à réduire les catalepsies induites par l'halopéridol (El Yacoubi et al., 2001; Ossowska et al., 2001). Comme l'induction de *Nur77* est associée à la

production de ces effets secondaires (Ethier et al., 2004b; Maheux et al., 2005; Levesque and Rouillard, 2007), ces dernières observations viennent appuyer les présents résultats. Il est bien connu qu'un traitement avec un APD typique comme l'halopéridol augmente les niveaux d'enképhaline dans le striatum, un phénomène qui pourrait être important pour le développement des changements adaptatifs à long terme induit par la médication (Laprade and Soghomonian, 1995; Steiner and Gerfen, 1998; Andreassen et al., 1999). L'activation du récepteur mGluR5 mène à l'induction de l'ARNm de l'enképhaline (Mao and Wang, 2001; Parelkar and Wang, 2003). Comme *c-fos* ne semble pas réguler l'expression de ces neuropeptides (Konradi et al., 1993), *Nur77* pourrait être un excellent candidat pour remplir ce rôle. Chez les souris déficientes en *Nur77*, l'induction de l'ARNm de l'enképhaline est fortement diminuée par rapport aux souris de types sauvages (Ethier et al., 2004b) suggérant que l'enképhaline pourrait être une cible transcriptionnelle de *Nur77*. De ce fait, il se pourrait que la régulation de ce neuropeptide par les récepteurs mGluR5 dépende de l'induction de la transcription de *Nur77* et d'une régulation subséquente de l'enképhaline lors de la deuxième vague de transcription. Comme la transcription de l'enképhaline est induite plus de trois heures après l'activation du mGluR5 (Mao and Wang, 2001) ce laps de temps pourrait bien correspondre avec l'induction rapide de la transcription de *Nur77*. De même, l'inhibition pharmacologique ou génétique des récepteurs A_{2A} réduit significativement l'augmentation des niveaux d'ARNm de l'enképhaline ainsi que des catalepsies induites par l'halopéridol (Chen et al., 2001; Wardas et al., 2003b). Des études préliminaires actuellement effectuées dans le laboratoire semblent démontrer, par des essais d'EMSA et d'immunoprécipitation de la chromatine, que la protéine *Nur77* s'attache au promoteur de l'enképhaline (Voyer et Lévesque, résultats non publiés). Nos résultats fournissent donc un mécanisme possible qui intègre et décrit l'interaction complexe entre ces trois systèmes de neurotransmission. Il permettrait d'expliquer comment les agonistes mGluR5 et A_{2A} peuvent exercer des effets similaires à ceux des APD et, à l'inverse, pourquoi les antagonistes de ces récepteurs réduisent leurs effets néfastes. Ainsi, il est aussi possible d'expliquer de cette façon pourquoi les effets des antagonistes D_2 sont dramatiquement réduits en absence de signalisation dépendante des récepteurs A_{2A} (Chen et

al., 2001). Si notre modèle s'avère véritable, l'augmentation de la concentration en glutamate et adénosine et l'activation subséquente de leurs récepteurs respectifs sont la conséquence directe du blocage des récepteurs D₂. Cette nouvelle décortication du mécanisme d'action d'un antagoniste D₂ sur la transcription génique du striatum permettrait d'entrevoir d'autres cibles pharmacologiques indépendantes des récepteurs D₂ pour traiter les symptômes de la schizophrénie. Subséquemment, on pourrait aussi envisager à compléter une thérapie commune avec une molécule qui amenuiserait les effets secondaires néfastes.

7.2 D₂ hétérosynaptique ou postsynaptique?

Nos résultats laissent croire que les récepteurs D₂ hétérosynaptiques localisés sur les afférences corticales sont nécessaires aux effets produits par les antagonistes de ces récepteurs, du moins sur la transcription rapide induite dans le striatum. Cette interprétation est en premier lieu basée sur les observations obtenues des souris D_{2L} KO. En effet, alors qu'on aurait pu s'attendre à perdre les conséquences du traitement à l'étiopride sur ces souris, nos résultats démontrent réellement que cette drogue reste toujours efficace et même davantage dans ce contexte. Le phénomène d'amplification semble être dû à la surexpression caractéristique du récepteurs D_{2S} dans ce modèle de souris génétiquement modifiée (Uziel et al., 2000). Dans l'étude de Centonze et collègues, le quinpirole affecte les potentiels post-synaptiques excitateurs (PPSE) uniquement dans les souris D_{2L} (-/-) révélant ainsi un rôle inhibiteur du récepteur D_{2S} sur la libération de glutamate possiblement dû à la surexpression de ce récepteur (Centonze et al., 2004b). L'effet exacerbé de l'étiopride sur l'expression de l'ARNm de *Nur77* dans ces souris pourrait provenir de cette suractivité, probablement adaptative, du D_{2S} sur la libération de glutamate.

En contradiction, l'ablation sélective des récepteurs D_{2L} mime en quelque sorte les effets d'un traitement chronique à l'halopéridol sur la plasticité synaptique du striatum (Centonze et al., 2004a). En effet, un tel régime pharmaceutique mène à un déséquilibre dans les mécanismes de plasticité qui renverse la LTD en faveur de la LTP. Selon Centonze et collègues, il semblerait que cet effet de l'halopéridol passe par le biais des récepteurs D_{2L} contrairement à l'hypothèse suggérée par nos résultats (Centonze et al., 2004a). Toutefois, même si les souris $D_{2L} (-/-)$ miment les effets de l'halopéridol, il est impossible d'exclure complètement un rôle du D_{2S} . L'halopéridol induit des changements physiologiques comme l'augmentation de la taille des boutons terminaux (Benes et al., 1985), le nombre de synapses glutamatergiques (Uranova et al., 1991; See et al., 1992) ainsi que le nombre absolu de vésicules par synapse (Benes et al., 1985). Tous ces changements indiquent une hyperactivité dans la transmission glutamatergique en accord avec le modèle proposé. Il est possible aussi que les premiers mécanismes d'adaptations morphologiques (eg induction de gènes précoces) induits par l'halopéridol soient déclenchés en fonction des récepteurs D_{2S} et que les effets à plus long terme soient soutenus par l'inactivation des récepteurs D_{2L} .

Dans le même sens, nos propres résultats ne permettent pas non plus d'écarter incontestablement les D_{2L} du mécanisme d'action qui régule l'induction de *Nur77*. Premièrement, un ensemble de preuves démontre que les effets pré-synaptiques de régulation de la libération du glutamate contrôlée par les D_2 passent ultimement par l'intermédiaire d'endocannabinoïdes libérés en rétroaction sur les afférences corticales (Giuffrida et al., 1999; Yin and Lovinger, 2006; Andre et al., 2010). Les expériences effectuées pour étudier l'impact du récepteur CB_1 dans la régulation de l'ARNm de *Nur77* à la suite d'un traitement avec un antagoniste D_2 ne permettent pas de tirer une conclusion définitive. En effet, comme la stimulation des récepteurs CB_1 décroît la libération de glutamate (Huang et al., 2001; Kofalvi et al., 2005), nous aurions dû utiliser un agoniste plutôt qu'un antagoniste comme le AM251. Étrangement, cet antagoniste réduit les niveaux de base d'ARNm de *Nur77*, ce qui semble en contradiction avec le reste de nos résultats.

Toutefois, les mécanismes de régulation des niveaux de base d'ARNm de *Nur77* semblent différents des mécanismes d'induction. Comme discuté auparavant, ceux-ci sont plutôt modulés par les récepteurs NMDA puisque nos résultats démontrent que l'inactivation non-spécifique de ces récepteurs avec le MK-801 diminue significativement les niveaux de base d'ARNm de *Nur77*, sans toutefois affecter l'induction de son expression induite par l'étilopride. Un détail qui pourrait expliquer l'effet du AM251 sur le niveau de base d'ARNm de *Nur77* est que cette drogue s'avère aussi comme étant un agoniste des récepteurs GPR55 (Pertwee, 2007; Kapur et al., 2009). GPR55 est un récepteur orphelin récemment « adopté » exprimé dans le striatum qui pourrait intervenir dans les effets observés avec le AM251 (Pertwee, 2007).

L'interaction entre les récepteurs A_{2A} et D_2 en post-synaptique est fortement documentée dans la littérature. La nature de cette interaction reste toutefois incertaine dans les neurones striatopallidaux qui expriment fortement ces deux récepteurs (Hettinger et al., 2001; Schiffmann et al., 2007; Quiroz et al., 2009). Certaines études démontrent que les récepteurs A_{2A} et D_2 peuvent former des hétéromères sur la membrane et ainsi se réguler de façon allostérique en agissant sur la conformation quaternaire de leur partenaire (Ferre et al., 1991; Ferre et al., 2007). Bien que ce complexe A_{2A}/D_2 soit bien documenté dans des modèles cellulaires (Cabello et al., 2009), les preuves d'un tel assemblage *in vivo* sont plus restreintes (Azdad et al., 2009). Des informations additionnelles démontrent aussi des interactions membranaires et intracellulaires entre les récepteurs mGluR5, A_{2A} et D_2 sur les neurones striatopallidaux (Ferre et al., 1999; Popoli et al., 2001; Diaz-Cabiale et al., 2002). Il est intéressant de noter quelques détails contradictoires des résultats de Diaz-Cabiale et collègues. Dans cette étude, l'activation unique des récepteurs mGluR5 arrive à augmenter l'excitabilité et la libération de GABA dans les zones cibles des D_2 -MSN et cette activité peut être amplifiée par l'administration concomitante d'agoniste A_{2A} , confirmant ainsi nos résultats que l'activation concomitante mGluR5/ A_{2A} contribue à l'induction de *Nur77* (Diaz-Cabiale et al., 2002). Toutefois, cette augmentation de l'activité des D_2 -MSN peut

être complètement annulée par l'activation des récepteurs D₂. Selon leurs procédures expérimentales, l'activation de la voie corticostriée n'est pas sollicitée et cette inhibition dépendante du D₂ est complètement attribuable aux récepteurs post-synaptiques. Il est donc possible que l'inhibition du récepteur D₂ révèle ou facilite une signalisation dépendante de l'activation mGluR5/A_{2A}. Il a été mentionné auparavant que ce serait plutôt la signalisation dépendante des récepteurs A_{2A} qui, en contrôlant la concentration intracellulaire d'AMPC, permettrait les effets reliés au blocage des récepteurs D₂ et à l'inhibition de cette voie (Chen et al., 2001; Valjent et al., 2011). Toutefois dans notre situation, l'administration de l'antagoniste A_{2A} en concomitance avec l'antagoniste D₂ n'a pas d'effet sur l'expression de *Nur77*. Ainsi, il semblerait que la composante dominante est plutôt l'activation des récepteurs mGluR5 suggérant un mécanisme pré-synaptique agissant par le biais de la neurotransmission glutamatergique. À l'égard de toute cette littérature, il est impossible d'écarter définitivement un rôle du récepteur D₂ post-synaptique dans les effets observés lors de nos études pharmacologiques. Toutefois, les données observées avec les animaux portant une lésion corticales ainsi que sur les souris D_{2L} (-/-) nous indiquent que le récepteur D₂ hétérosynaptique demeure essentiel pour déclencher la cascade signalétique dépendante du glutamate. Des études supplémentaires utilisant des souris génétiquement modifiées spécialement conçues pour ne pas exprimer le récepteur D₂ dans la voie corticostriée pourraient nous permettre d'étudier plus précisément cette hypothèse. Il faudrait alors créer, par exemple, des souris du type vGLUT1-Cre / *Drd2*^{loxP/loxP} pour y arriver. Ces souris exprimeraient une recombinaise (Cre) contrôlée par le promoteur du transporteur vésiculaire du glutamate 1 (vGLUT1) qui est spécifiquement exprimé dans la voie corticostriée. Le gène du récepteur D₂, *Drd2*, serait flanqué de séquences loxP (Bello et al., 2011) pour permettre son excision spécifique à l'intérieur des neurones exprimant la recombinaise. De cette manière nous pourrions tester l'impact spécifique de ces récepteurs dans l'induction de *Nur77* suite au traitement avec un antagoniste D₂.

Une question intéressante émane de l'hypothèse proposée ici à savoir: comment l'augmentation de la transcription de *Nur77* peut être spécifique aux D₂-MSN si l'action passe par le contrôle de la libération de glutamate, une modalité généralisée qui affecte aussi les D₁-MSN (Surmeier et al., 2011)? Pour l'instant, on ne peut que spéculer pour répondre à cette question. Toutefois, dans tous les acteurs mentionnés dans le mécanisme proposé dans cette thèse, les récepteurs A_{2A}, par leur expression spécifique aux D₂-MSN, pourraient être l'exigence qui permettrait la spécificité de l'expression génique. D'autre part, même si nous n'avons pas démontré un rôle précis des endocannabinoïdes dans notre modèle, il est possible que la libération rétrograde et localisée de ce neuromodulateur puisse conférer une spécificité spatiale à l'effet observé en exerçant un effet seulement sur les synapses corticostriées formées sur les D₂-MSN.

