



HAL
open science

Implication du récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A} dans l'apparition de symptômes négatifs au sein d'un modèle neurodéveloppemental préclinique de schizophrénie

Camille Coudert

► **To cite this version:**

Camille Coudert. Implication du récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A} dans l'apparition de symptômes négatifs au sein d'un modèle neurodéveloppemental préclinique de schizophrénie. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03041054

HAL Id: dumas-03041054

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03041054>

Submitted on 4 Dec 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - ShareAlike 4.0 International License

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER
FACULTÉ DE MÉDECINE MONTPELLIER-NIMES

THÈSE

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Camille COUDERT

Le 08/10/20

Implication du récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A} dans l'apparition
de symptômes négatifs au sein d'un modèle neurodéveloppemental
préclinique de schizophrénie

Directrice de thèse : Professeur CAPDEVIELLE Delphine

JURY

Président du jury : Professeur SÉBASTIEN Guillaume

Assesseurs :

Professeur COURTET Philippe

Professeur CAPDEVIELLE Delphine

Docteur LARUE Aurore

Membre invité :

Docteur BECAMEL Carine Maître de Conférences Universitaires de
neurosciences

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER
FACULTÉ DE MÉDECINE MONTPELLIER-NIMES

THÈSE

Pour obtenir le titre de

DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement

Par

Camille COUDERT

Le 08/10/20

Implication du récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A} dans l'apparition
de symptômes négatifs au sein d'un modèle neurodéveloppemental
préclinique de schizophrénie

Directrice de thèse : Professeur CAPDEVIELLE Delphine

JURY

Président du jury : Professeur SÉBASTIEN Guillaume

Assesseurs :

Professeur COURTET Philippe

Professeur CAPDEVIELLE Delphine

Docteur LARUE Aurore

Membre invité :

Docteur BECAMEL Carine Maître de Conférences Universitaires de
neurosciences

Personnel Enseignant

ANNEE UNIVERSITAIRE 2019 –2020

Professeurs Honoraires

ALLIEU Yves	CALLIS Albert	JAFFIOL Claude	NAVRATIL Henri
ALRIC Robert	CANAUD Bernard	JANBON Charles	OTHONIEL Jacques
ARNAUD Bernard	CHAPTAL Paul-André	JANBON François	PAGES Michel
ASTRUC Jacques	CIURANA Albert-Jean	JARRY Daniel	PEGURET Claude
AUSSILLOUX Charles	CLOT Jacques	JOURDAN Jacques	PELISSIER Jacques
AVEROUS Michel	COSTA Pierre	LAFFARGUE François	POUGET Régis
AYRAL Guy	D'ATHIS Françoise	LALLEMANT Jean Gabriel	PUJOL Henri
BAILLAT Xavier	DEMAILLE Jacques	LAMARQUE Jean-Louis	RABISCHONG Pierre
BALDET Pierre	DESCOMPS Bernard	LAPEYRIE Henri	RAMUZ Michel
BALDY-MOULINIER Michel	DIMEGLIO Alain	LE QUELLEC Alain	RIEU Daniel
BALMES Jean-Louis	DUBOIS Jean Bernard	LESBROS Daniel	ROCHEFORT Henri
BALMES Pierre	DUJOLS Pierre	LOPEZ François Michel	ROUANET DE VIGNE LAVIT Jean Pierre
BANSARD Nicole	DUMAS Robert	LORIOT Jean	SAINTE AUBERT Bernard
BAYLET René	DUMAZER Romain	LOUBATIERES Marie Madeleine	SANCHO-GARNIER Hélène
BILLIARD Michel	ECHENNE Bernard	MAGNAN DE BORNIER Bernard	SANY Jacques
BLARD Jean-Marie	FABRE Serge	MARY Henri	SEGNARBIEUX François
BLAYAC Jean Pierre	FREREBEAU Philippe	MATHIEU-DAUDE Pierre	SENAC Jean-Paul
BLOTMAN Francis	GALIFER René Benoît	MEYNADIER Jean	SERRE Arlette
BONNEL François	GODLEWSKI Guilhem	MICHEL François-Bernard	SOLASSOL Claude
BOURGEOIS Jean-Marie	GRASSET Daniel	MION Charles	THEVENET André
BRUEL Jean Michel	GUILHOU Jean- Jacques	MION Henri	VIDAL Jacques
BUREAU Jean-Paul	HERTAULT Jean	MIRO Luis	VISIER Jean Pierre
BRUNEL Michel	HUMEAU Claude	NAVARRO Maurice	

Professeurs Emérites

ARTUS Jean-Claude	MARES Pierre
BLANC François	MAUDELONDE Thierry
BOULENGER Jean-Philippe	MAURY Michèle
BOURREL Gérard	MILLAT Bertrand
BRINGER Jacques	MONNIER Louis
CLAUSTRES Mireille	MOURAD Georges
DAURES Jean-Pierre	PREFAUT Christian
DAUZAT Michel	PUJOL Rémy
DAVY Jean-Marc	RIBSTEIN Jean
DEDET Jean-Pierre	SCHVED Jean-François
ELEDJAM Jean-Jacques	SULTAN Charles
GROLLEAU RAOUX Robe	TOUCHON Jacques
GUERRIER Bernard	UZIEL Alain
GUILLOT Bernard	VOISIN Michel
LANDAIS Paul	ZANCA Michel

Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

PU-PH de classe exceptionnelle

ALBAT Bernard	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
ALRIC Pierre	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
BACCINO Eric	Médecine légale et droit de la santé
BASTIEN Patrick	Parasitologie et mycologie
BLAIN Hubert	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
BONAFE Alain	Radiologie et imagerie médicale
CAPDEVILA Xavier	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CHAMMAS Michel	Chirurgie orthopédique et traumatologique
COLSON Pascal	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
COMBE Bernard	Rhumatologie
COTTALORDA Jérôme	Chirurgie infantile
COUBES Philippe	Neurochirurgie
COURTET Philippe	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
CRAMPETTE Louis	Oto-rhino-laryngologie
CRISTOL Jean Paul	Biochimie et biologie moléculaire
DE LA COUSSAYE Jean Emmanuel	Médecine d'urgence
DE WAZIERES Benoît	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
DELAPORTE Eric	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
DEMOLY Pascal	Pneumologie ; addictologie
DOMERGUE Jacques	Chirurgie viscérale et digestive
DUFFAU Hugues	Neurochirurgie
ELIAOU Jean François	Immunologie
FABRE Jean Michel	Chirurgie viscérale et digestive
FRAPIER Jean-Marc	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
HAMAMAH Samir	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale

HEDON Bernard	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
HERISSON Christian	Médecine physique et de réadaptation
JABER Samir	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
JEANDEL Claude	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
JONQUET Olivier	Médecine intensive-réanimation
JORGENSEN Christian	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
KOTZKI Pierre Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
LABAUGE Pierre	Neurologie
LARREY Dominique	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
LEFRANT Jean-Yves	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
LUMBROSO Serge	Biochimie et Biologie moléculaire
MARTY-ANE Charles	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
MERCIER Jacques	Physiologie
MESSNER Patrick	Cardiologie
MONDAIN Michel	Oto-rhino-laryngologie
MORIN Denis	Pédiatrie
PAGEAUX Georges-Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
PUJOL Pascal	Biologie cellulaire
QUERE Isabelle	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
RENARD Eric	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
REYNES Jacques	Maladies infectieuses, maladies tropicales
RIPART Jacques	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
ROUANET Philippe	Cancérologie ; radiothérapie
SOTTO Albert	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
TAOUREL Patrice	Radiologie et imagerie médicale
VANDE PERRE Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
YCHOU Marc	Cancérologie ; radiothérapie

PU-PH de 1^{re} classe

AGUILAR MARTINEZ Patricia	Hématologie ; transfusion
ASSENAT Éric	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
AVIGNON Antoine	Nutrition
AZRIA David	Cancérologie ; radiothérapie
BAGHDADLI Amaria	Pédopsychiatrie ; addictologie
BEREGI Jean-Paul	Radiologie et imagerie médicale
BLANC Pierre	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
BORIE Frédéric	Chirurgie viscérale et digestive
BOULOT Pierre	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
CAMBONIE Gilles	Pédiatrie
CAMU William	Neurologie
CANOVAS François	Anatomie
CAPTIER Guillaume	Anatomie
CARTRON Guillaume	Hématologie ; transfusion
CAYLA Guillaume	Cardiologie
CHANQUES Gérald	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
CORBEAU Pierre	Immunologie
COSTES Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
COULET Bertrand	Chirurgie orthopédique et traumatologique
CYTEVAL Catherine	Radiologie et imagerie médicale
DADURE Christophe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAUVILLIERS Yves	Physiologie
DE TAYRAC Renaud	Gynécologie-obstétrique, gynécologie médicale
DE VOS John	Histologie, embryologie et cytogénétique
DEMARIA Roland	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

DEREURE Olivier	Dermatologie - vénéréologie
DROUPY Stéphane	Urologie
DUCROS Anne	Neurologie
DUPEYRON Arnaud	Médecine physique et de réadaptation
FESLER Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
GARREL Renaud	Oto-rhino-laryngologie
GENEVIEVE David	Génétique
HAYOT Maurice	Physiologie
KLOUCHE Kada	Médecine intensive-réanimation
KOENIG Michel	Génétique
LAFFONT Isabelle	Médecine physique et de réadaptation
LAVABRE-BERTRAND Thierry	Histologie, embryologie et cytogénétique
LAVIGNE Jean-Philippe	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
LE MOING Vincent	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
LECLERCQ Florence	Cardiologie
LEHMANN Sylvain	Biochimie et biologie moléculaire
MARIANO-GOULART Denis	Biophysique et médecine nucléaire
MATECKI Stéfan	Physiologie
MEUNIER Laurent	Dermato-vénéréologie
MOREL Jacques	Rhumatologie
NAVARRO Francis	Chirurgie viscérale et digestive
NOCCA David	Chirurgie viscérale et digestive
PETIT Pierre	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PERNEY Pascal	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
PRUDHOMME Michel	Anatomie
PUJOL Jean Louis	Pneumologie ; addictologie
PURPER-OUAKIL Diane	Pédopsychiatrie ; addictologie

TOUITOU Isabelle	Génétique
TRAN Tu-Anh	Pédiatrie
VERNHET Hélène	Radiologie et imagerie médicale

PU-PH de 2ème classe

BOURDIN Arnaud	Pneumologie ; addictologie
CANAUD Ludovic	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option chirurgie vasculaire)
CAPDEVIELLE Delphine	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
CLARET Pierre-Géraud	Médecine d'urgence
COLOMBO Pierre-Emmanuel	Cancérologie ; radiothérapie
COSTALAT Vincent	Radiologie et imagerie médicale
CUVILLON Philippe	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DAIEN Vincent	Ophtalmologie
DORANDEU Anne	Médecine légale et droit de la santé
FAILLIE Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
FUCHS Florent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
GABELLE DELOUSTAL Audrey	Neurologie
GAUJOUX Viala Cécile	Rhumatologie
GODREUIL Sylvain	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
GUILLAUME Sébastien	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
GUILPAIN Philippe	Médecine Interne, gériatrie et biologie du vieillissement; addictologie
GUIU Boris	Radiologie et imagerie médicale
HERLIN Christian	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique, brulologie
HOUEDE Nadine	Cancérologie ; radiothérapie
JACOT William	Cancérologie ; Radiothérapie
JUNG Boris	Médecine intensive-réanimation
KALFA Nicolas	Chirurgie infantile

KOUYOUMDJIAN Pascal	Chirurgie orthopédique et traumatologique
LACHAUD Laurence	Parasitologie et mycologie
LALLEMANT Benjamin	Oto-rhino-laryngologie
LE QUINTREC DONNETTE Moglie	Néphrologie
LETOUZEY Vincent	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
LONJON Nicolas	Neurochirurgie
LOPEZ CASTROMAN Jorge	Psychiatrie d'Adultes ; addictologie
LUKAS Cédric	Rhumatologie
MAURY Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
MILLET Ingrid	Radiologie et imagerie médicale
MORANNE Olivier	Néphrologie
MURA Thibault	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
NAGOT Nicolas	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de la communication
PANARO Fabrizio	Chirurgie viscérale et digestive
PARIS Françoise	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
PASQUIE Jean-Luc	Cardiologie
PELLESTOR Franck	Histologie, embryologie et cytogénétique
PEREZ MARTIN Antonia	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire (option médecine vasculaire)
POUDEROUX Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
RIGAU Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
RIVIER François	Pédiatrie
ROGER Pascal	Anatomie et cytologie pathologiques
ROSSI Jean François	Hématologie ; transfusion
ROUBILLE François	Cardiologie
SEBBANE Mustapha	Médecine d'urgence
SIRVENT Nicolas	Pédiatrie
SOLASSOL Jérôme	Biologie cellulaire

STOEBNER Pierre	Dermato-vénéréologie
SULTAN Ariane	Nutrition
THOUVENOT Éric	Neurologie
THURET Rodolphe	Urologie
VENAIL Frédéric	Oto-rhino-laryngologie
VILLAIN Max	Ophtalmologie
VINCENT Denis	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement, médecine générale, addictologie
VINCENT Thierry	Immunologie
WOJTUSCISZYN Anne	Endocrinologie-diabétologie-nutrition

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

1^{re} classe :

COLINGE Jacques (Cancérologie, Signalisation cellulaire et systèmes complexes)

2^{ème} classe :

LAOUDJ CHENIVESSE Dalila (Biochimie et biologie moléculaire)

VISIER Laurent (Sociologie, démographie)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - Médecine générale

1^{re} classe :

LAMBERT Philippe

2^{ème} classe :

AMOUYAL Michel

PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine Générale

CLARY Bernard

DAVID Michel

GARCIA Marc

PROFESSEURS ASSOCIES - Médecine

BESSIS Didier (Dermato-vénérologie)

MEUNIER Isabelle (Ophtalmologie)

MULLER Laurent (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

PERRIGAULT Pierre-François (Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire)

QUANTIN Xavier (Pneumologie)

ROUBERTIE Agathe (Pédiatrie)

VIEL Eric (Soins palliatifs et traitement de la douleur)

Maîtres de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

MCU-PH Hors classe

BADIOU Stéphanie	Biochimie et biologie moléculaire
BOULLE Nathalie	Biologie cellulaire
CACHEUX-RATABOUL Valère	Génétique
CARRIERE Christian	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
CHARACHON Sylvie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
FABBRO-PERAY Pascale	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
GIANSILY-BLAIZOT Muriel	Hématologie ; transfusion
HILLAIRE-BUYS Dominique	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
PUJOL Joseph	Anatomie
RICHARD Bruno	Médecine palliative
RISPAIL Philippe	Parasitologie et mycologie
SEGONDY Michel	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

MCU-PH de 1^{re} classe

BERTRAND Martin	Anatomie
BOUDOUSQ Vincent	Biophysique et médecine nucléaire
BOURGIER Céline	Cancérologie ; Radiothérapie
BRET Caroline	Hématologie biologique
COSSEE Mireille	Génétique
GIRARDET-BESSIS Anne	Biochimie et biologie moléculaire
LAVIGNE Géraldine	Hématologie ; transfusion
LESAGE François-Xavier	Médecine et Santé au Travail
MATHIEU Olivier	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
MENJOT de CHAMPFLEUR Nicolas	Radiologie et imagerie médicale
MOUZAT Kévin	Biochimie et biologie moléculaire
OLIE Emilie	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
PANABIERES Catherine	Biologie cellulaire
PHILIBERT Pascal	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
RAVEL Christophe	Parasitologie et mycologie
SCHUSTER-BECK Iris	Physiologie
STERKERS Yvon	Parasitologie et mycologie
THEVENIN-RENE Céline	Immunologie
TUAILLON Edouard	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

MCU-PH de 2^{ème} classe

CHIRIAC Anca	Immunologie
DE JONG Audrey	Anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
DU THANH Aurélie	Dermato-vénéréologie
GOUZI Farès	Physiologie

HERRERO Astrid	Chirurgie viscérale et digestive
JEZIORSKI Éric	Pédiatrie
KUSTER Nils	Biochimie et biologie moléculaire
MAKINSON Alain	Maladies infectieuses, Maladies tropicales
PANTEL Alix	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
PERS Yves-Marie	Thérapeutique; addictologie
ROUBILLE Camille	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
SZABLEWSKY	Anatomie et cytologie pathologiques

Maîtres de Conférences des Universités - Médecine Générale

MCU-MG de 1^{re} classe

COSTA David

MCU-MG de 2^{ème} classe

FOLCO-LOGNOS Béatrice

OUDE ENGBERINK Agnès

Maîtres de Conférences associés - Médecine Générale

LOPEZ Antonio

MILLION Elodie

PAVAGEAU Sylvain

REBOUL Marie-Catherine

SERAYET Philippe

Praticiens Hospitaliers Universitaires

BARATEAU Lucie	Physiologie
BASTIDE Sophie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
DAIEN Claire	Rhumatologie
GATINOIS Vincent	Histologie, embryologie et cytogénétique
GOULABCHAND Radjiv	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
LATTUCA Benoit	Cardiologie
MIOT Stéphanie	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie
PINETON DE CHAMBRUN Guillaume	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
SOUCHE François-Régis	Chirurgie viscérale et digestive

Remerciements

À mes maitres

Je remercie tout d'abord le professeur Sébastien Guillaume d'avoir accepté de présider mon jury de thèse, merci pour vos enseignements.