7.3 Comment l'expression de *Nur77* est-elle induite dans les D₂-MSN?

Peu de données sont disponibles concernant les voies de signalisation cellulaire responsables de l'induction de la transcription de *Nur77* dans le cerveau. Dans notre laboratoire, il a été identifié que l'inhibition de la voie des MEK avec le SL327 potentialise l'effet de l'étilcopride (Bourhis et al., 2008). Ces résultats suggèrent que la voie des MEK offre une répression constitutive de l'expression de *Nur77* ou alors que cette voie doit être inactivée afin de permettre à une autre voie d'induire sa transcription. Ce phénomène a déjà été observé pour l'induction de *Nurr1* dans certaines lignées cellulaires (Lee and Nikodem, 2004). Ces hypothèses s'inscrivent bien dans le contexte d'un récepteur orphelin tel que *Nur77*. Comme il ne semble pas pouvoir être activé par un ligand endogène, son expression basale pourrait donc être régulée par une constante répression. Cabin1 et MEF-2 pourraient être des joueurs essentiels dans la répression de l'expression de *Nur77* dans le striatum, comme ils le sont en périphérie, dans la sélection de cellules T (Youn and Liu, 2000). MEF-2 est un facteur de transcription régulant l'expression de *Nur77* lors de la sélection

par apoptose des thymocytes (Youn et al., 1999). Cabin1, un inhibiteur de la calcineurine, réprime l'activité de MEF-2 prévenant ainsi la transcription de *Nur77* (Youn and Liu, 2000). Son expression dans le cerveau adulte n'est pas encore caractérisée, mais il semble important pour le développement approprié du SNC chez les poissons-zèbres (Hammond and Udvadia, 2010). Les drogues dopaminergiques pourraient venir lever cette répression et favoriser l'expression de *Nur77*. D'autre part, la dé-répression de Cabin1 sur MEF-2 nécessite aussi une augmentation de concentration de Ca^{2+} intracellulaire (Youn and Liu, 2000). À l'instar de cette dernière observation, l'induction de *Nur77* est aussi dépendante de l'activation de la PKC (Bourhis et al., 2008), une voie signalétique qui mène ultimement à l'élévation de Ca^{2+} intracellulaire et qui peut être activée, entre autres, par les récepteurs mGluR5 et la protéine $G\alpha_q$ qui lui est normalement associée. Ces récepteurs modulent aussi la phosphorylation des facteurs de transcription Elk-1 et CREB pour éventuellement mener à l'induction de *c-fos* (Mao and Wang, 2003; Liu et al., 2006). Comme le promoteur de *Nur77* contient également des éléments de réponse pour divers facteurs de transcription tels que CREB, AP-1 et Elk-1 (Yoon and Lau, 1993), l'induction de *Nur77* par les récepteurs mGluR5 pourrait aussi faire intervenir ces acteurs cellulaires. Par le fait même, l'halopéridol induit aussi la phosphorylation de CREB et Elk-1 (Pozzi et al., 2003). Toutefois, cette phosphorylation de Elk-1 est dépendante de l'activation de la voie des MEK, suggérant une régulation de la transcription en faveur de CREB plutôt que Elk-1 dans le cas de *Nur77*. Il est intéressant de noter que Lam et collègues ont démontré que l'induction de *Nur77* via CREB dans les cellules PC12 non différenciées peut être réprimée par MEF-2 (Lam et al., 2009). Cabin1 régule aussi la signalisation et l'internalisation des récepteurs mGluR5 dans les cellules HEK (Ferreira et al., 2009), renforçant ainsi le rôle possible de cette protéine dans les effets observés. De plus, *Nur77* semble impliqué dans l'élimination sélective des épines dendritiques qui se produit à la suite d'une dépolarisation soutenue dans les D₂-MSN (Tian et al., 2010). Dans ce phénomène, l'activation des canaux calciques dépendant du voltage de type L, précisément les canaux Cav1.3, mène à une augmentation de l'expression de *Nur77* (protéine) via un processus dépendant de l'activation de MEF-2A/2D (Tian et al., 2010).

L'halopéridol peut aussi promouvoir la signalisation dépendante de l'AMPC et désinhiber l'action qu'exerce le D₂ sur cette voie (Stoof and Keabian, 1981). Par cet effet, il est postulé que l'halopéridol peut induire la transcription génique dépendante de CREB et de la phosphorylation de l'histone H3 en permettant l'activation d'une voie signalétique constituée de la PKA et de DARPP-32 (Pozzi et al., 2003; Bertran-Gonzalez et al., 2008; Bertran-Gonzalez et al., 2009). Cette capacité des antagonistes D₂ à induire cette cascade serait accessoire au rôle primordial des récepteurs A_{2A} à entretenir les niveaux de base d'AMPC dans la cellule (Valjent et al., 2011). En effet, l'induction de la phosphorylation de l'histone H3 par l'halopéridol requiert l'activation des récepteurs A_{2A} (Bertran-Gonzalez et al., 2009). Dans les cellules PC12, l'activation de la voie AMPc/PKA/CREB induit l'expression de *Nur77* après acétylation de l'histone H3 pour faciliter la croissance des neurites dans ces cellules (Maruoka et al., 2010).

Conséquemment, il semblerait que les mécanismes régulant l'expression de *Nur77* soient hautement dépendants de la concentration de Ca²⁺ cellulaire. L'activation de MEF-2 semble importante et fournit une des seules preuves de facteur de transcription pouvant réguler *Nur77* dans les D₂-MSN (Tian et al., 2010). La convergence de plusieurs données de la littérature vers Cabin1 comme répresseur de l'expression de *Nur77* et son implication dans la signalisation mGluR5 rend ce joueur très attrayant pour de futures études. Pour l'instant, les voies de signalisation régulant la transcription de *Nur77* restent nébuleuses. Il semble y avoir une voie responsable de sa répression dans laquelle les MEK sont impliqués et qui doit être inhibée pour l'induction de *Nur77*. Parallèlement, il pourrait y avoir une autre voie responsable de son induction et qui pourrait impliquer plusieurs acteurs comme la PKC ou l'AMPC/PKA. Certaines phosphatases pourraient aussi être impliquées dans la désinhibition de la première voie. En effet, il existe quelques candidats exprimés dans le striatum, comme STEP (*Striatum enriched protein tyrosine phosphatase*), PTEN (*Phosphatase and Tensin homolog*) PP2A, PP1 et DARPP-32 et qui sont importantes dans

la régulation des différentes voies caractéristiques de ces neurones. DARPP-32 est une phosphatase importante dans l'intégration de la signalisation dopaminergique et glutamatergique dans le striatum (Greengard, 2001). L'ablation de cette phosphatase dans l'une ou l'autre des voies du striatum mène à des troubles moteurs qui ressemblent à ceux observés lors de l'inactivation même de ces voies (Durieux et al., 2009; Bateup et al., 2010). Cette observation suggère que DARPP-32 est indispensable dans la régulation de l'excitabilité des neurones striataux ainsi que dans les comportements moteurs associés. Ainsi, cette phosphatase pourrait jouer un rôle dans les phénomènes d'adaptation systémique déclenchés par un débalancement de neurotransmission (Greengard, 2001). Les récepteurs mGluR5 et A_{2A} modulent en synergie la phosphorylation de DARPP-32 en fonction de l'activation de la voie AMPc/PKA (Nishi et al., 2003). De plus, les deux classes d'APD augmentent la phosphorylation de DARPP-32 (Pozzi et al., 2003). Toutefois, des études plus détaillées sur ce phénomène ont démontré que malgré la capacité des deux classes d'APD à induire la phosphorylation de DARPP-32 sur la thréonine 34, les APD atypiques augmentent aussi la phosphorylation en thréonine 75 (Bateup et al., 2008), qui représente un site spécifique de la *cyclin-dependent protein kinase 5* (CDK5) (Bibb et al., 1999). Cette divergence dans la modulation de la phosphorylation de DARPP-32 pourrait être responsable du patron d'induction génique spécifique à ces drogues. Ces observations laissent aussi entrevoir un rôle possible de la régulation de l'expression de *Nur77* par DARPP-32. Des études plus détaillées devront être effectuées afin de décrire la signalisation qui mène à la transcription de *Nur77*. Le modèle de culture de tranches organotypiques que j'ai développé au cours de mes études doctorales s'avère être un modèle idéal pour ce genre d'études. Nos résultats mettent aussi en perspective l'origine de la signalisation D₂ dans le striatum. Comme nous le démontrons, les récepteurs hétérosynaptiques sont essentiels et pourraient contribuer en grande partie à la signalisation prétendument dépendante du récepteur D₂ post-synaptiques. De ce fait, il est possible que cette signalisation résultante combine les effets des D₂ post-synaptiques avec ceux de la signalisation glutamatergique.

7.4 Réconcilier l'effet des récepteurs sérotonergiques avec ceux du glutamate et de l'adénosine.

Selon le mécanisme que nous proposons, l'effet des récepteurs sérotonergiques, plus précisément les 5-HT_{2A} doivent avoir un impact soit sur la libération du glutamate dans le striatum ou alors sur la signalisation dépendante des mGluR5/A_{2A} afin de réconcilier toutes nos observations. À priori, les APD atypiques à travers l'interaction avec les récepteurs 5-HT_{2A} exercent leurs effets différentiels vis à vis les typiques dans le cortex préfrontal plutôt que dans le striatum directement. Comme discuté dans l'article, l'effet sur l'expression de *Nur77* pourrait provenir de la régulation de la libération de dopamine par la sérotonine. Pareillement, quelques études récentes ont démontré l'implication directe de la sérotonine et des récepteurs sérotonergiques sur la neurotransmission glutamatergique. En premier lieu, la sérotonine peut promouvoir la LTD dans le striatum, et ce, par un mécanisme dépendant de l'activation pré-synaptique du récepteur 5-HT_{1B} (Mathur et al., 2011). De plus, l'étude d'un nouveau ligand antagoniste spécifique des récepteurs 5-HT_{2A} a révélé qu'il pouvait réduire les symptômes parkinsoniens principalement en réduisant la libération de glutamate dans le striatum (Ansah et al., 2011). Il n'est pas possible pour l'instant de déterminer définitivement la nature du lien entre le système sérotonergique et l'expression dépendante du glutamate de *Nur77*. S'agit-il d'un effet direct accompli par l'entremise des récepteurs 5-HT_{2A} sur les D₂-MSN ou alors d'un effet indirect fourni par un contrôle glutamatergique exercé par les récepteurs sérotonergiques à l'extérieur du striatum? Il semblerait, pour l'instant, que les effets observés, surtout ceux par rapport aux récepteurs au 5-HT_{2A}, sont aussi dépendants d'une diminution de libération de glutamate et donc une réduction de l'induction de la transcription de *Nur77*.

7.5 Quel est le rôle de l'induction de l'ARNm de *Nur77*?

Les raisons de l'induction de l'ARNm de *Nur77* à la suite d'un déséquilibre dopaminergique sont encore inconnues. Certaines pièces du casse-tête se trouvent dans les gènes subséquentement induits par *Nur77*. En effet, celui-ci semble être important dans les processus d'adaptation déclenchés après le déséquilibre dopaminergique. D'une part, les souris déficientes en *Nur77* sont résistantes aux catalepsies normalement induites par un traitement aigu à l'halopéridol (Ethier et al., 2004b). En contradiction, ces souris démontrent une sensibilité accrue au développement des dyskinésies lorsque le traitement devient chronique (Ethier et al., 2004a). Il y aurait donc un changement adaptatif (ou un échec dans le développement du système) chez les souris déficientes en *Nur77* qui conférerait une protection contre le développement des effets secondaires aigus. Parallèlement, les événements adaptatifs se produisant lors d'un traitement chronique semblent être altérés en absence de *Nur77*. Dans ce contexte, il s'avérerait que *Nur77* est induit pour tenter de rétablir l'équilibre du système et permettre de diminuer pour un certain temps l'apparition de mouvements anormaux. Ceci pourrait se faire par l'entremise de l'enképhaline (Ethier et al., 2004a). En effet, ce neuropeptide est étroitement associé au système dopaminergique et à sa régulation (Steiner and Gerfen, 1998). Son activité sur les récepteurs opioïdes du striatum semble offrir une rétroaction négative pour réguler l'excitabilité de la voie indirecte (Steiner and Gerfen, 1998).

D'un point de vue anatomique, *Nur77* pourrait jouer un rôle dans la formation et les réarrangements architecturaux des composantes neuronales comme les dendrites. L'épuisement caractéristique des stocks de dopamine observé dans la maladie de Parkinson déclenche un réarrangement architectural des neurones du striatum (Surmeier et al., 2007). En effet, cette diminution des niveaux de dopamine provoque une réduction du nombre d'épines dendritiques spécifiquement sur les D₂-MSN et semble liée à une augmentation de l'activité de ces neurones (Day et al., 2006; Shen et al., 2008). Un traitement chronique à

l'halopéridol induit aussi une réduction dans la quantité d'épines dendritiques au niveau du striatum (Kelley et al., 1997) et favorise la formation de la LTP possiblement sur les D₂-MSN uniquement (Centonze et al., 2004a). On peut conclure que l'augmentation de l'activité des D₂-MSN en absence de la signalisation dépendante des récepteurs D₂ mène à l'élimination des synapses glutamatergiques (épines dendritiques) afin d'éliminer un signal aberrant qui mène à des dysfonctions motrices. Tian et collègues ont démontré que *Nur77* pourrait participer à cette élimination synaptique du moins dans un contexte d'hyperexcitabilité soutenue (Tian et al., 2010). Comme *Nur77* est induit spécifiquement dans les D₂-MSN lors d'un traitement chronique à l'halopéridol (Langlois et al., 2001) ainsi que dans un modèle de maladie de Parkinson (St-Hilaire et al., 2003), il est intéressant de croire qu'il pourrait jouer un rôle dans ces phénomènes de réarrangements synaptiques.