Je remercie également la professeur Delphine Capdevielle d'avoir accepté d'être ma directrice de Thèse, merci pour vos enseignements et conseils, et merci de m'avoir proposé un poste de Chef de Clinique à l'issue de cet internat.

Je remercie le professeur Courtet d'avoir accepté de faire partie de mon jury, et merci pour votre soutien et vos enseignements à la fois durant l'internat en tant que coordonnateur du DES, mais aussi en tant qu'enseignant durant le master de neurosciences

Je te remercie Dr Aurore Larue de m'avoir accueillie à l'unité D durant la première année de mon internat, de m'avoir non seulement appris mon métier, mais aussi donné l'envie d'aller plus loin. Je n'en serais pas là aujourd'hui sans tes conseils.

Et infiniment merci à toi Dr Carine Bécamel, pour m'avoir accueillie au sein de ton équipe, de m'avoir tant appris. Merci pour ta patience, ta pédagogie, ton enthousiasme et ta gentillesse (même quand je ne prends pas les bonnes zones cérébrales en photo au microscope).

À mes différents chefs ici et d'ailleurs

Merci à toi, Dr Thomas Gibon, merci à ton investissement, ton empathie. Merci d'avoir voulu étendre mes horizons et ma pensée, en plus de m'avoir appris à faire des entretiens et des certificats que tu ne corrigais « presque » pas. Je crois que tu es parti en vadrouille je te souhaite le meilleur du monde.

Merci Dr Philippe Raynaud pour cette année passée à l'unité D, à m'avoir montré ce que c'est que l'EMDR, et de m'avoir proposé de faire 400 m de spéléologie dans un tunnel pour vaincre ma claustrophobie. J'ai dû décliner malheureusement.

Merci, Dr Alexandra McGregor pour ce stage à l'Hôpital de Jour Minvielle qui a confirmé mon intérêt croissant envers les troubles psychotiques et sensibilisée à l'idée de réinsertion et de rétablissement.

Merci au Pr Pierre Labauge et à toute l'équipe de la neurologie de m'avoir courageusement accueillie pendant ce hors filière de 6 mois. Merci, Dr Mahmoud C d'avoir été là comme sénior à ma première garde (je ne pleure quasiment plus avant mes gardes maintenant j'ai grandi). Merci aux deux CCA de l'époque, Lucas C et Olivier S, pour m'avoir appris à faire mes premières ponctions lombaires et s'être bien trop moqués de moi devant ma phobie des hyperkaliémies. Merci au Dr Nicolas G de m'avoir payé le petit déjeuner en sortant de garde pour refaire le monde. Merci au Dr Isabelle M de m'avoir témoigné de l'empathie et amené un petit chocolat chaud quand j'étais malade et toute seule pour l'USI. Merci Anaïs L pour ta gentillesse et ta volonté de transmettre. Merci également aux autres, aux Dr Caroline A et Dr Clarisse CD.

Merci à la Dr Hélène Denis de m'avoir appris les rudiments de TCC durant cette année en pédopsy. Merci pour ta détermination, ton honnêteté, et ton humour. Encore félicitations pour cette victoire cette année.

Merci à la Dr Magali Seyller pour cet avant-dernier semestre riche en rebondissements.

Merci à mes autres chefs, à Myrtille pour ta gentillesse et ton écoute. Nicolas merci de nous pousser à exiger le meilleur de nous même et des autres et je vais m'atteler à « choisir mes combats ». Merci, Thibaut, pour tes enseignements et tes conseils pour la future prise de poste. Merci Jérôme, Dr Gelly et Dr Cherif et Dr Portet.

Merci Dr Alexandra Carré pour ce dernier semestre, belle introduction pour les mois qui vont suivre, j'ai hâte de poursuivre cette collaboration.

À l'équipe de l'Institut Génomique Fonctionnelle

Merci au Pr Philippe Marin de m'avoir acceptée au sein de son équipe à l'IGF. Merci aux docteurs en neurosciences, Sylvie, Séverine, Franck, pour leur aides et conseils tant sur le plan théorique et pratique. Merci, Fabrice pour ton aide précieuse durant ce terrible projet fictif. Merci à Angéline pour ta patience et de m'avoir appris les manips, même quand je pète des béchers.

Merci à toi et à Clémentine, Lucile, Vincent, Hugo, pour cette bonne ambiance et votre aide quand j'étais en difficulté.

À mes co internes

À Yohan SCTCHOEBNER déjà merci d'être toi, rayonnant de bonne humeur que cela peut en devenir suspect. Je suis trop contente qu'on devienne CCA ensemble, mais je ne sais pas si le monde est prêt. Je te promets de surveiller tes lithiémies si je peux ranger mon VAE dans ton bureau. En revanche au risque de te paraître « insup » c'est la dernière fois que je te laisse en charge de désamorcer une bombe. Sinon tu vas encore mettre feu au campement.

À Dame Maë de la MENIBUS, vivement que l'on reprenne nos petites après-midi lecture et thé pour se mettre à l'abri de tous ces rustres. Merci d'avoir été ma trésorière et en vrai ma co chef interne. Mais dis à ta moitié Davy qu'on a des LAN à organiser. Et merci pour le cuit-vapeur bien que je préfère les manger chez vous.

À Pru merci à toi et à ton mari astrologue Raph de m'avoir marrainée avant l'oral de l'année recherche, je pense que je l'aurais eu quand même, mais bon il fallait bien que je te remercie de quelque chose ? Vu que vous avez tué mes cactus. Blague à part merci d'avoir été là lors de très longs staffs, d'être toujours de bons conseils même si je te vois quand tu essaies de me TCC en douce. Passe le message à Chat Teigne que si elle ne m'attaque pas, je ferais de même. Cela s'appelle l'équilibre de la terreur. Et merci de ne pas avoir encore fini dans le Lez.

À Chacha, tu te reconvertis dans la récup c'est super, mais j'attends toujours ma table basse. Et pour rappelle ça fait 5 ans qu'on doit aller à Port Aventura ! Je suis contente qu'on soit amies bien après Thuir qui nous aura laissé des souvenirs inoubliables...enfin pour vous moi j'ai un trou noir.

Olaive tu dois bien voir de quoi je parle ? On fait des PETITS punchs ! Pas des pintes !

Gros bisous à Emma E, merci pour ta douceur, ton humour et ta motivation à toute épreuve pour les randonnées. Promis on s'y remet dès qu'on est sortis de là.

Bisous à Pauline B, ma « planète » préférée, je suis contente qu'on ait fait un peu de yoga cet été

bien que tu ne me voyais pas faire cela... Garde cette douceur vaporeuse et ton authenticité avec toi !

Rosa et Perrine, merci d'avoir été mes soutiens pendant ce hors filière et après, quand bien même je suis rustique et ne valide pas toujours les choix musicaux.

Diane et Pauline, les kinases du M2, merci d'avoir été là lors de ces moments de solitude face à la physique du son, des neurones en paniers et autres joyeusetés. J'espère bien qu'on va se retrouver lors de staff neuro psys endiablés.

À mes amis

Herme, je ne sais même pas par où commencer. Qui aurait eu qu'une UE d'éthique aurait débouché sur une si belle amitié. J'ai de la chance d'avoir un tel soutien dans ma vie. J'en ai vu des choses avec toi, entre de beaux paysages, de belles maisons d'architectes... On a une pastilla de revanche à prendre n'oublie pas. Et un éco hameau à construire.

À Seb merci pour tes conseils de biclouteurs, j'ai un VAE du tonnerre maintenant. Mais SURTOUT merci pour ton invention du pain glacière, cela m'a permis de passer l'été caniculaire du sud. Dépose un brevet surtout.

Olive j'aime le fait qu'alors bien que tu considères que cela peut faire partie des « pires nuits de ta vie », tu aies dormi dans ta voiture pour me faire une surprise cette année. Ils sont à fond les cardios 2 ! Alors, fais gaffe à tes coronaires. Embrasse bien Linh Nam pour moi.

Flochot quand bien même certaines photos démontrent son absence, tu es une belle âme, douce, gentille, et tu sais donner de toi-même. J'aime bien aussi quand tu passes Dark Bambi. Fais une grosse biseuh à Maffieuw.

Anne Laure merci pour ces moments uniques avec toi, cette drôlerie inimitable et cette tendresse absolue. Merci pour cet humour sans filtre et ces chansons jamais terminées et si vite oubliées. Hihayhahah. Tiens, mais c'est un clown dans la pénombre derrière le sapin ?

Ma Lucette tu es ma plus vieille amie (oui bien qu'Axelle insiste vu que je ne me souviens pas

d'elle ça ne compte pas). Merci pour les fous rires, tu restes mon meilleur public à mon humour douteux.

Axelle. Ton visage capturé pendant ma chute libre restera à jamais une de mes photos préférées. Désolée de ne pas t'avoir laissé draguer mon frère en canoé quand on avait 8 ans. Merci d'être dans ma vie et désolée de t'avoir fait bousiller autant de voitures. Tu me donneras des nouvelles de Lila à l'ocaz ?

À ma famille

Maman, merci d'avoir été toujours là, et d'avoir toujours tranquillement cru en moi. J'aimerais plus te ressembler sur plein d'aspects, sur ta patience et ta sérénité. Cependant le sens du rythme je vais garder le mien hein, j'aime bien être synchronisée sur le public quand on applaudit. Je t'aime.

Papa merci de m'avoir donné la curiosité scientifique et l'envie de mieux me dépasser. Je t'aime. Merci d'avoir toujours été là, même si je ne sais pas aussi bien remplir un lave-vaisselle que toi. Un jour l'élève dépassera peut-être le maître, mais bon... j'en doute ! (tu as vu mon appart dernièrement ?)

Juju je suis tellement heureuse pour toi, bien que le contexte général soit difficile, je te vois t'épanouir dans plein d'aspects. Je t'aime fort. Mais SURTOUT : Kaamelott le film sort bientôt alors n'allez pas le voir sans moi (sinon je t'aime plus)

Mathilde, tu es comme ma sœur maintenant, je suis contente que tu fasses partie de ma vie. Tu mets des piquants dans nos vies un peu comme... des oursins finalement. Hihi je t'aime fort aussi.

Pierrot bienvenu dans la famille, tu es le premier, tu vas être chouchouté et adoré. J'ai hâte de pouvoir te courir après en faisant le vélociraptor, ce sont les objectifs d'une vie. Je t'aime déjà.

Et merci bien sûr aux autres membres de ma famille, Pascal pour ton humour et tes formidables discours, Laurence pour tes masques faits maison. À Miki mon cousin qui nous a quasiment élevés tandis que nos parents indignes jouaient au tennis. Vince pour les souvenirs de notre

enfance et pour être le meilleur ostéo que je connaisse. Merci, Isou d'être ma marraine, d'avoir été toujours un soutien indéfectible et une force tranquille. Merci, Fanou pour les fous rires et les belles histoires. Je vous aime tous et vous aurez toujours une place à part dans mon cœur et dans ma vie. Et merci à ceux qui sont déjà partis et à qui je pense souvent.

Aux autres

Merci aux autres qui ont croisé ma route et peut-être la recroiseront encore. Merci aux équipes, merci à Muriel qui nous chouchoute encore comme elle peut malgré les restrictions actuelles.

Merci à Alexandra Elbakyan créatrice de sci hub, Robin des bois qui reprend la connaissance aux éditeurs pour la redistribuer à ceux qui en ont besoin.

Merci l'Agence Régionale de Santé de la Région Occitanie pour m'avoir alloué cette bourse année recherche durant l'année universitaire 2018/2019 qui m'a permis de mener à bien ces travaux et à obtenir mon master 2 de neurosciences.

Sommaire

Personnel Enseignant	3
Remerciements	14
Sommaire.....	20
Introduction	21
1) Introduction générale	21
2) Contexte	22
3) Le système sérotoninergique	25
4) Le Cortex préfrontal	27
5) Le système glutamatergique et la plasticité cérébrale	28
6) Le récepteur sérotoninergique 5-HT2A	29
7) Le modèle neurodéveloppemental préclinique de schizophrénie PCP	33
8) Objectifs du stage de master 2	34
Méthodes	36
1) Le modèle utilisé : modèle pharmacologique neurodéveloppemental de schizophrénie	36
2) Expériences de comportement	36
a) Test de nage forcée (Forced Swim Test (FST)).....	36
b) Test de préférence Sucrose (Sucrose Preference Test (SPT)).....	36
3) Immunofluorescence	37
4) Mise au point de l'analyse phosphoprotéomique.....	37
a) Préparation des échantillons fractionnés pré et post synaptiques.....	37
b) Western Blot	38
Résultats	38
1) Les souris PCP présentent un phénotype comportemental dépendant des R5-HT2A....	38
2) Les R5-HT2A sont activés dans le modèle de souris PCP	39
3) Les souris PCP présentent une augmentation de la transmission sérotoninergique.	41
4) Analyse phosphoprotéomique : mise au point.....	42
Discussion.....	43
1) Analyse des résultats et hypothèses physiopathologiques.....	43
2) Forces des travaux présentés	47
3) Limites des travaux présentés	47
4) Ouverture.....	48
Bibliographie	50
Serment d'Hippocrate.....	58
Certificat de Conformité avant soutenance	60
Résumé.....	61

Introduction

1) Introduction générale

La psychiatrie est une spécialité qui bénéficie d'une incroyable richesse de multidisciplinarité tant elle associe à la fois des phénomènes biologiques, environnementaux, sociaux, mais aussi politiques, philosophiques, ethnologiques et phénoménologiques. Néanmoins en tant que discipline médicale et scientifique, on peut considérer qu'il s'agit d'un domaine relativement récent. À ce jour, en dépit d'indéniables progrès en matière de thérapeutiques et de recherches scientifiques, il persiste de très nombreuses zones d'ombres tant sur les mécanismes neurophysiopathologiques sous-tendant l'apparition des pathologies psychiatriques, que par conséquent sur les traitements (pharmacologiques ou non), pouvant soulager les symptômes, et sur la prévention. Cela impacte ainsi inévitablement le regard que porte la population générale, la société et donc la communauté scientifique sur notre spécialité et les patients. La psychiatrie reste en effet à ce jour le parent pauvre de la médecine publique, alors même que cette dernière semble déjà ne pas être la priorité de l'État quant aux financements, ce qui en dit long sur les moyens dont nous disposons actuellement pour soigner nos usagers. Fort de ce constat il devient urgent, parallèlement au développement de stratégies de réinsertion, de prévention et de soins, de poursuivre les avancées scientifiques, notamment fondamentales, en ce qui concerne les pathologies psychiatriques. Ainsi ce sera sur des postulats et hypothèses scientifiques rigoureuses que nous pourrions acquérir les moyens dont nous manquons cruellement.

Dans ce contexte et rapidement au cours de mon internat, j'ai développé un intérêt particulier, d'abord pour la schizophrénie puis pour la discipline des neurosciences fondamentales. Dans un premier temps, j'ai d'abord terminé et obtenu le master 1 Biologie Santé de l'Université de Montpellier. Ensuite, dans l'objectif d'acquérir des connaissances à la fois théoriques et pratiques dans le domaine des neurosciences et de la recherche, j'ai rencontré grâce au Pr Delphine CAPDEVIELLE, le Dr Carine BECAMEL et son équipe « Neuroprotéomique et signalisation des maladies neurologiques et psychiatriques » du département neurosciences de l'Institut Génomique Fonctionnelle (IGF) de Montpellier, dirigée par le Pr Philippe MARIN. Le Dr BECAMEL a accepté de m'accueillir en stage dans cette équipe avec comme objectif initial de travailler sur un projet de phosphoprotéomique, dans l'intention d'éclaircir les liens entre les

récepteurs 5-HT₆ de la sérotonine et la voie mTOR et leur implication dans les déficits cognitifs retrouvés dans la schizophrénie grâce à un modèle préclinique. À la suite de l'obtention de la bourse d'Année Recherche et donc financée par l'Agence Régionale de Santé (ARS), j'ai pu bénéficier d'une pause d'un an entre ma 3^e et 4^e année d'internat, afin d'acquérir le master 2 de neurosciences et réaliser un stage à temps plein de 6 mois à l'IGF. Durant ce stage et au fur et à mesure des résultats obtenus, de nouvelles questions ont été soulevées entraînant d'autres hypothèses à vérifier.