7.8 Perspectives

Beaucoup de travail reste à faire afin d'éliminer les limitations et les lacunes des expériences présentées dans cette thèse. Comme discuté préalablement, bien que les preuves amenées par les présents résultats laissent croire que les récepteurs D₂ localisés sur les afférences corticales sont essentiels dans les phénomènes observés ici, la technologie des méthodes utilisées ne permet pas d'éliminer hors de tout doute un rôle du récepteur post-synaptique. Toutefois, les technologies émergentes des dernières années pourraient nous permettre de répondre plus directement à ces questions. En effet, il est maintenant possible d'élaborer des souris génétiquement modifiées qui n'exprimeraient pas le récepteur D₂ dans la voie corticostriée de manière spécifique. Il suffirait de croiser une souris BAC exprimant la recombinaise CRE sous le contrôle d'un promoteur génique spécifique à la voie corticostriée tel que *vGlut1*, *Emx1* (Higley and Sabatini, 2010) ou *Rbp4* (Kozorovitskiy et al., 2012) avec une souris dans laquelle le gène du récepteur D₂ (*Drd2*) serait flanqué de séquence LoxP (Bello et al., 2011). Un traitement avec l'étiloprède et

l'évaluation de l'ARNm de *Nur77* pourrait nous donner une réponse définitive sur le rôle des hétérorécepteurs D₂. Il serait en outre très intéressant de tester les comportements aberrants (catalepsies et dyskinésies tardives) liés à l'administration d'antipsychotiques typiques dans ces souris. Pour continuer avec les modèles génétiques dans une optique prospective de ce projet de recherche, nous pourrions confirmer l'implication des récepteurs mGluR5 dans les effets observés en utilisant des souris déficientes pour ce récepteur. Ces travaux sont en cours dans le laboratoire. D'une manière plus spécifique il serait aussi intéressant d'élaborer une souche de souris « knock-out » conditionnelle où les récepteurs mGluR5 seraient absents uniquement dans les D₂-MSN, là où l'induction de *Nur77* se produit à la suite d'un traitement avec un antagoniste D₂.

Les expériences de lésions corticales pourraient aussi être certifiées en utilisant d'autres designs expérimentaux. En effet, ces lésions démontrent que l'ablation de la voie corticostriée empêche l'induction de l'expression de *Nur77* dans le striatum. Il serait maintenant intéressant de démontrer que la stimulation de la voie corticostriée en soi peut mener à l'induction de *Nur77* dans le striatum. De telles expériences de stimulation électriques sont en cours dans le laboratoire et les résultats préliminaires semblent prometteurs et abondent dans le bon sens. L'avènement de l'optogénétique a changé la face de la recherche en neuroscience depuis les dernières années. Ce nouvel outil pourrait être utile pour répondre à la question de la stimulation corticale. Cette technique tire toujours parti du génie génétique des souris BAC, combiné à l'utilisation de canaux ionique sensible à la lumière. Cette technologie permet d'exprimer de manière spécifique des canaux ioniques qui arrivent à provoquer la dépolarisation (eg. Channelrhodopsine, ChR2) ou l'hyperpolarisation (eg. Halorhodopsine, NpHR) du neurone en question lorsqu'il est soumis à un faisceau lumineux d'une longueur d'onde précise (Liu and Tonegawa, 2010; Pastrana, 2011). Le plus souvent, le canal ionique est inséré à l'aide d'un vecteur viral, tel un adénovirus, qui contient la séquence inversée du canal flanqué par deux sites LoxP. Lorsque le virus infecte les neurones qui expriment la recombinase CRE, une

recombinaison remettant la séquence du canal dans le bon sens de lecture se produit. Ainsi, le canal ionique est exprimé de manière spécifique dans les neurones qui exprime la recombinase. Ces neurones peuvent être ensuite stimulé ou inhibé, selon le canal inséré, à l'aide d'un laser (dans une préparation de tranche) ou d'une fibre optique (*in vivo*). Nous pourrions utiliser cette technologie pour stimuler les neurones pyramidaux de la voie corticostriée et ensuite étudier la réponse transcriptionnelle dans le striatum. Cette technologie pourrait aussi permettre de différencier les rôles de la voie corticostriée et thalamostriée sur l'induction de la transcription dépendante du glutamate dans le striatum.

Une fois les mécanismes d'induction de *Nur77* bien établis, il serait primordial de déterminer l'impact de cette induction sur les processus cellulaires. Tel que mentionné, le rôle réel de cette induction reste encore bien nébuleux. Afin de résoudre ce problème, je proposerais d'étudier l'impact d'une augmentation artificielle de *Nur77* spécifiquement dans les D₂-MSN. Encore une fois les techniques de génie génétique préalablement mentionnées pourraient être d'une grande utilité. En utilisant les souris D₂-Cre qui expriment la recombinase dans les D₂-MSN uniquement, nous pourrions évaluer l'impact d'une surexpression protéique de *Nur77* guidée par un vecteur viral dans le striatum, un peu à l'instar des méthodes utilisées pour surexprimer le ChR2 (Higley and Sabatini, 2010). Il serait intéressant de voir si une augmentation de la protéine *Nur77* intervient dans les changements morphologiques des MSN. À l'aide d'outil puissant comme la microscopie à deux photons (*two-photon laser scanning microscopy* : 2-PLSM) il est maintenant possible de voir avec une très grande précision la structure dendritique des neurones (Day et al., 2008). Nous pourrions ainsi voir si *Nur77* joue un rôle délétère ou favorable dans la formation des épines dendritiques des MSN. Ce ne sont que quelques suggestions de projets susceptibles de répondre à des questions importantes pour faire suite aux résultats obtenus dans cette thèse. Ces nouvelles technologies ouvrent la porte vers une multitude de possibilité qui était encore impossible d'entrevoir il y a quelques années.

7.9 Conclusion

Ceci met donc fin à ma contribution personnelle de recherche sur la caractérisation des composantes cellulaires qui modulent l'expression de *Nur77* à la suite d'un traitement antipsychotique. Certaines questions ont été répondues, alors que d'autres aussi pertinentes sont apparues. Les résultats présentés dans cette thèse viennent s'inscrire à la littérature qui tente d'élucider les mécanismes d'action des APD. Ils viennent mettre en lumière de nouveaux acteurs dans ce mécanisme, les récepteurs mGluR5 et A_{2A} et permettront peut-être de raffiner les connaissances du domaine et apporter de nouvelles pistes pour améliorer la thérapeutique couramment utilisée. Ces résultats viennent aussi souligner l'importance et la complexité de l'interaction entre les multiples systèmes de neurotransmission dans les fonctions striatales. La fin de cette thèse est pour moi le commencement de ce que j'espère être une longue et fructueuse carrière dans le domaine de la recherche. Pour l'instant les portes s'ouvrent vers d'autres horizons, d'autres opportunités. Peut-être reviendrais-je un jour sur ce sujet qui m'a passionné durant toutes ces années?

Bibliographie

- Abi-Dargham A, Gil R, Krystal J, Baldwin RM, Seibyl JP, Bowers M, van Dyck CH, Charney DS, Innis RB, Laruelle M (1998) Increased striatal dopamine transmission in schizophrenia: confirmation in a second cohort. *Am J Psychiatry* 155:761-767.
- Abi-Dargham A, Mawlawi O, Lombardo I, Gil R, Martinez D, Huang Y, Hwang DR, Keilp J, Kochan L, Van Heertum R, Gorman JM, Laruelle M (2002) Prefrontal dopamine D1 receptors and working memory in schizophrenia. *J Neurosci* 22:3708-3719.
- Adermark L, Lovinger DM (2007) Combined activation of L-type Ca²⁺ channels and synaptic transmission is sufficient to induce striatal long-term depression. *J Neurosci* 27:6781-6787.
- Aghajanian GK (1995) Electrophysiology of Serotonin Receptor Subtypes and Signal Transduction Pathways. In: *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* (Bloom FE, Kupfer DJ, eds). New-York: Raven Press, Ltd.
- Alagarsamy S, Marino MJ, Rouse ST, Gereau RWt, Heinemann SF, Conn PJ (1999) Activation of NMDA receptors reverses desensitization of mGluR5 in native and recombinant systems. *Nature neuroscience* 2:234-240.
- Alagarsamy S, Rouse ST, Junge C, Hubert GW, Gutman D, Smith Y, Conn PJ (2002) NMDA-induced phosphorylation and regulation of mGluR5. *Pharmacol Biochem Behav* 73:299-306.
- Albin RL, Young AB, Penney JB (1989) The functional anatomy of basal ganglia disorders. *Trends Neurosci* 12:366-375.
- Alcantara AA, Mrzljak L, Jakab RL, Levey AI, Hersch SM, Goldman-Rakic PS (2001) Muscarinic m1 and m2 receptor proteins in local circuit and projection neurons of the primate striatum: anatomical evidence for cholinergic modulation of glutamatergic prefronto-striatal pathways. *J Comp Neurol* 434:445-460.
- Andre VM, Cepeda C, Cummings DM, Jocoy EL, Fisher YE, Yang XW, Levine MS (2010) Dopamine modulation of excitatory currents in the striatum is dictated by the expression of D1 or D2 receptors and modified by endocannabinoids. *European Journal of Neuroscience* 31:14-28.
- Andreassen OA, Finsen B, Ostergaard K, Sorensen JC, West MJ, Jorgensen HA (1999) The relationship between oral dyskinesias produced by long-term haloperidol treatment, the density of striatal preproenkephalin messenger RNA and enkephalin peptide,

and the number of striatal neurons expressing preproenkephalin messenger RNA in rats. *Neuroscience* 88:27-35.

- Ansah TA, Ferguson MC, Nayyar T (2011) The 5-HT(2A) Receptor Antagonist M100907 Produces Antiparkinsonian Effects and Decreases Striatal Glutamate. *Front Syst Neurosci* 5:48.
- Arvanov VL, Wang RY (1999) Clozapine, but not haloperidol, prevents the functional hyperactivity of N-methyl-D-aspartate receptors in rat cortical neurons induced by subchronic administration of phencyclidine. *J Pharmacol Exp Ther* 289:1000-1006.
- Atkins JB, Chlan-Fourney J, Nye HE, Hiroi N, Carlezon WA, Jr., Nestler EJ (1999) Region-specific induction of deltaFosB by repeated administration of typical versus atypical antipsychotic drugs. *Synapse* 33:118-128.
- Azdad K, Gall D, Woods AS, Ledent C, Ferre S, Schiffmann SN (2009) Dopamine D2 and adenosine A2A receptors regulate NMDA-mediated excitation in accumbens neurons through A2A-D2 receptor heteromerization. *Neuropsychopharmacology* 34:972-986.
- Bakshi VP, Swerdlow NR, Geyer MA (1994) Clozapine antagonizes phencyclidine-induced deficits in sensorimotor gating of the startle response. *J Pharmacol Exp Ther* 271:787-794.
- Balleine BW, Delgado MR, Hikosaka O (2007) The role of the dorsal striatum in reward and decision-making. *J Neurosci* 27:8161-8165.
- Bamford NS, Robinson S, Palmiter RD, Joyce JA, Moore C, Meshul CK (2004a) Dopamine modulates release from corticostriatal terminals. *J Neurosci* 24:9541-9552.
- Bamford NS, Zhang H, Schmitz Y, Wu NP, Cepeda C, Levine MS, Schmauss C, Zakharenko SS, Zablow L, Sulzer D (2004b) Heterosynaptic dopamine neurotransmission selects sets of corticostriatal terminals. *Neuron* 42:653-663.
- Bateup HS, Svenningsson P, Kuroiwa M, Gong S, Nishi A, Heintz N, Greengard P (2008) Cell type-specific regulation of DARPP-32 phosphorylation by psychostimulant and antipsychotic drugs. *Nature neuroscience* 11:932-939.
- Bateup HS, Santini E, Shen W, Birnbaum S, Valjent E, Surmeier DJ, Fisone G, Nestler EJ, Greengard P (2010) Distinct subclasses of medium spiny neurons differentially regulate striatal motor behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 107:14845-14850.
- Beaudry G, Langlois MC, Weppe I, Rouillard C, Levesque D (2000) Contrasting patterns and cellular specificity of transcriptional regulation of the nuclear receptor nerve

- growth factor-inducible B by haloperidol and clozapine in the rat forebrain. *J Neurochem* 75:1694-1702.
- Beaulieu JM, Gainetdinov RR (2011) The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacological reviews* 63:182-217.
- Beaulieu JM, Gainetdinov RR, Caron MG (2009) Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 49:327-347.
- Beaulieu JM, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, Caron MG (2006) Paradoxical striatal cellular signaling responses to psychostimulants in hyperactive mice. *J Biol Chem* 281:32072-32080.
- Beaulieu JM, Marion S, Rodriguiz RM, Medvedev IO, Sotnikova TD, Ghisi V, Wetsel WC, Lefkowitz RJ, Gainetdinov RR, Caron MG (2008) A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behavior. *Cell* 132:125-136.
- Bello EP, Mateo Y, Gelman DM, Noain D, Shin JH, Low MJ, Alvarez VA, Lovinger DM, Rubinstein M (2011) Cocaine supersensitivity and enhanced motivation for reward in mice lacking dopamine D2 autoreceptors. *Nature neuroscience* 14:1033-1038.
- Benes FM, Paskevich PA, Davidson J, Domesick VB (1985) The effects of haloperidol on synaptic patterns in the rat striatum. *Brain Res* 329:265-273.
- Bernard V, Normand E, Bloch B (1992) Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing muscarinic receptor genes. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 12:3591-3600.
- Bertran-Gonzalez J, Bosch C, Maroteaux M, Matamales M, Herve D, Valjent E, Girault JA (2008) Opposing patterns of signaling activation in dopamine D1 and D2 receptor-expressing striatal neurons in response to cocaine and haloperidol. *J Neurosci* 28:5671-5685.
- Bertran-Gonzalez J, Hakansson K, Borgkvist A, Irinopoulou T, Brami-Cherrier K, Usiello A, Greengard P, Herve D, Girault JA, Valjent E, Fisone G (2009) Histone H3 phosphorylation is under the opposite tonic control of dopamine D2 and adenosine A2A receptors in striatopallidal neurons. *Neuropsychopharmacology* 34:1710-1720.
- Bhardwaj SK, Beaudry G, Quirion R, Levesque D, Srivastava LK (2003) Neonatal ventral hippocampus lesion leads to reductions in nerve growth factor inducible-B mRNA in the prefrontal cortex and increased amphetamine response in the nucleus accumbens and dorsal striatum. *Neuroscience* 122:669-676.
- Bibb JA, Snyder GL, Nishi A, Yan Z, Meijer L, Fienberg AA, Tsai LH, Kwon YT, Girault JA, Czernik AJ, Haganir RL, Hemmings HC, Jr., Nairn AC, Greengard P (1999)

Phosphorylation of DARPP-32 by Cdk5 modulates dopamine signalling in neurons. *Nature* 402:669-671.