Je vous présente ainsi, dans cette thèse d'exercice, les résultats intermédiaires obtenus durant ce stage. Je vous exposerai dans un premier temps le contexte général des théories de recherche, les voies neuronales et zones cérébrales d'intérêt ainsi que le modèle pré clinique utilisé durant les expériences. Puis vous prendrez connaissance des méthodes utilisées et des résultats obtenus. Enfin, des hypothèses neurophysiopathologiques seront discutées dans la dernière partie, et en conclusion je vous présenterai les expérimentations qu'il serait nécessaire de réaliser afin de confirmer ou infirmer les hypothèses débattues précédemment.

2) Contexte

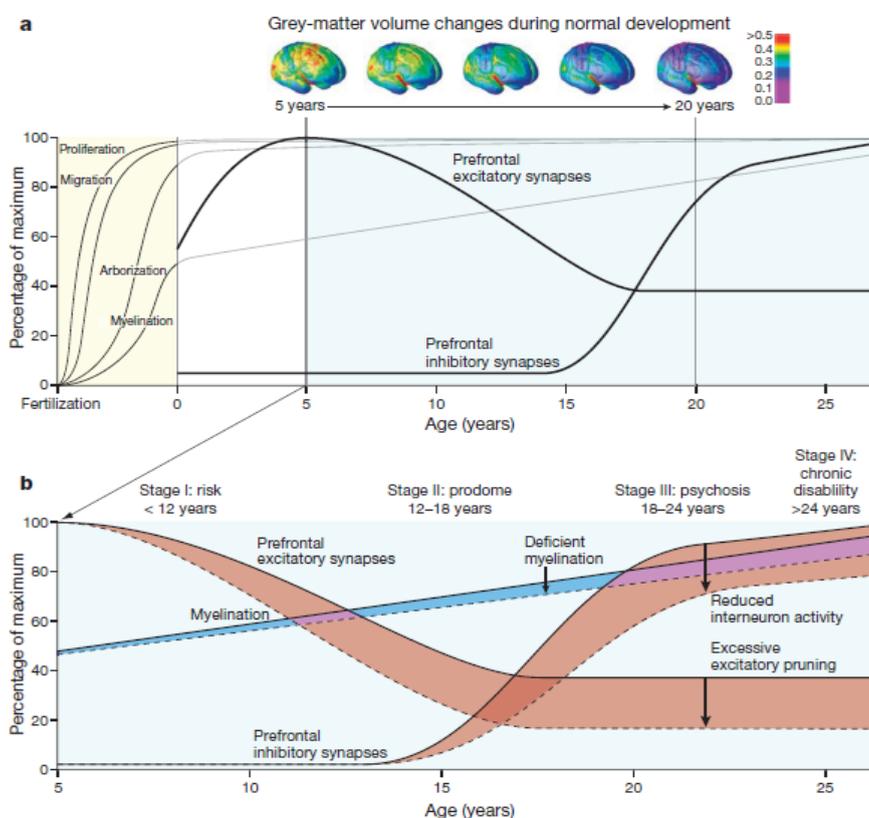


Illustration 1 Insel, T. R. (2010). « Rethinking schizophrenia. » *Nature* 468 (7321): 187. Figure 1 neurodevelopmental model of schizophrenia (5)

La schizophrénie est une pathologie psychiatrique touchant en moyenne 0,8 % de la population générale, représentant ainsi en France environ 600 000 patients. Il existe trois catégories de symptômes : les symptômes dits « positifs », incluant les hallucinations et les éléments délirants, les symptômes « négatifs », à savoir entre autres l’anhédonie, les altérations de la volition, l’asthénie, l’apathie... et enfin les symptômes « cognitifs » notamment des troubles de l’attention et de la mémoire de travail. Ce sont principalement les symptômes cognitifs et négatifs qui sont à l’origine d’un handicap déterminant chez les patients(13), en entravant l’accès à un emploi, le maintien de l’autonomie et en altérant l’insertion socioprofessionnelle. Ils représentent donc un enjeu majeur de Santé publique, ce d’autant que les traitements utilisés actuellement n’ont que peu d’effet thérapeutique sur ces catégories de symptômes (14).

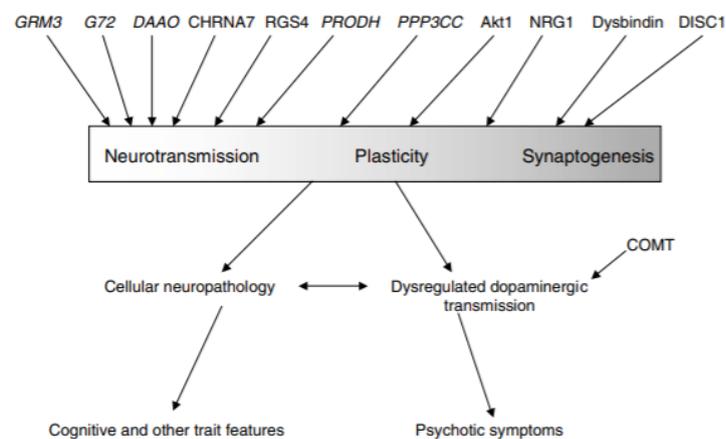


Illustration 2 Harrison, P. J., and D. R. Weinberger (2005). "Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence." *Molecular psychiatry* 10(1): 40-68. (8) Figure 1

TABLEAU 20-I. – Principaux gènes candidats testés dans la schizophrénie.

Gènes	Nom complet	Fonction	Localisation chromosomique
RGS4	Regulator of G-protein signaling 4	Signalisation intracellulaire	1q23.3
DISC1	Disrupted in schizophrenia 1	Croissance des neurites et développement du cortex	1q42.1
DTNBP1	Dysrobrevin binding protein 1	Organisation intracellulaire	6p22.3
STX7	Syntaxin 7	Vésicules synaptiques et exocytose	6q23.1
TAAR6	Trace amine associated receptor 6	Récepteur endogènes des amines traces	6q23.2
PPP3CC	Protein phosphatase 3, catalytic subunit, gamma isozyme	Phosphorylation calcium-dépendante	8p21.3
NRG1	Neuregulin 1	Signalisation intercellulaire	8p12
DRD2	Dopamine receptor D2	Récepteur aminergique	11q23
HTR2A	Serotonin receptor 2A	Récepteur aminergique	13q14-q21
DAOA	D-Amino acid oxidase activator	Métabolisme glutamatergique	13q34
AKT1	v-Akt murine thymoma viral oncogene homolog 1	Kinase importante pour la survie neuronale	14q32.32
CHRNA7	Cholinergic receptor, nicotinic, alpha 7	Récepteur nicotinique	15q14
COMT	Catechol-O-methyltransferase	Métabolisme aminergique	22q11.21
ARVCF	Armadillo repeats gene deleted in velocardiofacial syndrome	Jonctions cellulaires complexes	22q11.21

Illustration 3 Dalery, J., et coll. (2012). *Pathologies schizophréniques, Lavoisier.*(3) Tableau 20-1

Actuellement, la schizophrénie est considérée comme un trouble neurodéveloppemental, secondaire à une importante interaction entre des causes génétiques et des facteurs environnementaux multiples. En effet, dans la plupart des cas il existe une prédisposition génétique (3) entraînant une vulnérabilité sur laquelle vont agir des facteurs environnementaux, et ce lors de deux périodes critiques de développement cérébral (la période pré et périnatale et l'adolescence). Il a d'ailleurs été démontré que parmi les nombreux gènes candidats (DISC-1, COMT, NRG1) plusieurs étaient impliqués dans les processus de neurodéveloppement tels que la neurogenèse, la synaptogénèse, la plasticité cérébrale, et la transmission synaptique (8). Ce modèle appelé « double hit » rend compte de l'existence de cette vulnérabilité génétique qui subit d'abord l'influence d'une ou plusieurs agression(s) précoce(s) (par exemple une souffrance fœtale, une infection pendant la grossesse...) entraînant l'apparition d'un phénotype de neurodéveloppement particulier, sur lequel va agir une (ou plusieurs) agression tardive (facteurs de stress environnementaux, consommation de toxiques...), avec à terme le possible développement de la maladie (1, 10).

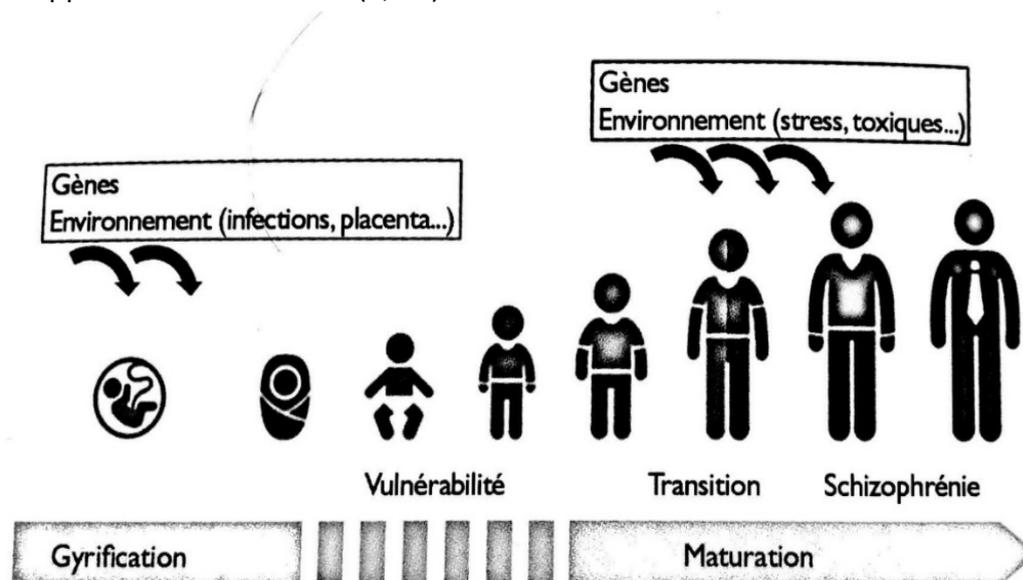


Illustration 4 Figure 9-1 Fossati, P. (2015). *Imagerie cérébrale en psychiatrie : contributions physiopathologiques de la neuro-imagerie*, Lavoisier-Médecine sciences.(4)

Néanmoins malgré les avancées de la recherche actuelle, notre compréhension des mécanismes neurophysiopathologiques secondaires à ces troubles neurodéveloppementaux et sous-tendant l'apparition et le maintien des symptômes reste encore partielle.

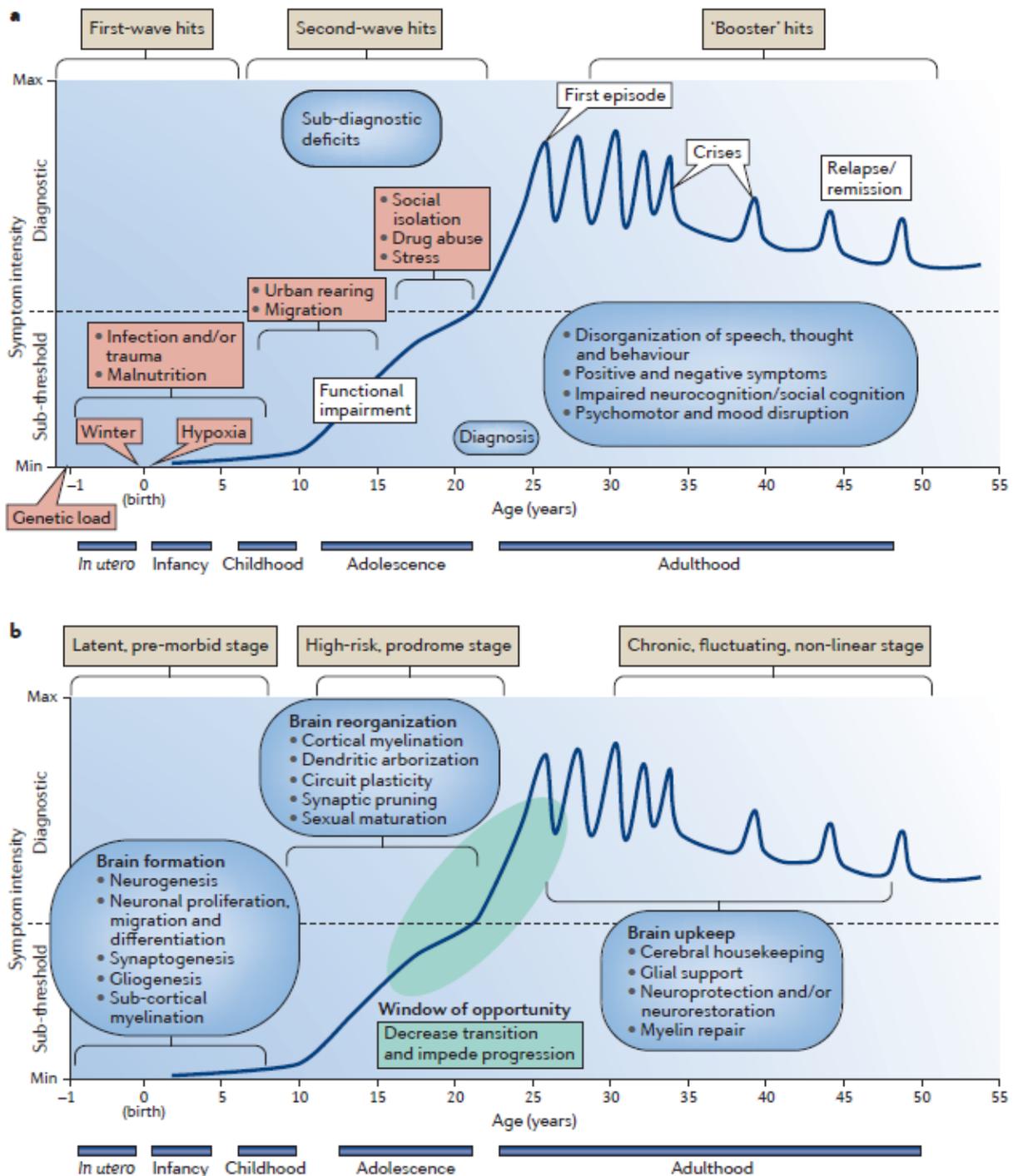


Illustration 5 Figure 1 | Onset and progression of schizophrenia in relation to risk factors and developmental processes affected by the disorder Millan, M. J., et al. (2016). "Altering the course of schizophrenia: progress and perspectives." *Nature reviews Drug discovery* 15(7): 485.(10)

3) Le système sérotoninergique

La sérotonine ou 5 -Hydroxy tryptamine (5-HT) est un neurotransmetteur(15, 16)
(17)(18-20).