- Bilder RM, Goldman RS, Volavka J, Czobor P, Hoptman M, Sheitman B, Lindenmayer JP, Citrome L, McEvoy J, Kunz M, Chakos M, Cooper TB, Horowitz TL, Lieberman JA (2002) Neurocognitive effects of clozapine, olanzapine, risperidone, and haloperidol in patients with chronic schizophrenia or schizoaffective disorder. *Am J Psychiatry* 159:1018-1028.
- Blier P, Ward NM (2003) Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biol Psychiatry* 53:193-203.
- Bonsi P, Cuomo D, Ding J, Sciamanna G, Ulrich S, Tschertter A, Bernardi G, Surmeier DJ, Pisani A (2007) Endogenous serotonin excites striatal cholinergic interneurons via the activation of 5-HT_{2C}, 5-HT₆, and 5-HT₇ serotonin receptors: implications for extrapyramidal side effects of serotonin reuptake inhibitors. *Neuropsychopharmacology* 32:1840-1854.
- Bouchard RH, Merette C, Pourcher E, Demers MF, Villeneuve J, Roy-Gagnon MH, Gauthier Y, Cliche D, Labelle A, Filteau MJ, Roy MA, Maziade M (2000) Longitudinal comparative study of risperidone and conventional neuroleptics for treating patients with schizophrenia. The Quebec Schizophrenia Study Group. *J Clin Psychopharmacol* 20:295-304.
- Bourhis E, Maheux J, Rouillard C, Levesque D (2008) Extracellular signal-regulated kinases (ERK) and protein kinase C (PKC) activities are involved in the modulation of Nur77 and Nor-1 expression by dopaminergic drugs. *J Neurochem*.
- Brami-Cherrier K, Valjent E, Herve D, Darragh J, Corvol JC, Pages C, Arthur SJ, Girault JA, Caboche J (2005) Parsing molecular and behavioral effects of cocaine in mitogen- and stress-activated protein kinase-1-deficient mice. *J Neurosci* 25:11444-11454.
- Bruins Slot LA, Lestienne F, Grevoz-Barret C, Newman-Tancredi A, Cussac D (2009) F15063, a potential antipsychotic with dopamine D₂/D₃ receptor antagonist and 5-HT_{1A} receptor agonist properties: influence on immediate-early gene expression in rat prefrontal cortex and striatum. *Eur J Pharmacol* 620:27-35.
- Burnet PW, Eastwood SL, Harrison PJ (1996) 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor mRNAs and binding site densities are differentially altered in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 15:442-455.
- Burnstock G (2007) Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission. *Physiol Rev* 87:659-797.
- Burnstock G (2009) Purinergic cotransmission. *Experimental physiology* 94:20-24.

- Cabello N, Gandia J, Bertarelli DC, Watanabe M, Lluís C, Franco R, Ferre S, Lujan R, Ciruela F (2009) Metabotropic glutamate type 5, dopamine D2 and adenosine A2a receptors form higher-order oligomers in living cells. *J Neurochem* 109:1497-1507.
- Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1992a) Long-term Potentiation in the Striatum is Unmasked by Removing the Voltage-dependent Magnesium Block of NMDA Receptor Channels. *Eur J Neurosci* 4:929-935.
- Calabresi P, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1996) The corticostriatal projection: from synaptic plasticity to dysfunctions of the basal ganglia. *Trends Neurosci* 19:19-24.
- Calabresi P, Maj R, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G (1992b) Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *J Neurosci* 12:4224-4233.
- Calabresi P, Centonze D, Gubellini P, Pisani A, Bernardi G (2000) Acetylcholine-mediated modulation of striatal function. *Trends Neurosci* 23:120-126.
- Carlsson A (1959) The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system. *Pharmacological reviews* 11:490-493.
- Carlsson A, Lindqvist M (1963) Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3-methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta pharmacologica et toxicologica* 20:140-144.
- Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T (1957) 3,4-Dihydroxyphenylalanine and 5-hydroxytryptophan as reserpine antagonists. *Nature* 180:1200.
- Carpenter WT, Jr., Buchanan RW (1994) Schizophrenia. *N Engl J Med* 330:681-690.
- Carter AG, Sabatini BL (2004) State-dependent calcium signaling in dendritic spines of striatal medium spiny neurons. *Neuron* 44:483-493.
- Casey DE (2000) Tardive dyskinesia: pathophysiology and animal models. *J Clin Psychiatry* 61 Suppl 4:5-9.
- Casey DE (2004) Pathophysiology of antipsychotic drug-induced movement disorders. *J Clin Psychiatry* 65 Suppl 9:25-28.
- Centonze D, Usiello A, Costa C, Picconi B, Erbs E, Bernardi G, Borrelli E, Calabresi P (2004a) Chronic haloperidol promotes corticostriatal long-term potentiation by targeting dopamine D2L receptors. *J Neurosci* 24:8214-8222.
- Centonze D, Gubellini P, Usiello A, Rossi S, Tschertter A, Bracci E, Erbs E, Tognazzi N, Bernardi G, Pisani A, Calabresi P, Borrelli E (2004b) Differential contribution of

dopamine D2S and D2L receptors in the modulation of glutamate and GABA transmission in the striatum. *Neuroscience* 129:157-166.

- Chen JF, Moratalla R, Impagnatiello F, Grandy DK, Cuellar B, Rubinstein M, Beilstein MA, Hackett E, Fink JS, Low MJ, Ongini E, Schwarzschild MA (2001) The role of the D(2) dopamine receptor (D(2)R) in A(2A) adenosine receptor (A(2A)R)-mediated behavioral and cellular responses as revealed by A(2A) and D(2) receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:1970-1975.
- Choe ES, Shin EH, Wang JQ (2006) Regulation of phosphorylation of NMDA receptor NR1 subunits in the rat neostriatum by group I metabotropic glutamate receptors in vivo. *Neurosci Lett* 394:246-251.
- Corbett R, Camacho F, Woods AT, Kerman LL, Fishkin RJ, Brooks K, Dunn RW (1995) Antipsychotic agents antagonize non-competitive N-methyl-D-aspartate antagonist-induced behaviors. *Psychopharmacology (Berl)* 120:67-74.
- Cornea-Hebert V, Riad M, Wu C, Singh SK, Descarries L (1999) Cellular and subcellular distribution of the serotonin 5-HT_{2A} receptor in the central nervous system of adult rat. *J Comp Neurol* 409:187-209.
- Corvol JC, Studler JM, Schonn JS, Girault JA, Herve D (2001) Galph_o(olf) is necessary for coupling D1 and A2a receptors to adenylyl cyclase in the striatum. *J Neurochem* 76:1585-1588.
- Cragg SJ, Rice ME (2004) DANCING past the DAT at a DA synapse. *Trends Neurosci* 27:270-277.
- Csernansky JG, Mahmoud R, Brenner R (2002) A comparison of risperidone and haloperidol for the prevention of relapse in patients with schizophrenia. *N Engl J Med* 346:16-22.
- Darragh J, Soloaga A, Beardmore VA, Wingate AD, Wiggin GR, Peggie M, Arthur JS (2005) MSKs are required for the transcription of the nuclear orphan receptors Nur77, Nurr1 and Nor1 downstream of MAPK signalling. *Biochem J* 390:749-759.
- Dasgupta S, Ferre S, Kull B, Hedlund PB, Finnman UB, Ahlberg S, Arenas E, Fredholm BB, Fuxe K (1996) Adenosine A_{2A} receptors modulate the binding characteristics of dopamine D₂ receptors in stably cotransfected fibroblast cells. *Eur J Pharmacol* 316:325-331.
- Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M (1991) Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry* 148:1474-1486.
- Day M, Wokosin D, Plotkin JL, Tian X, Surmeier DJ (2008) Differential excitability and modulation of striatal medium spiny neuron dendrites. *J Neurosci* 28:11603-11614.

- Day M, Wang Z, Ding J, An X, Ingham CA, Shering AF, Wokosin D, Ilijic E, Sun Z, Sampson AR, Mugnaini E, Deutch AY, Sesack SR, Arbuthnott GW, Surmeier DJ (2006) Selective elimination of glutamatergic synapses on striatopallidal neurons in Parkinson disease models. *Nature neuroscience* 9:251-259.
- De Mei C, Ramos M, Iitaka C, Borrelli E (2009) Getting specialized: presynaptic and postsynaptic dopamine D2 receptors. *Curr Opin Pharmacol* 9:53-58.
- de Rooij J, Zwartkruis FJ, Verheijen MH, Cool RH, Nijman SM, Wittinghofer A, Bos JL (1998) Epac is a Rap1 guanine-nucleotide-exchange factor directly activated by cyclic AMP. *Nature* 396:474-477.
- DeLong M, Wichmann T (2009) Update on models of basal ganglia function and dysfunction. *Parkinsonism Relat Disord* 15 Suppl 3:S237-240.
- DeLong MR (1990) Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci* 13:281-285.
- Descarries L, Mechawar N (2000) Ultrastructural evidence for diffuse transmission by monoamine and acetylcholine neurons of the central nervous system. *Prog Brain Res* 125:27-47.
- Deutch AY, Colbran RJ, Winder DJ (2007) Striatal plasticity and medium spiny neuron dendritic remodeling in parkinsonism. *Parkinsonism Relat Disord* 13 Suppl 3:S251-258.
- Di Matteo V, Pierucci M, Esposito E, Crescimanno G, Benigno A, Di Giovanni G (2008) Serotonin modulation of the basal ganglia circuitry: therapeutic implication for Parkinson's disease and other motor disorders. *Prog Brain Res* 172:423-463.
- Diaz J, Levesque D, Lammers CH, Griffon N, Martres MP, Schwartz JC, Sokoloff P (1995) Phenotypical characterization of neurons expressing the dopamine D3 receptor in the rat brain. *Neuroscience* 65:731-745.
- Diaz-Cabiale Z, Vivo M, Del Arco A, O'Connor WT, Harte MK, Muller CE, Martinez E, Popoli P, Fuxe K, Ferre S (2002) Metabotropic glutamate mGlu5 receptor-mediated modulation of the ventral striopallidal GABA pathway in rats. Interactions with adenosine A(2A) and dopamine D(2) receptors. *Neurosci Lett* 324:154-158.
- Ding J, Guzman JN, Tkatch T, Chen S, Goldberg JA, Ebert PJ, Levitt P, Wilson CJ, Hamm HE, Surmeier DJ (2006) RGS4-dependent attenuation of M4 autoreceptor function in striatal cholinergic interneurons following dopamine depletion. *Nature neuroscience* 9:832-842.
- Dingledine R, Borges K, Bowie D, Traynelis SF (1999) The glutamate receptor ion channels. *Pharmacological reviews* 51:7-61.

- Domenici MR, Peponi R, Martire A, Tebano MT, Potenza RL, Popoli P (2004) Permissive role of adenosine A2A receptors on metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5)-mediated effects in the striatum. *J Neurochem* 90:1276-1279.
- Dragunow M, Robertson GS, Faull RL, Robertson HA, Jansen K (1990) D2 dopamine receptor antagonists induce fos and related proteins in rat striatal neurons. *Neuroscience* 37:287-294.
- Durieux PF, Bearzatto B, Guiducci S, Buch T, Waisman A, Zoli M, Schiffmann SN, de Kerchove d'Exaerde A (2009) D2R striatopallidal neurons inhibit both locomotor and drug reward processes. *Nature neuroscience* 12:393-395.
- Eberle-Wang K, Mikeladze Z, Uryu K, Chesselet MF (1997) Pattern of expression of the serotonin2C receptor messenger RNA in the basal ganglia of adult rats. *J Comp Neurol* 384:233-247.
- el Mansari M, Radja F, Ferron A, Reader TA, Molina-Holgado E, Descarries L (1994) Hypersensitivity to serotonin and its agonists in serotonin-hyperinnervated neostriatum after neonatal dopamine denervation. *Eur J Pharmacol* 261:171-178.
- El Yacoubi M, Ledent C, Parmentier M, Costentin J, Vaugeois JM (2001) Adenosine A2A receptor knockout mice are partially protected against drug-induced catalepsy. *Neuroreport* 12:983-986.
- Elliott MS, Ballard CG, Kalaria RN, Perry R, Hortobagyi T, Francis PT (2009) Increased binding to 5-HT1A and 5-HT2A receptors is associated with large vessel infarction and relative preservation of cognition. *Brain* 132:1858-1865.
- Ethier I, Kagechika H, Shudo K, Rouillard C, Levesque D (2004a) Docosahexaenoic acid reduces haloperidol-induced dyskinesias in mice: involvement of Nur77 and retinoid receptors. *Biol Psychiatry* 56:522-526.
- Ethier I, Beaudry G, St-Hilaire M, Milbrandt J, Rouillard C, Levesque D (2004b) The transcription factor NGFI-B (Nur77) and retinoids play a critical role in acute neuroleptic-induced extrapyramidal effect and striatal neuropeptide gene expression. *Neuropsychopharmacology* 29:335-346.
- Farde L, Nordstrom AL, Wiesel FA, Pauli S, Halldin C, Sedvall G (1992) Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psychiatry* 49:538-544.
- Ferre S, von Euler G, Johansson B, Fredholm BB, Fuxe K (1991) Stimulation of high-affinity adenosine A2 receptors decreases the affinity of dopamine D2 receptors in rat striatal membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:7238-7241.