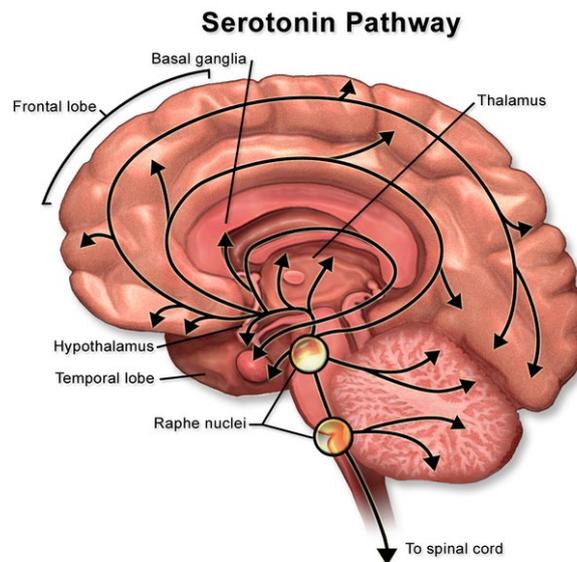


Illustration 6 Les voies sérotoninergiques

[https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serotonin_\(Illustration\).png?use_lang=fr](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Serotonin_(Illustration).png?use_lang=fr)

Il existe dans la schizophrénie une « hypothèse sérotoninergique » (21) avec le postulat actuel qu'il existerait une augmentation excessive de la transmission sérotoninergique dans certaines zones cérébrales, notamment dans le Cortex préfrontal (CPF) et le Cortex cingulaire antérieur (CCA), altérant dès lors le fonctionnement de nombreux neurones corticaux. Plusieurs travaux étudient cette hypothèse et certaines équipes ont rapporté des éléments pouvant l'étayer, à l'aide de techniques d'imagerie cérébrale comme la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (NMR spectroscopy) ou la tomographie cérébrale par émission de positons (PET scanner) (22, 23) voire l'emploi des potentiels évoqués auditifs (PEA) (24-26). Un des arguments en faveur de cette hypothèse est l'utilisation en pratique courante des antipsychotiques atypiques (APA) avec une bonne efficacité clinique. Or ces APA ont entre autres la particularité d'antagoniser des récepteurs sérotoninergiques, principalement le R5-HT2A, mais également en fonction des molécules d'autres récepteurs comme le 5-HT6 ou 5-HT7(2). Il est d'ailleurs intéressant de constater que parmi ces APA, celui étant reconnu comme ayant la meilleure efficacité clinique, à savoir la clozapine, est aussi celui interagissant avec le plus grand

nombre de récepteurs sérotoninergiques(2).

4) Le Cortex préfrontal

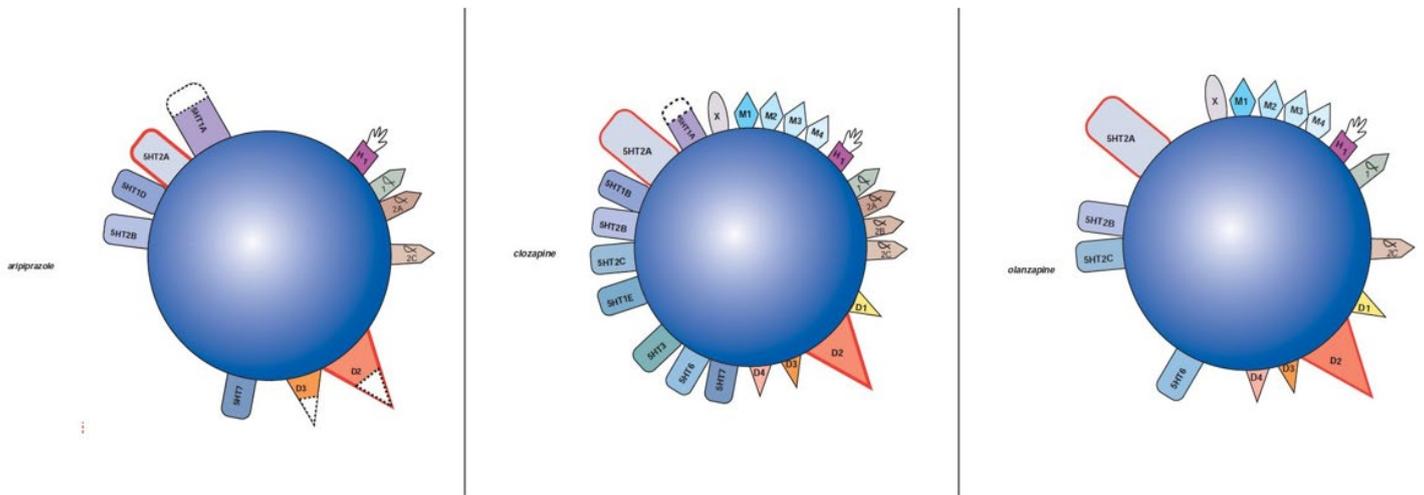


Illustration 7 D'après (2) S. M. Stahl (2013). *Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications*, Cambridge University press. Chapitre 5 agents antipsychotiques. Profils pharmacologiques et forces de liaison de l'aripiprazole, la clozapine et l'olanzapine (respectivement de gauche à droite). Les formes comprenant une partie en pointillé représentent une fonction d'antagonisme partiel.

Le Cortex préfrontal (CPF) a une fonction clé dans de très nombreuses activités cognitives (27), comme les fonctions exécutives supérieures (11, 28) (comprenant entre autres la flexibilité cognitive, la gestion de l'impulsivité et l'attention), l'humeur et les processus émotionnels (29). Il joue également un rôle crucial dans la cognition sociale (par exemple la théorie de l'esprit = Theory of Mind=ToM) (30, 31). Le développement normal de cette structure dépend de deux périodes critiques. La première lors du premier trimestre de la grossesse, pendant laquelle on observe une conséquente prolifération cellulaire permettant la neurogenèse (28). La seconde pendant l'adolescence qui constitue la phase de maturation du CPF pendant laquelle cette région traverse des modifications morphologiques importantes comme le maintien ou l'élagage des synapses. Ce processus est indispensable pour garantir un équilibre dans la balance « excitation/inhibition » du système. Ces périodes critiques représentent donc des moments de vulnérabilité, notamment à des facteurs environnementaux tels que l'exposition à des virus, la pollution, des stress aigus ou chroniques ou l'exposition à des toxiques. De plus, le CPF est au centre de très nombreux réseaux et communique abondamment avec différentes structures cérébrales telles que le thalamus, l'hippocampe et l'amygdale pour assurer ses fonctions. Le CPF est, à l'instar d'autres structures corticales, composé à $\approx 75\%$ de projections de neurones pyramidaux excitateurs, dont le neurotransmetteur principal est le glutamate, et à $\approx 25\%$ de circuits locaux d'interneurones inhibiteurs utilisant le GABA (29). Les neurones pyramidaux de la

couche V du CPF exercent par conséquent un rôle majeur en intégrant la majorité des afférences glutamatergiques excitatrices provenant des autres systèmes cérébraux et également du cortex(29). Par ailleurs, le CPF est densément innervé par des fibres sérotoninergiques provenant des corps cellulaires situés dans les noyaux du raphé dorsaux et médians. Il reçoit également des projections des neurones dopaminergiques provenant de l'aire tegmentale ventrale du tronc cérébral (6). Ces voies neuronales jouent ainsi une fonction essentielle dans la modulation des transmissions excitatrices et inhibitrices au sein du CPF(29).

De nombreuses études ont démontré qu'il existait des anomalies dans le fonctionnement du CPF et sa communication avec les autres structures cérébrales dans diverses pathologies psychiatriques (30). Par exemple, l'hypothèse dopaminergique (32, 33) largement répandue rapporte que les symptômes négatifs et cognitifs de la schizophrénie seraient en partie secondaires à un hypofonctionnement des projections dopaminergiques du tronc cérébral vers respectivement le CPF ventromédial (vmPFC) et le CPF dorsolatéral (DLPFC) (2). D'autres travaux démontrent d'une altération de la connectivité entre le thalamus médiodorsal (MD) et le CPF qui participerait à la survenue des troubles cognitifs (11, 29, 34). Ainsi le CPF paraît considérablement impliqué dans les mécanismes physiopathologiques sous-tendant l'apparition entre autres des symptômes négatifs. Néanmoins, nombre de ces mécanismes restent encore à élucider.