- Ferre S, Popoli P, Rimondini R, Reggio R, Kehr J, Fuxe K (1999) Adenosine A2A and group I metabotropic glutamate receptors synergistically modulate the binding characteristics of dopamine D2 receptors in the rat striatum. *Neuropharmacology* 38:129-140.
- Ferre S, Ciruela F, Quiroz C, Lujan R, Popoli P, Cunha RA, Agnati LF, Fuxe K, Woods AS, Lluis C, Franco R (2007) Adenosine receptor heteromers and their integrative role in striatal function. *ScientificWorldJournal* 7:74-85.
- Ferre S, Karcz-Kubicha M, Hope BT, Popoli P, Burgueno J, Gutierrez MA, Casado V, Fuxe K, Goldberg SR, Lluis C, Franco R, Ciruela F (2002) Synergistic interaction between adenosine A2A and glutamate mGlu5 receptors: implications for striatal neuronal function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:11940-11945.
- Ferreira LT, Dale LB, Ribeiro FM, Babwah AV, Pampillo M, Ferguson SS (2009) Calcineurin inhibitor protein (CAIN) attenuates Group I metabotropic glutamate receptor endocytosis and signaling. *J Biol Chem* 284:28986-28994.
- Fink JS, Weaver DR, Rivkees SA, Peterfreund RA, Pollack AE, Adler EM, Reppert SM (1992) Molecular cloning of the rat A2 adenosine receptor: selective co-expression with D2 dopamine receptors in rat striatum. *Brain Res Mol Brain Res* 14:186-195.
- Flajolet M, Wang Z, Futter M, Shen W, Nuangchamngong N, Bendor J, Wallach I, Nairn AC, Surmeier DJ, Greengard P (2008) FGF acts as a co-transmitter through adenosine A(2A) receptor to regulate synaptic plasticity. *Nature neuroscience* 11:1402-1409.
- Flaum M, Schultz SK (1996) When does amphetamine-induced psychosis become schizophrenia? *Am J Psychiatry* 153:812-815.
- Frankle WG, Laruelle M (2002) Neuroreceptor imaging in psychiatric disorders. *Annals of nuclear medicine* 16:437-446.
- Frechilla D, Cobreros A, Saldise L, Moratalla R, Insausti R, Luquin M, Del Rio J (2001) Serotonin 5-HT(1A) receptor expression is selectively enhanced in the striosomal compartment of chronic parkinsonian monkeys. *Synapse* 39:288-296.
- Freedman R (2003) Schizophrenia. *N Engl J Med* 349:1738-1749.
- Gainetdinov RR, Mohn AR, Caron MG (2001) Genetic animal models: focus on schizophrenia. *Trends Neurosci* 24:527-533.
- Gardos G, Casey DE, Cole JO, Perenyi A, Kocsis E, Arato M, Samson JA, Conley C (1994) Ten-year outcome of tardive dyskinesia. *Am J Psychiatry* 151:836-841.

- Gerdeman G, Lovinger DM (2001) CB1 cannabinoid receptor inhibits synaptic release of glutamate in rat dorsolateral striatum. *J Neurophysiol* 85:468-471.
- Gerdeman GL, Lovinger DM (2003) Emerging roles for endocannabinoids in long-term synaptic plasticity. *British journal of pharmacology* 140:781-789.
- Gerdeman GL, Ronesi J, Lovinger DM (2002) Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nature neuroscience* 5:446-451.
- Gerfen CR, Surmeier DJ (2011) Modulation of striatal projection systems by dopamine. *Annu Rev Neurosci* 34:441-466.
- Gerfen CR, Engber TM, Mahan LC, Susel Z, Chase TN, Monsma FJ, Jr., Sibley DR (1990) D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science* 250:1429-1432.
- Gertler TS, Chan CS, Surmeier DJ (2008) Dichotomous anatomical properties of adult striatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 28:10814-10824.
- Giros B, Sokoloff P, Martres MP, Riou JF, Emorine LJ, Schwartz JC (1989) Alternative splicing directs the expression of two D2 dopamine receptor isoforms. *Nature* 342:923-926.
- Giuffrida A, Parsons LH, Kerr TM, Rodriguez de Fonseca F, Navarro M, Piomelli D (1999) Dopamine activation of endogenous cannabinoid signaling in dorsal striatum. *Nature neuroscience* 2:358-363.
- Glatt CE, Snyder SH (1993) Cloning and expression of an adenylyl cyclase localized to the corpus striatum. *Nature* 361:536-538.
- Gobert A, Rivet JM, Lejeune F, Newman-Tancredi A, Adhumeau-Auclair A, Nicolas JP, Cistarelli L, Melon C, Millan MJ (2000) Serotonin(2C) receptors tonically suppress the activity of mesocortical dopaminergic and adrenergic, but not serotonergic, pathways: a combined dialysis and electrophysiological analysis in the rat. *Synapse* 36:205-221.
- Goeree R, Farahati F, Burke N, Blackhouse G, O'Reilly D, Pyne J, Tarride JE (2005) The economic burden of schizophrenia in Canada in 2004. *Current medical research and opinion* 21:2017-2028.
- Gong S, Zheng C, Doughty ML, Losos K, Didkovsky N, Schambra UB, Nowak NJ, Joyner A, Leblanc G, Hatten ME, Heintz N (2003) A gene expression atlas of the central nervous system based on bacterial artificial chromosomes. *Nature* 425:917-925.
- Greengard P (2001) The neurobiology of slow synaptic transmission. *Science* 294:1024-1030.

- Groves PM, Linder JC, Young SJ (1994) 5-hydroxydopamine-labeled dopaminergic axons: three-dimensional reconstructions of axons, synapses and postsynaptic targets in rat neostriatum. *Neuroscience* 58:593-604.
- Hakansson K, Galdi S, Hendrick J, Snyder G, Greengard P, Fisone G (2006) Regulation of phosphorylation of the GluR1 AMPA receptor by dopamine D2 receptors. *J Neurochem* 96:482-488.
- Hallett PJ, Spoelgen R, Hyman BT, Standaert DG, Dunah AW (2006) Dopamine D1 activation potentiates striatal NMDA receptors by tyrosine phosphorylation-dependent subunit trafficking. *J Neurosci* 26:4690-4700.
- Hammond DR, Udvardia AJ (2010) Cabin1 expression suggests roles in neuronal development. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* 239:2443-2451.
- Han YH, Cao X, Lin B, Lin F, Kolluri SK, Stebbins J, Reed JC, Dawson MI, Zhang XK (2006) Regulation of Nur77 nuclear export by c-Jun N-terminal kinase and Akt. *Oncogene* 25:2974-2986.
- Hara M, Fukui R, Hieda E, Kuroiwa M, Bateup HS, Kano T, Greengard P, Nishi A (2010) Role of adrenoceptors in the regulation of dopamine/DARPP-32 signaling in neostriatal neurons. *J Neurochem* 113:1046-1059.
- Hazel TG, Nathans D, Lau LF (1988) A gene inducible by serum growth factors encodes a member of the steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85:8444-8448.
- Heinrichs RW, Zakzanis KK (1998) Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12:426-445.
- Hermanson E, Joseph B, Castro D, Lindqvist E, Aarnisalo P, Wallen A, Benoit G, Hengerer B, Olson L, Perlmann T (2003) Nurr1 regulates dopamine synthesis and storage in MN9D dopamine cells. *Exp Cell Res* 288:324-334.
- Hernandez-Lopez S, Bargas J, Surmeier DJ, Reyes A, Galarraga E (1997) D1 receptor activation enhances evoked discharge in neostriatal medium spiny neurons by modulating an L-type Ca²⁺ conductance. *J Neurosci* 17:3334-3342.
- Hernandez-Lopez S, Tkatch T, Perez-Garci E, Galarraga E, Bargas J, Hamm H, Surmeier DJ (2000) D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLC[beta]1-IP3-calcineurin-signaling cascade. *J Neurosci* 20:8987-8995.

- Hettinger BD, Lee A, Linden J, Rosin DL (2001) Ultrastructural localization of adenosine A2A receptors suggests multiple cellular sites for modulation of GABAergic neurons in rat striatum. *J Comp Neurol* 431:331-346.
- Higley MJ, Sabatini BL (2010) Competitive regulation of synaptic Ca²⁺ influx by D2 dopamine and A2A adenosine receptors. *Nature neuroscience* 13:958-966.
- Higley MJ, Soler-Llavina GJ, Sabatini BL (2009) Cholinergic modulation of multivesicular release regulates striatal synaptic potency and integration. *Nature neuroscience* 12:1121-1128.
- Hoff AL, Svetina C, Shields G, Stewart J, DeLisi LE (2005) Ten year longitudinal study of neuropsychological functioning subsequent to a first episode of schizophrenia. *Schizophr Res* 78:27-34.
- Hoffman DC, Donovan H (1995) Catalepsy as a rodent model for detecting antipsychotic drugs with extrapyramidal side effect liability. *Psychopharmacology (Berl)* 120:128-133.
- Holz GG, Kang G, Harbeck M, Roe MW, Chepurny OG (2006) Cell physiology of cAMP sensor Epac. *The Journal of physiology* 577:5-15.
- Howes OD, Kapur S (2009) The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull* 35:549-562.
- Huang CC, Lo SW, Hsu KS (2001) Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *The Journal of physiology* 532:731-748.
- Huot P, Fox SH, Brotchie JM (2011) The serotonergic system in Parkinson's disease. *Prog Neurobiol* 95:163-212.
- Jacobs CM, Paulsen RE (2005) Crosstalk between ERK2 and RXR regulates nuclear import of transcription factor NGFI-B. *Biochem Biophys Res Commun* 336:646-652.
- Javitt DC (2010) Glutamatergic theories of schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci* 47:4-16.
- Javitt DC, Zukin SR (1991) Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 148:1301-1308.
- Jeon J, Dencker D, Wortwein G, Woldbye DP, Cui Y, Davis AA, Levey AI, Schutz G, Sager TN, Mork A, Li C, Deng CX, Fink-Jensen A, Wess J (2010) A subpopulation of neuronal M4 muscarinic acetylcholine receptors plays a critical role in modulating dopamine-dependent behaviors. *J Neurosci* 30:2396-2405.

- Jia Y, Gall CM, Lynch G (2010) Presynaptic BDNF promotes postsynaptic long-term potentiation in the dorsal striatum. *J Neurosci* 30:14440-14445.
- Kadkhodaei B, Ito T, Joodmardi E, Mattsson B, Rouillard C, Carta M, Muramatsu SI, Sumi-Ichinose C, Nomura T, Metzger D, Chambon P, Lindqvist E, Larsson NG, Olson L, Bjorklund A, Ichinose H, Perlmann T (2009) Nurr1 Is Required for Maintenance of Maturing and Adult Midbrain Dopamine Neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 29:15923-15932.
- Kapur A, Zhao P, Sharir H, Bai Y, Caron MG, Barak LS, Abood ME (2009) Atypical responsiveness of the orphan receptor GPR55 to cannabinoid ligands. *J Biol Chem* 284:29817-29827.
- Kapur S (2003) Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 160:13-23.
- Kapur S, Mizrahi R, Li M (2005) From dopamine to salience to psychosis--linking biology, pharmacology and phenomenology of psychosis. *Schizophr Res* 79:59-68.
- Kapur S, Remington G, Jones C, Wilson A, DaSilva J, Houle S, Zipursky R (1996) High levels of dopamine D2 receptor occupancy with low-dose haloperidol treatment: a PET study. *Am J Psychiatry* 153:948-950.
- Kawaguchi Y (1993) Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *J Neurosci* 13:4908-4923.
- Keefe RS, Eesley CE, Poe MP (2005) Defining a cognitive function decrement in schizophrenia. *Biol Psychiatry* 57:688-691.
- Kelley JJ, Gao XM, Tamminga CA, Roberts RC (1997) The effect of chronic haloperidol treatment on dendritic spines in the rat striatum. *Exp Neurol* 146:471-478.
- Kendler KS (1983) Overview: a current perspective on twin studies of schizophrenia. *Am J Psychiatry* 140:1413-1425.
- Khan ZU, Mrzljak L, Gutierrez A, de la Calle A, Goldman-Rakic PS (1998) Prominence of the dopamine D2 short isoform in dopaminergic pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95:7731-7736.
- Kinney GG, O'Brien JA, Lemaire W, Burno M, Bickel DJ, Clements MK, Chen TB, Wisnoski DD, Lindsley CW, Tiller PR, Smith S, Jacobson MA, Sur C, Duggan ME, Pettibone DJ, Conn PJ, Williams DL, Jr. (2005) A novel selective positive allosteric modulator of metabotropic glutamate receptor subtype 5 has in vivo activity and antipsychotic-like effects in rat behavioral models. *J Pharmacol Exp Ther* 313:199-206.

- Kinon BJ, Zhang L, Millen BA, Osuntokun OO, Williams JE, Kollack-Walker S, Jackson K, Kryzhanovskaya L, Jarkova N (2011) A multicenter, inpatient, phase 2, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of LY2140023 monohydrate in patients with DSM-IV schizophrenia. *J Clin Psychopharmacol* 31:349-355.
- Kofalvi A, Rodrigues RJ, Ledent C, Mackie K, Vizi ES, Cunha RA, Sperlagh B (2005) Involvement of cannabinoid receptors in the regulation of neurotransmitter release in the rodent striatum: a combined immunochemical and pharmacological analysis. *J Neurosci* 25:2874-2884.
- Konradi C, Kobierski LA, Nguyen TV, Heckers S, Hyman SE (1993) The cAMP-response-element-binding protein interacts, but Fos protein does not interact, with the proenkephalin enhancer in rat striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:7005-7009.
- Kovalovsky D, Refojo D, Liberman AC, Hochbaum D, Pereda MP, Coso OA, Stalla GK, Holsboer F, Arzt E (2002) Activation and induction of NUR77/NURR1 in corticotrophs by CRH/cAMP: involvement of calcium, protein kinase A, and MAPK pathways. *Mol Endocrinol* 16:1638-1651.
- Kozorovitskiy Y, Saunders A, Johnson CA, Lowell BB, Sabatini BL (2012) Recurrent network activity drives striatal synaptogenesis. *Nature* advance online publication.
- Kramer MS, Gorkin R, DiJohnson C (1989) Treatment of neuroleptic-induced akathisia with propranolol: a controlled replication study. *Hillside J Clin Psychiatry* 11:107-119.
- Kravitz AV, Freeze BS, Parker PR, Kay K, Thwin MT, Deisseroth K, Kreitzer AC (2010) Regulation of parkinsonian motor behaviours by optogenetic control of basal ganglia circuitry. *Nature* 466:622-626.
- Kreitzer AC (2009) Physiology and pharmacology of striatal neurons. *Annu Rev Neurosci* 32:127-147.
- Kreitzer AC, Malenka RC (2008) Striatal Plasticity and Basal Ganglia Circuit Function. *60:543-554.*
- Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Jr., Charney DS (1994) Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch Gen Psychiatry* 51:199-214.
- Kung MP, Frederick D, Mu M, Zhuang ZP, Kung HF (1995) 4-(2'-Methoxy-phenyl)-1-[2'-(n-2"-pyridinyl)-p-iodobenzamido]-ethyl- piperazine ([125I]p-MPPI) as a new selective radioligand of serotonin-1A sites in rat brain: in vitro binding and autoradiographic studies. *J Pharmacol Exp Ther* 272:429-437.

- Lahti AC, Koffel B, LaPorte D, Tamminga CA (1995) Subanesthetic doses of ketamine stimulate psychosis in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 13:9-19.
- Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, Tamminga CA (2001) Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. *Neuropsychopharmacology* 25:455-467.
- Lam BY, Zhang W, Ng DC, Maruthappu M, Llewelyn Roderick H, Chawla S (2009) CREB-dependent Nur77 induction following depolarization in PC12 cells and neurons is modulated by MEF2 transcription factors. *J Neurochem*.
- Langlois MC, Beaudry G, Zekki H, Rouillard C, Levesque D (2001) Impact of antipsychotic drug administration on the expression of nuclear receptors in the neocortex and striatum of the rat brain. *Neuroscience* 106:117-128.
- Laprade N, Soghomonian JJ (1995) Differential regulation of mRNA levels encoding for the two isoforms of glutamate decarboxylase (GAD65 and GAD67) by dopamine receptors in the rat striatum. *Brain Res Mol Brain Res* 34:65-74.
- Larrauri JA, Levin ED (2011) The alpha(2)-adrenergic antagonist idazoxan counteracts prepulse inhibition deficits caused by amphetamine or dizocilpine in rats. *Psychopharmacology (Berl)*.
- Laruelle M, Abi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, Baldwin RM, Seibyl JP, Krystal JH, Charney DS, Innis RB (1996) Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:9235-9240.
- Lategan AJ, Marien MR, Colpaert FC (1990) Effects of locus coeruleus lesions on the release of endogenous dopamine in the rat nucleus accumbens and caudate nucleus as determined by intracerebral microdialysis. *Brain Res* 523:134-138.
- Le Moine C, Bloch B (1995) D1 and D2 dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D1 and D2 mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J Comp Neurol* 355:418-426.
- Lee K, Schubert P, Gribkoff V, Sherman B, Lynch G (1982) A combined in vivo/in vitro study of the presynaptic release of adenosine derivatives in the hippocampus. *J Neurochem* 38:80-83.
- Lee MK, Nikodem VM (2004) Differential role of ERK in cAMP-induced Nurr1 expression in N2A and C6 cells. *Neuroreport* 15:99-102.

- Lerner TN, Kreitzer AC (2011) Neuromodulatory control of striatal plasticity and behavior. *Curr Opin Neurobiol* 21:322-327.
- Levesque D, Rouillard C (2007) Nur77 and retinoid X receptors: crucial factors in dopamine-related neuroadaptation. *Trends Neurosci* 30:22-30.
- Lieberman JA, Stroup TS, McEvoy JP, Swartz MS, Rosenheck RA, Perkins DO, Keefe RS, Davis SM, Davis CE, Lebowitz BD, Severe J, Hsiao JK (2005) Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med* 353:1209-1223.
- Lindgren N, Usiello A, Gojny M, Haycock J, Erbs E, Greengard P, Hokfelt T, Borrelli E, Fisone G (2003) Distinct roles of dopamine D2L and D2S receptor isoforms in the regulation of protein phosphorylation at presynaptic and postsynaptic sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:4305-4309.
- Lindsley CW, Wisnoski DD, Leister WH, O'Brien J A, Lemaire W, Williams DL, Jr., Burno M, Sur C, Kinney GG, Pettibone DJ, Tiller PR, Smith S, Duggan ME, Hartman GD, Conn PJ, Huff JR (2004) Discovery of positive allosteric modulators for the metabotropic glutamate receptor subtype 5 from a series of N-(1,3-diphenyl-1H-pyrazol-5-yl)benzamides that potentiate receptor function in vivo. *Journal of medicinal chemistry* 47:5825-5828.
- Lindvall O, Bjorklund A (1974) The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta physiologica Scandinavica Supplementum* 412:1-48.
- Lipska BK, Weinberger DR (2000) To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 23:223-239.
- Liu F, Zhang G, Hornby G, Vasylyev D, Bowlby M, Park K, Gilbert A, Marquis K, Andree TH (2006) The effect of mGlu5 receptor positive allosteric modulators on signaling molecules in brain slices. *Eur J Pharmacol* 536:262-268.
- Liu X, Tonegawa S (2010) Optogenetics 3.0. *Cell* 141:22-24.
- Lopez-Gil X, Babot Z, Amargos-Bosch M, Sunol C, Artigas F, Adell A (2007) Clozapine and Haloperidol Differently Suppress the MK-801-Increased Glutamatergic and Serotonergic Transmission in the Medial Prefrontal Cortex of the Rat. *Neuropsychopharmacology*.
- Lopez-Gimenez JF, Mengod G, Palacios JM, Vilaro MT (1997) Selective visualization of rat brain 5-HT_{2A} receptors by autoradiography with [3H]MDL 100,907. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 356:446-454.

- Lovinger DM (2010) Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum. *Neuropharmacology* 58:951-961.
- Luttrell LM, Lefkowitz RJ (2002) The role of beta-arrestins in the termination and transduction of G-protein-coupled receptor signals. *J Cell Sci* 115:455-465.
- Maheux J, Ethier I, Rouillard C, Levesque D (2005) Induction patterns of transcription factors of the nur family (nurr1, nur77, and nor-1) by typical and atypical antipsychotics in the mouse brain: implication for their mechanism of action. *J Pharmacol Exp Ther* 313:460-473.
- Maira M, Martens C, Batsche E, Gauthier Y, Drouin J (2003) Dimer-specific potentiation of NGFI-B (Nur77) transcriptional activity by the protein kinase A pathway and AF-1-dependent coactivator recruitment. *Mol Cell Biol* 23:763-776.
- Malenka RC (2002) Synaptic plasticity. In: *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress* (Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C, eds), pp 147-158.
- Malenka RC, Kauer JA, Zucker RS, Nicoll RA (1988) Postsynaptic calcium is sufficient for potentiation of hippocampal synaptic transmission. *Science* 242:81-84.
- Malenka RC, Kauer JA, Perkel DJ, Mauk MD, Kelly PT, Nicoll RA, Waxham MN (1989) An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature* 340:554-557.
- Malhotra AK, Pinals DA, Adler CM, Elman I, Clifton A, Pickar D, Breier A (1997) Ketamine-induced exacerbation of psychotic symptoms and cognitive impairment in neuroleptic-free schizophrenics. *Neuropsychopharmacology* 17:141-150.
- Manzoni OJ, Manabe T, Nicoll RA (1994) Release of adenosine by activation of NMDA receptors in the hippocampus. *Science* 265:2098-2101.
- Mao L, Wang JQ (2001) Upregulation of preprodynorphin and preproenkephalin mRNA expression by selective activation of group I metabotropic glutamate receptors in characterized primary cultures of rat striatal neurons. *Brain Res Mol Brain Res* 86:125-137.
- Mao L, Wang JQ (2003) Metabotropic glutamate receptor 5-regulated Elk-1 phosphorylation and immediate early gene expression in striatal neurons. *J Neurochem* 85:1006-1017.
- Mao L, Yang L, Tang Q, Samdani S, Zhang G, Wang JQ (2005a) The scaffold protein Homer1b/c links metabotropic glutamate receptor 5 to extracellular signal-regulated protein kinase cascades in neurons. *J Neurosci* 25:2741-2752.

- Mao L, Yang L, Arora A, Choe ES, Zhang G, Liu Z, Fibuch EE, Wang JQ (2005b) Role of protein phosphatase 2A in mGluR5-regulated MEK/ERK phosphorylation in neurons. *J Biol Chem* 280:12602-12610.
- Martinez-Mir MI, Probst A, Palacios JM (1991) Adenosine A2 receptors: selective localization in the human basal ganglia and alterations with disease. *Neuroscience* 42:697-706.
- Martyns-Yellowe IS (1994) The positive and negative symptoms of schizophrenia: patterns of response to depot neuroleptic treatment. *West Afr J Med* 13:200-203.
- Maruoka H, Sasaya H, Shimamura Y, Nakatani Y, Shimoke K, Ikeuchi T (2010) Dibutyryl-cAMP up-regulates nur77 expression via histone modification during neurite outgrowth in PC12 cells. *Journal of biochemistry* 148:93-101.
- Masuyama N, Oishi K, Mori Y, Ueno T, Takahama Y, Gotoh Y (2001) Akt inhibits the orphan nuclear receptor Nur77 and T-cell apoptosis. *J Biol Chem* 276:32799-32805.
- Matamales M, Bertran-Gonzalez J, Salomon L, Degos B, Deniau JM, Valjent E, Herve D, Girault JA (2009) Striatal medium-sized spiny neurons: identification by nuclear staining and study of neuronal subpopulations in BAC transgenic mice. *PLoS One* 4:e4770.
- Mathur BN, Capik NA, Alvarez VA, Lovinger DM (2011) Serotonin induces long-term depression at corticostriatal synapses. *J Neurosci* 31:7402-7411.
- Matsuda W, Furuta T, Nakamura KC, Hioki H, Fujiyama F, Arai R, Kaneko T (2009) Single nigrostriatal dopaminergic neurons form widely spread and highly dense axonal arborizations in the neostriatum. *J Neurosci* 29:444-453.
- Maura G, Giardi A, Raiteri M (1988) Release-regulating D-2 dopamine receptors are located on striatal glutamatergic nerve terminals. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 247:680-684.
- Maurice N, Mercer J, Chan CS, Hernandez-Lopez S, Held J, Tkatch T, Surmeier DJ (2004) D2 dopamine receptor-mediated modulation of voltage-dependent Na⁺ channels reduces autonomous activity in striatal cholinergic interneurons. *J Neurosci* 24:10289-10301.
- McClung CA, Ulery PG, Perrotti LI, Zachariou V, Berton O, Nestler EJ (2004) DeltaFosB: a molecular switch for long-term adaptation in the brain. *Brain Res Mol Brain Res* 132:146-154.
- McGeorge AJ, Faull RL (1989) The organization of the projection from the cerebral cortex to the striatum in the rat. *Neuroscience* 29:503-537.

- McGrath J, Saha S, Welham J, El Saadi O, MacCauley C, Chant D (2004) A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. *BMC medicine* 2:13.
- Meinke G, Sigler PB (1999) DNA-binding mechanism of the monomeric orphan nuclear receptor NGFI-B. *Nat Struct Biol* 6:471-477.
- Meitzen J, Luoma JI, Stern CM, Mermelstein PG (2011) beta1-Adrenergic receptors activate two distinct signaling pathways in striatal neurons. *J Neurochem* 116:984-995.
- Melani A, Corti F, Stephan H, Muller CE, Donati C, Bruni P, Vannucchi MG, Pedata F (2011) Ecto-ATPase inhibition: ATP and adenosine release under physiological and ischemic in vivo conditions in the rat striatum. *Exp Neurol*.
- Meltzer CC, Price JC, Mathis CA, Butters MA, Ziolkowski SK, Moses-Kolko E, Mazumdar S, Mulsant BH, Houck PR, Lopresti BJ, Weissfeld LA, Reynolds CF (2004) Serotonin 1A receptor binding and treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology* 29:2258-2265.
- Meltzer HY (1995) Atypical Antipsychotic Drugs. In: *Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress* (Bloom FE, Kupfer DJ, eds), pp 1277-1286. New-York: Raven Press, Ltd.
- Meltzer HY, Huang M (2008) In vivo actions of atypical antipsychotic drug on serotonergic and dopaminergic systems. *Prog Brain Res* 172:177-197.
- Meltzer HY, Matsubara S, Lee JC (1989) Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pKi values. *J Pharmacol Exp Ther* 251:238-246.
- Mengod G, Vilaro MT, Raurich A, Lopez-Gimenez JF, Cortes R, Palacios JM (1996) 5-HT receptors in mammalian brain: receptor autoradiography and in situ hybridization studies of new ligands and newly identified receptors. *The Histochemical journal* 28:747-758.
- Milano W, D'Acunto CW, De Rosa M, Festa M, Milano L, Petrella C, Capasso A (2011) Recent clinical aspects of hyperprolactinemia induced by antipsychotics. *Reviews on recent clinical trials* 6:52-63.
- Milbrandt J (1988) Nerve growth factor induces a gene homologous to the glucocorticoid receptor gene. *Neuron* 1:183-188.
- Miller CA, Marshall JF (2005) Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. *Neuron* 47:873-884.

- Miner LA, Backstrom JR, Sanders-Bush E, Sesack SR (2003) Ultrastructural localization of serotonin_{2A} receptors in the middle layers of the rat prelimbic prefrontal cortex. *Neuroscience* 116:107-117.
- Mink JW (1996) The basal ganglia: focused selection and inhibition of competing motor programs. *Prog Neurobiol* 50:381-425.
- Minzenberg MJ, Yoon JH (2011) An index of relative central alpha-adrenergic receptor antagonism by antipsychotic medications. *Experimental and clinical psychopharmacology* 19:31-39.
- Morris G, Arkadir D, Nevet A, Vaadia E, Bergman H (2004) Coincident but distinct messages of midbrain dopamine and striatal tonically active neurons. *Neuron* 43:133-143.
- Moss J, Bolam JP (2008) A dopaminergic axon lattice in the striatum and its relationship with cortical and thalamic terminals. *J Neurosci* 28:11221-11230.
- Muller DJ, Kennedy JL (2006) Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. *Pharmacogenomics* 7:863-887.
- Navailles S, De Deurwaerdere P (2011) Presynaptic control of serotonin on striatal dopamine function. *Psychopharmacology (Berl)* 213:213-242.
- Neely MD, Schmidt DE, Deutch AY (2007) Cortical regulation of dopamine depletion-induced dendritic spine loss in striatal medium spiny neurons. *Neuroscience* 149:457-464.
- Neve KA, Seamans JK, Trantham-Davidson H (2004) Dopamine receptor signaling. *J Recept Signal Transduct Res* 24:165-205.
- Newman-Tancredi A, Gavaudan S, Conte C, Chaput C, Touzard M, Verrielle L, Audinot V, Millan MJ (1998) Agonist and antagonist actions of antipsychotic agents at 5-HT_{1A} receptors: a [³⁵S]GTPgammaS binding study. *Eur J Pharmacol* 355:245-256.
- Nguyen TV, Kosofsky BE, Birnbaum R, Cohen BM, Hyman SE (1992) Differential expression of c-fos and zif268 in rat striatum after haloperidol, clozapine, and amphetamine. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:4270-4274.
- Nichols DE, Nichols CD (2008) Serotonin receptors. *Chemical reviews* 108:1614-1641.
- Nishi A, Watanabe Y, Higashi H, Tanaka M, Nairn AC, Greengard P (2005) Glutamate regulation of DARPP-32 phosphorylation in neostriatal neurons involves activation of multiple signaling cascades. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:1199-1204.

- Nishi A, Liu F, Matsuyama S, Hamada M, Higashi H, Nairn AC, Greengard P (2003) Metabotropic mGlu5 receptors regulate adenosine A2A receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1322-1327.
- Niswender CM, Conn PJ (2010) Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 50:295-322.
- Niznik HB, Van Tol HH (1992) Dopamine receptor genes: new tools for molecular psychiatry. *J Psychiatry Neurosci* 17:158-180.
- Noain D, Avale ME, Wedemeyer C, Calvo D, Peper M, Rubinstein M (2006) Identification of brain neurons expressing the dopamine D4 receptor gene using BAC transgenic mice. *Eur J Neurosci* 24:2429-2438.
- Novak G, Gallo A, Zai CC, Meltzer HY, Lieberman JA, Potkin SG, Voineskos AN, Remington G, Kennedy JL, Levesque D, Le Foll B (2010) Association of the orphan nuclear receptor NR4A1 with tardive dyskinesia. *Psychiatric genetics* 20:39-43.
- O'Dell TJ, Kandel ER (1994) Low-frequency stimulation erases LTP through an NMDA receptor-mediated activation of protein phosphatases. *Learning & memory (Cold Spring Harbor, NY)* 1:129-139.
- Olson PA, Tkatch T, Hernandez-Lopez S, Ulrich S, Ilijic E, Mugnaini E, Zhang H, Bezprozvanny I, Surmeier DJ (2005) G-protein-coupled receptor modulation of striatal CaV1.3 L-type Ca²⁺ channels is dependent on a Shank-binding domain. *J Neurosci* 25:1050-1062.
- Ossowska K, Konieczny J, Wolfarth S, Wieronska J, Pilc A (2001) Blockade of the metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGluR5) produces antiparkinsonian-like effects in rats. *Neuropharmacology* 41:413-420.
- Paoletti P, Neyton J (2007) NMDA receptor subunits: function and pharmacology. *Curr Opin Pharmacol* 7:39-47.
- Parelkar NK, Wang JQ (2003) Preproenkephalin mRNA expression in rat dorsal striatum induced by selective activation of metabotropic glutamate receptor subtype-5. *Synapse* 47:255-261.
- Pastrana E (2011) Optogenetics: controlling cell function with light. *Nat Meth* 8:24-25.
- Pekarsky Y, Hallas C, Palamarchuk A, Koval A, Bullrich F, Hirata Y, Bichi R, Letofsky J, Croce CM (2001) Akt phosphorylates and regulates the orphan nuclear receptor Nur77. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:3690-3694.

- Perlmann T, Jansson L (1995) A novel pathway for vitamin A signaling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and NURR1. *Genes Dev* 9:769-782.
- Pertwee RG (2007) GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan? *British journal of pharmacology* 152:984-986.
- Philips A, Lesage S, Gingras R, Maira MH, Gauthier Y, Hugo P, Drouin J (1997) Novel dimeric Nur77 signaling mechanism in endocrine and lymphoid cells. *Mol Cell Biol* 17:5946-5951.
- Pickar D, Su TP, Weinberger DR, Coppola R, Malhotra AK, Knable MB, Lee KS, Gorey J, Bartko JJ, Breier A, Hsiao J (1996) Individual variation in D2 dopamine receptor occupancy in clozapine-treated patients. *Am J Psychiatry* 153:1571-1578.
- Pietraszek M, Nagel J, Gravius A, Schafer D, Danysz W (2007) The role of group I metabotropic glutamate receptors in schizophrenia. *Amino acids* 32:173-178.
- Pisani A, Gubellini P, Bonsi P, Conquet F, Picconi B, Centonze D, Bernardi G, Calabresi P (2001) Metabotropic glutamate receptor 5 mediates the potentiation of N-methyl-D-aspartate responses in medium spiny striatal neurons. *Neuroscience* 106:579-587.
- Popoli P, Pezzola A, Torvinen M, Reggio R, Pintor A, Scarchilli L, Fuxe K, Ferre S (2001) The selective mGlu(5) receptor agonist CHPG inhibits quinpirole-induced turning in 6-hydroxydopamine-lesioned rats and modulates the binding characteristics of dopamine D(2) receptors in the rat striatum: interactions with adenosine A(2a) receptors. *Neuropsychopharmacology* 25:505-513.
- Pozzi L, Hakansson K, Usiello A, Borgkvist A, Lindskog M, Greengard P, Fisone G (2003) Opposite regulation by typical and atypical anti-psychotics of ERK1/2, CREB and Elk-1 phosphorylation in mouse dorsal striatum. *J Neurochem* 86:451-459.
- Prensa L, Parent A (2001) The nigrostriatal pathway in the rat: A single-axon study of the relationship between dorsal and ventral tier nigral neurons and the striosome/matrix striatal compartments. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 21:7247-7260.
- Preston Z, Lee K, Widdowson L, Freeman TC, Dixon AK, Richardson PJ (2000) Adenosine receptor expression and function in rat striatal cholinergic interneurons. *British journal of pharmacology* 130:886-890.
- Prinssen EP, Kleven MS, Koek W (1996) Effects of dopamine antagonists in a two-way active avoidance procedure in rats: interactions with 8-OH-DPAT, ritanserin, and prazosin. *Psychopharmacology (Berl)* 128:191-197.
- Quiroz C, Lujan R, Uchigashima M, Simoes AP, Lerner TN, Borycz J, Kachroo A, Canas PM, Orru M, Schwarzschild MA, Rosin DL, Kreitzer AC, Cunha RA, Watanabe M,

- Ferre S (2009) Key modulatory role of presynaptic adenosine A2A receptors in cortical neurotransmission to the striatal direct pathway. *ScientificWorldJournal* 9:1321-1344.
- Rawls SM, McGinty JF (1998) Muscarinic receptors regulate extracellular glutamate levels in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. *J Pharmacol Exp Ther* 286:91-98.
- Rivera A, Alberti I, Martin AB, Narvaez JA, de la Calle A, Moratalla R (2002) Molecular phenotype of rat striatal neurons expressing the dopamine D5 receptor subtype. *Eur J Neurosci* 16:2049-2058.
- Robertson GS, Fibiger HC (1992) Neuroleptics increase c-fos expression in the forebrain: contrasting effects of haloperidol and clozapine. *Neuroscience* 46:315-328.
- Robertson GS, Matsumura H, Fibiger HC (1994) Induction patterns of Fos-like immunoreactivity in the forebrain as predictors of atypical antipsychotic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 271:1058-1066.
- Rodriguez JJ, Garcia DR, Pickel VM (1999) Subcellular distribution of 5-hydroxytryptamine_{2A} and N-methyl-D-aspartate receptors within single neurons in rat motor and limbic striatum. *J Comp Neurol* 413:219-231.
- Rommelfanger KS, Mitrano DA, Smith Y, Weinshenker D (2009) Light and electron microscopic localization of alpha-1 adrenergic receptor immunoreactivity in the rat striatum and ventral midbrain. *Neuroscience* 158:1530-1540.
- Sakurada K, Ohshima-Sakurada M, Palmer TD, Gage FH (1999) Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Development* 126:4017-4026.
- Schiffmann SN, Jacobs O, Vanderhaeghen JJ (1991) Striatal restricted adenosine A2 receptor (RDC8) is expressed by enkephalin but not by substance P neurons: an in situ hybridization histochemistry study. *J Neurochem* 57:1062-1067.
- Schiffmann SN, Fisone G, Moresco R, Cunha RA, FerrÈ S (2007) Adenosine A2A receptors and basal ganglia physiology. *Progress in Neurobiology* 83:277-292.
- Schiller L, Jahkel M, Kretschmar M, Brust P, Oehler J (2003) Autoradiographic analyses of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors after social isolation in mice. *Brain Res* 980:169-178.
- Schotte A, Janssen PF, Gommeren W, Luyten WH, Van Gompel P, Lesage AS, De Loore K, Leysen JE (1996) Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding. *Psychopharmacology (Berl)* 124:57-73.
- Schultz W (2007a) Behavioral dopamine signals. *Trends Neurosci* 30:203-210.

- Schultz W (2007b) Multiple dopamine functions at different time courses. *Annual Review of Neuroscience* 30:259-288.
- See RE, Chapman MA, Meshul CK (1992) Comparison of chronic intermittent haloperidol and raclopride effects on striatal dopamine release and synaptic ultrastructure in rats. *Synapse* 12:147-154.
- Seeman P (2002) Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry* 47:27-38.
- Seeman P, Lee T (1975) Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. *Science* 188:1217-1219.
- Shalizi A, Gaudilliere B, Yuan Z, Stegmuller J, Shirogane T, Ge Q, Tan Y, Schulman B, Harper JW, Bonni A (2006) A calcium-regulated MEF2 sumoylation switch controls postsynaptic differentiation. *Science* 311:1012-1017.
- Shen W, Flajolet M, Greengard P, Surmeier DJ (2008) Dichotomous dopaminergic control of striatal synaptic plasticity. *Science* 321:848-851.
- Shen W, Tian X, Day M, Ulrich S, Tkatch T, Nathanson NM, Surmeier DJ (2007) Cholinergic modulation of Kir2 channels selectively elevates dendritic excitability in striatopallidal neurons. *Nature neuroscience* 10:1458-1466.
- Short JL, Ledent C, Borrelli E, Drago J, Lawrence AJ (2006) Genetic interdependence of adenosine and dopamine receptors: evidence from receptor knockout mice. *Neuroscience* 139:661-670.
- Sibley DR, Monsma FJ, Jr. (1992) Molecular biology of dopamine receptors. *Trends Pharmacol Sci* 13:61-69.
- Sills TL, Azampanah A, Fletcher PJ (2001) The adenosine A2A agonist CGS 21680 reverses the reduction in prepulse inhibition of the acoustic startle response induced by phencyclidine, but not by apomorphine and amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 156:187-193.
- Sitskoorn MM, Aleman A, Ebisch SJ, Appels MC, Kahn RS (2004) Cognitive deficits in relatives of patients with schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res* 71:285-295.
- Sladeczek F, Pin JP, Recasens M, Bockaert J, Weiss S (1985) Glutamate stimulates inositol phosphate formation in striatal neurones. *Nature* 317:717-719.
- Smith Y, Raju DV, Pare JF, Sidibe M (2004) The thalamostriatal system: a highly specific network of the basal ganglia circuitry. *Trends Neurosci* 27:520-527.

- Smith Y, Surmeier DJ, Redgrave P, Kimura M (2011) Thalamic contributions to Basal Ganglia-related behavioral switching and reinforcement. *J Neurosci* 31:16102-16106.
- Smith Y, Bennett BD, Bolam JP, Parent A, Sadikot AF (1994) Synaptic Relationships between Dopaminergic Afferents and Cortical or Thalamic Input in the Sensorimotor Territory of the Striatum in Monkey. *Journal of Comparative Neurology* 344:1-19.
- Soghomonian JJ, Descarries L, Watkins KC (1989) Serotonin innervation in adult rat neostriatum. II. Ultrastructural features: a radioautographic and immunocytochemical study. *Brain Res* 481:67-86.
- St-Hilaire M, Landry E, Levesque D, Rouillard C (2003) Denervation and repeated L-DOPA induce a coordinate expression of the transcription factor NGFI-B in striatal projection pathways in hemi-parkinsonian rats. *Neurobiol Dis* 14:98-109.
- Standaert DG, Testa CM, Young AB, Penney JB, Jr. (1994) Organization of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor gene expression in the basal ganglia of the rat. *J Comp Neurol* 343:1-16.
- Standaert DG, Friberg IK, Landwehrmeyer GB, Young AB, Penney JB, Jr. (1999) Expression of NMDA glutamate receptor subunit mRNAs in neurochemically identified projection and interneurons in the striatum of the rat. *Brain Res Mol Brain Res* 64:11-23.
- Steiner H, Gerfen CR (1998) Role of dynorphin and enkephalin in the regulation of striatal output pathways and behavior. *Exp Brain Res* 123:60-76.
- Stoof JC, Kebabian JW (1981) Opposing roles for D-1 and D-2 dopamine receptors in efflux of cyclic AMP from rat neostriatum. *Nature* 294:366-368.
- Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC (2003) Schizophrenia as a complex trait - Evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch Gen Psychiat* 60:1187-1192.
- Sun X, Zhao Y, Wolf ME (2005) Dopamine receptor stimulation modulates AMPA receptor synaptic insertion in prefrontal cortex neurons. *J Neurosci* 25:7342-7351.
- Surmeier DJ, Song WJ, Yan Z (1996) Coordinated expression of dopamine receptors in neostriatal medium spiny neurons. *J Neurosci* 16:6579-6591.
- Surmeier DJ, Carrillo-Reid L, Vargas J (2011) Dopaminergic modulation of striatal neurons, circuits, and assemblies. *Neuroscience*.

- Surmeier DJ, Ding J, Day M, Wang Z, Shen W (2007) D1 and D2 dopamine-receptor modulation of striatal glutamatergic signaling in striatal medium spiny neurons. *Trends Neurosci* 30:228-235.
- Svenningsson P, Nomikos GG, Fredholm BB (1995) Biphasic changes in locomotor behavior and in expression of mRNA for NGFI-A and NGFI-B in rat striatum following acute caffeine administration. *J Neurosci* 15:7612-7624.
- Svenningsson P, Nomikos GG, Ongini E, Fredholm BB (1997) Antagonism of adenosine A2A receptors underlies the behavioural activating effect of caffeine and is associated with reduced expression of messenger RNA for NGFI-A and NGFI-B in caudate-putamen and nucleus accumbens. *Neuroscience* 79:753-764.
- Svenningsson P, Nishi A, Fisone G, Girault JA, Nairn AC, Greengard P (2004) DARPP-32: an integrator of neurotransmission. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44:269-296.
- Svenningsson P, Lindskog M, Ledent C, Parmentier M, Greengard P, Fredholm BB, Fisone G (2000) Regulation of the phosphorylation of the dopamine- and cAMP-regulated phosphoprotein of 32 kDa in vivo by dopamine D1, dopamine D2, and adenosine A2A receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:1856-1860.
- Svensson TH (2003) Alpha-adrenoceptor modulation hypothesis of antipsychotic atypicality. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27:1145-1158.
- Tallaksen-Greene SJ, Kaatz KW, Romano C, Albin RL (1998) Localization of mGluR1a-like immunoreactivity and mGluR5-like immunoreactivity in identified populations of striatal neurons. *Brain Res* 780:210-217.
- Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA (2008) Schizophrenia, "Just the Facts" What we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. *Schizophr Res* 102:1-18.
- Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS (2009) Schizophrenia, "just the facts" 4. Clinical features and conceptualization. *Schizophr Res* 110:1-23.
- Tepper JM, Bolam JP (2004) Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr Opin Neurobiol* 14:685-692.
- Thorn CA, Graybiel AM (2010) Pausing to regroup: thalamic gating of cortico-basal ganglia networks. *Neuron* 67:175-178.
- Tian X, Kai L, Hockberger PE, Wokosin DL, Surmeier DJ (2010) MEF-2 regulates activity-dependent spine loss in striatopallidal medium spiny neurons. *Molecular and cellular neurosciences* 44:94-108.
- Toth M (2003) 5-HT1A receptor knockout mouse as a genetic model of anxiety. *Eur J Pharmacol* 463:177-184.

- Tozzi A, de Iure A, Di Filippo M, Tantucci M, Costa C, Borsini F, Ghiglieri V, Giampa C, Fusco FR, Picconi B, Calabresi P (2011) The Distinct Role of Medium Spiny Neurons and Cholinergic Interneurons in the D2/A2A Receptor Interaction in the Striatum: Implications for Parkinson's Disease. *J Neurosci* 31:1850-1862.
- Travis MJ, Busatto GF, Pilowsky LS, Kerwin RW, Mulligan R, Gacinovic S, Costa DC, Ell PJ, Mertens J, Terriere D (1997) Serotonin: 5-HT_{2A} receptor occupancy in vivo and response to the new antipsychotics olanzapine and sertindole. *Br J Psychiatry* 171:290-291.
- Turrone P, Remington G, Nobrega JN (2002) The vacuous chewing movement (VCM) model of tardive dyskinesia revisited: is there a relationship to dopamine D₂ receptor occupancy? *Neurosci Biobehav Rev* 26:361-380.
- Uranova NA, Orlovskaya DD, Apel K, Klintsova AJ, Haselhorst U, Schenk H (1991) Morphometric study of synaptic patterns in the rat caudate nucleus and hippocampus under haloperidol treatment. *Synapse* 7:253-259.
- Urban JD, Clarke WP, von Zastrow M, Nichols DE, Kobilka B, Weinstein H, Javitch JA, Roth BL, Christopoulos A, Sexton PM, Miller KJ, Spedding M, Mailman RB (2007) Functional selectivity and classical concepts of quantitative pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 320:1-13.
- Usiello A, Baik JH, Rouge-Pont F, Picetti R, Dierich A, LeMeur M, Piazza PV, Borrelli E (2000) Distinct functions of the two isoforms of dopamine D₂ receptors. *Nature* 408:199-203.
- Valjent E, Corvol JC, Trzaskos JM, Girault JA, Herve D (2006) Role of the ERK pathway in psychostimulant-induced locomotor sensitization. *BMC Neurosci* 7:20.
- Valjent E, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Fisone G, Girault JA (2009) Looking BAC at striatal signaling: cell-specific analysis in new transgenic mice. *Trends Neurosci* 32:538-547.
- Valjent E, Corvol JC, Pages C, Besson MJ, Maldonado R, Caboche J (2000) Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. *J Neurosci* 20:8701-8709.
- Valjent E, Bertran-Gonzalez J, Bowling H, Lopez S, Santini E, Matamales M, Bonito-Oliva A, Herve D, Hoeffler C, Klann E, Girault JA, Fisone G (2011) Haloperidol Regulates the State of Phosphorylation of Ribosomal Protein S6 via Activation of PKA and Phosphorylation of DARPP-32. *Neuropsychopharmacology* 36:2561-2570.
- Valjent E, Pascoli V, Svenningsson P, Paul S, Enslin H, Corvol JC, Stipanovich A, Caboche J, Lombroso PJ, Nairn AC, Greengard P, Herve D, Girault JA (2005)

- Regulation of a protein phosphatase cascade allows convergent dopamine and glutamate signals to activate ERK in the striatum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:491-496.
- Voorn P, Vanderschuren LJ, Groenewegen HJ, Robbins TW, Pennartz CM (2004) Putting a spin on the dorsal-ventral divide of the striatum. *Trends Neurosci* 27:468-474.
- Wadenberg ML, Wiker C, Svensson TH (2007) Enhanced efficacy of both typical and atypical antipsychotic drugs by adjunctive alpha2 adrenoceptor blockade: experimental evidence. *Int J Neuropsychopharmacol* 10:191-202.
- Wadenberg ML, Hicks PB, Richter JT, Young KA (1998) Enhancement of antipsychoticlike properties of raclopride in rats using the selective serotonin2A receptor antagonist MDL 100,907. *Biol Psychiatry* 44:508-515.
- Wadenberg ML, Soliman A, VanderSpek SC, Kapur S (2001) Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. *Neuropsychopharmacology* 25:633-641.
- Wall M, Dale N (2008) Activity-dependent release of adenosine: a critical re-evaluation of mechanism. *Current neuropharmacology* 6:329-337.
- Wang H, Pickel VM (2002) Dopamine D2 receptors are present in prefrontal cortical afferents and their targets in patches of the rat caudate-putamen nucleus. *J Comp Neurol* 442:392-404.
- Wang Z, Benoit G, Liu J, Prasad S, Aarnisalo P, Liu X, Xu H, Walker NP, Perlmann T (2003) Structure and function of Nurr1 identifies a class of ligand-independent nuclear receptors. *Nature* 423:555-560.
- Wang Z, Kai L, Day M, Ronesi J, Yin HH, Ding J, Tkatch T, Lovinger DM, Surmeier DJ (2006) Dopaminergic control of corticostriatal long-term synaptic depression in medium spiny neurons is mediated by cholinergic interneurons. *Neuron* 50:443-452.
- Ward RP, Dorsa DM (1996) Colocalization of serotonin receptor subtypes 5-HT2A, 5-HT2C, and 5-HT6 with neuropeptides in rat striatum. *J Comp Neurol* 370:405-414.
- Wardas J, Konieczny J, Pietraszek M (2003a) Influence of CGS 21680, a selective adenosine A(2A) agonist, on the phencyclidine-induced sensorimotor gating deficit and motor behaviour in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:299-306.
- Wardas J, Pietraszek M, Dziedzicka-Wasylewska M (2003b) SCH 58261, a selective adenosine A2A receptor antagonist, decreases the haloperidol-enhanced proenkephalin mRNA expression in the rat striatum. *Brain Res* 977:270-277.

- Werme M, Ringholm A, Olson L, Brene S (2000) Differential patterns of induction of NGFI-B, *Nor1* and *c-fos* mRNAs in striatal subregions by haloperidol and clozapine. *Brain Res* 863:112-119.
- Wickens JR (2009) Synaptic plasticity in the basal ganglia. *Behav Brain Res* 199:119-128.
- Wilson CJ (2004) Basal Ganglia. In: *The Synaptic Organization of the brain*, 5th edition (Shepherd GM, ed), pp 361-414. Oxford: Oxford University Press.
- Wilson CJ, Kawaguchi Y (1996) The origins of two-state spontaneous membrane potential fluctuations of neostriatal spiny neurons. *J Neurosci* 16:2397-2410.
- Wilson TE, Fahrner TJ, Johnston M, Milbrandt J (1991) Identification of the DNA binding site for NGFI-B by genetic selection in yeast. *Science* 252:1296-1300.
- Winder DG, Sweatt JD (2001) Roles of serine/threonine phosphatases in hippocampal synaptic plasticity. *Nature reviews Neuroscience* 2:461-474.
- Wingate AD, Campbell DG, Pegg M, Arthur JS (2006) Nur77 is phosphorylated in cells by RSK in response to mitogenic stimulation. *Biochem J* 393:715-724.
- Woolfrey KM, Srivastava DP, Photowala H, Yamashita M, Barbolina MV, Cahill ME, Xie Z, Jones KA, Quilliam LA, Prakriya M, Penzes P (2009) Epac2 induces synapse remodeling and depression and its disease-associated forms alter spines. *Nature neuroscience* 12:1275-1284.
- Woolley ML, Pemberton DJ, Bate S, Corti C, Jones DN (2008) The mGlu2 but not the mGlu3 receptor mediates the actions of the mGluR2/3 agonist, LY379268, in mouse models predictive of antipsychotic activity. *Psychopharmacology (Berl)* 196:431-440.
- Wright DE, Seroogy KB, Lundgren KH, Davis BM, Jennes L (1995) Comparative localization of serotonin1A, 1C, and 2 receptor subtype mRNAs in rat brain. *J Comp Neurol* 351:357-373.
- Xing G, Zhang L, Russell S, Post R (2006) Reduction of dopamine-related transcription factors *Nurr1* and NGFI-B in the prefrontal cortex in schizophrenia and bipolar disorders. *Schizophr Res* 84:36-56.
- Yamakura T, Shimoji K (1999) Subunit- and site-specific pharmacology of the NMDA receptor channel. *Prog Neurobiol* 59:279-298.
- Yan Z, Surmeier DJ (1996) Muscarinic (m2/m4) receptors reduce N- and P-type Ca²⁺ currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a fast, membrane-delimited, G-protein pathway. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* 16:2592-2604.

- Yan Z, Song WJ, Surmeier DJ (1997) D-2 dopamine receptors reduce N-type Ca²⁺ currents in rat neostriatal cholinergic interneurons through a membrane-delimited, protein-kinase-C-insensitive pathway. *Journal of Neurophysiology* 77:1003-1015.
- Yan Z, Flores-Hernandez J, Surmeier DJ (2001) Coordinated expression of muscarinic receptor messenger RNAs in striatal medium spiny neurons. *Neuroscience* 103:1017-1024.
- Yin HH, Lovinger DM (2006) Frequency-specific and D2 receptor-mediated inhibition of glutamate release by retrograde endocannabinoid signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:8251-8256.
- Yoon JK, Lau LF (1993) Transcriptional activation of the inducible nuclear receptor gene *nur77* by nerve growth factor and membrane depolarization in PC12 cells. *J Biol Chem* 268:9148-9155.
- Youn HD, Liu JO (2000) Cabin1 represses MEF2-dependent Nur77 expression and T cell apoptosis by controlling association of histone deacetylases and acetylases with MEF2. *Immunity* 13:85-94.
- Youn HD, Sun L, Prywes R, Liu JO (1999) Apoptosis of T cells mediated by Ca²⁺-induced release of the transcription factor MEF2. *Science* 286:790-793.
- Yui K, Ikemoto S, Ishiguro T, Goto K (2000) Studies of amphetamine or methamphetamine psychosis in Japan: relation of methamphetamine psychosis to schizophrenia. *Ann N Y Acad Sci* 914:1-12.
- Yung KK, Bolam JP, Smith AD, Hersch SM, Ciliax BJ, Levey AI (1995) Immunocytochemical localization of D1 and D2 dopamine receptors in the basal ganglia of the rat: light and electron microscopy. *Neuroscience* 65:709-730.
- Zetterstrom RH, Williams R, Perlmann T, Olson L (1996a) Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res Mol Brain Res* 41:111-120.
- Zetterstrom RH, Solomin L, Mitsiadis T, Olson L, Perlmann T (1996b) Retinoid X receptor heterodimerization and developmental expression distinguish the orphan nuclear receptors NGFI-B, Nurr1, and Nor1. *Mol Endocrinol* 10:1656-1666.
- Zetterstrom RH, Solomin L, Jansson L, Hoffer BJ, Olson L, Perlmann T (1997) Dopamine neuron agenesis in Nurr1-deficient mice. *Science* 276:248-250.