5) Le système glutamatergique et la plasticité cérébrale

Le glutamate est le principal neurotransmetteur exciteur du cerveau (35), utilisé par approximativement 60 % des neurones(36). Il est libéré dans la synapse par les fibres présynaptiques en réponse à une dépolarisation neuronale, et est recapté par un transporteur, l'EAAT (Excitatory Amino Acid Transporter) situé au niveau neuronal et glial. Les récepteurs du glutamate sont classés en deux catégories : les récepteurs ionotropiques (qui sont des récepteurs de type canaux ioniques), et les récepteurs métabotropiques (RCPG entraînant des cascades de signalisation moléculaire). Ces récepteurs métabotropique mGlu, d'action lente ont entre autres une fonction de régulation de la neurotransmission glutamatergique. Les principaux récepteurs ionotropiques sont les récepteurs N-méthyl-D-aspartate (R-NMDA) et récepteurs alpha -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate (R-AMPA). Ces derniers, d'action rapide, sont perméables aux ions Na⁺ et K⁺ tandis que les premiers, d'action plus lente, sont perméables aux ions Ca²⁺. Ils sont tous deux impliqués dans la transmission synaptique, et jouent un rôle clé dans

les phénomènes de plasticité cérébrale qui comprend la dépression à long terme (DLT) et potentialisation à long terme (PLT). Ces processus sont indispensables à la maturation cérébrale, mais aussi aux mécanismes d'apprentissage et de mémorisation et à toute adaptation cérébrale. Plusieurs travaux rapportent une altération du système glutamatergique dans de nombreuses pathologies psychiatriques dont la schizophrénie. L'hypothèse glutamatergique provient du fait que de nombreuses substances antagonisant les R-NMDA comme la kétamine ou la phencyclidine (PCP) entraînent des symptômes habituellement retrouvés dans la pathologie (37-39). Ces substances provoquent des hallucinations, des troubles cognitifs et du comportement et même des symptômes négatifs(8, 35, 36) chez des individus sains, et exacerbent les symptômes déjà présents chez les patients souffrant de troubles psychotiques (39). Ces observations ont permis d'émettre l'hypothèse d'un hypofonctionnement des R-NMDA dans la schizophrénie. Cette hypothèse est étayée par le fait que de nombreux gènes candidats sont impliqués dans la genèse, la régulation et le fonctionnement de ce récepteur(2). De plus, certaines études biochimiques réalisées en post mortem à partir de cerveaux de patients atteints de schizophrénie montrent une diminution du taux de phosphorylation de ce récepteur, au niveau du résidu sérine 897 de la sous unité GluN1 dans le CPF, en comparaison avec des individus contrôles ou souffrant de troubles de l'humeur (40). Ainsi cet hypofonctionnement pourrait expliquer les anomalies de communication neuronales entre les différents réseaux et notamment les altérations des voies dopaminergiques et sérotoninergiques.

6) Le récepteur sérotoninergique 5-HT_{2A}

Le récepteur 5-HT_{2A} (R5-HT_{2A}) est un RCPG, connu pour médier les effets hallucinogènes de certaines drogues telles que la LSD (*N, N*-diéthyllysergamide) et la 2,5-diméthoxy-4-iodoamphétamine (DOI) (41), provoquant ainsi des apparentés de symptômes psychotiques. Ce récepteur est d'ailleurs la cible de plusieurs traitements tels que les antipsychotiques dits « atypiques » (APA) et certains antidépresseurs par antagonisation (2, 42). L'intérêt porté à ce récepteur dans la prise en charge de la schizophrénie est tel, que des essais cliniques ont été menés, certains jusqu'en phase 2 et 3, pour déterminer le bénéfice de molécules l'antagonisant de façon plus sélective. Pour le moment, il n'y a pas d'éléments suffisants pour justifier d'une utilisation isolée de tels antagonistes(43)

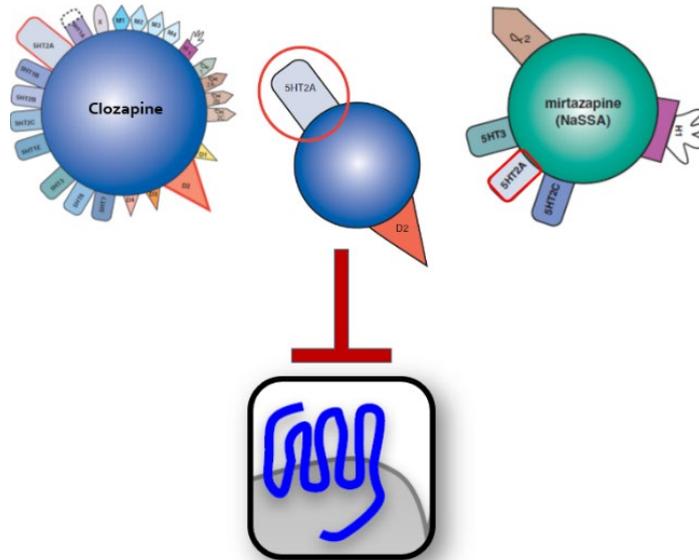


Illustration 8 D'après (2) S. M. Stahl (2013). Le R-5-HT_{2A} est antagonisé par les APA et par certains antidépresseurs, ici la mirtazapine.

Le R5-HT_{2A} est fortement exprimé dans le CPF, en particulier au niveau des dendrites des neurones pyramidaux de la couche V (41) dont il module l'excitabilité. Dans la schizophrénie, plusieurs équipes se sont intéressées à l'implication possible de ce récepteur. Ainsi des chercheurs ont démontré qu'il existait chez l'homme une dérégulation de l'expression de ce récepteur(44). Il existe notamment des études histologiques et biochimiques post mortem des cerveaux de patients atteints (45, 46) montrant une diminution de la densité des R5-HT_{2A} particulièrement au niveau du CPF (43). D'autres équipes ont tenté d'étayer ces constats avec des études in vivo recourant au PET Scanner avec des résultats mitigés (47). Toutefois, les travaux de Ngan et coll. semblent confirmer au moins une altération du potentiel de liaison de la sérotonine sur le R5-HT_{2A} chez des patients naïfs de tout traitement neuroleptique (48) comparativement à des sujets sains. Ce dernier élément est crucial, car il pose la question d'un possible endo phénotype versus une dérégulation secondaire à l'utilisation de traitements psychotropes. Plusieurs travaux réalisés par mon laboratoire d'accueil se sont également penchés sur ce récepteur, démontrant son importance dans la modulation de la transmission et plasticité synaptique glutamatergique au niveau des synapses thalamo-corticales ainsi que dans le contrôle des fonctions cognitives (11, 41).

Le R5-HT_{2A} est un RCPG principalement couplé à la phospholipase C via le recrutement de la protéine G_q, cependant il possède la particularité fonctionnelle d'également pouvoir se coupler avec la protéine G_i s'il est activé par des agonistes hallucinogènes(41). De ce fait, ce récepteur

représente un paradoxe pharmacologique avec deux classes d'agonistes : les hallucinogènes tels que le LSD et le DOI et les non-hallucinogènes tels que l'Ergotamine et le Lisuride. Chaque classe entraînant une cascade de signalisation spécifique et induisant des comportements différents.

Dans la littérature, de nombreux travaux (49, 50), reposant essentiellement sur la neuro-imagerie fonctionnelle, suggèrent l'existence, chez les patients souffrant de schizophrénie, d'une altération de la connectivité entre le thalamus médiodorsal (MD-thalamus) et le CPF, qui serait impliquée dans l'apparition des troubles cognitifs.

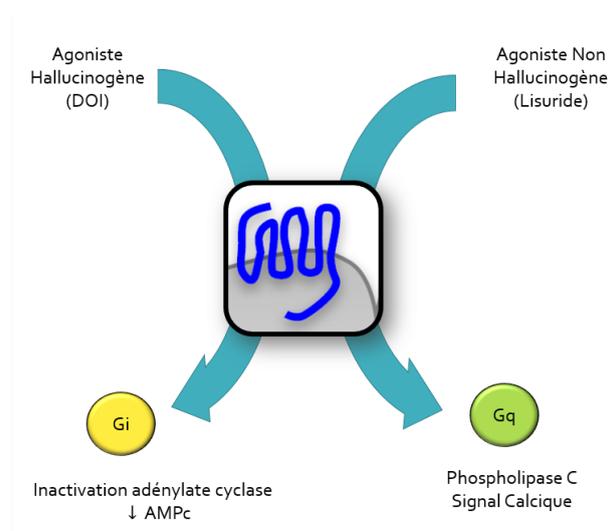


Illustration 9 : Voies moléculaires activées par le R5-5HT2A en fonction du type d'agoniste.

À partir de ce postulat, l'équipe de Parnaudeau et coll. (34), a pu attester dans un modèle murin, à l'aide de manipulations pharmacologiques, qu'une désynchronisation entre le MD-thalamus et le CPF entraîne des déficits cognitifs en particulier un trouble de la flexibilité cognitive. Dans ce contexte, des travaux réalisés par mon laboratoire d'accueil ont montré que ce récepteur le R5-HT2A joue un rôle majeur dans la modulation des fonctions cognitives notamment au niveau des synapses thalamo-corticales (11), où il a été démontré présent à la fois au niveau présynaptique (sur les fibres thalamiques) et postsynaptique (dans le CPF) (41). Grâce à une étude électrophysiologique réalisée sur des tranches aigües de CPF, mon laboratoire d'accueil a exposé qu'une activation brève des récepteurs présynaptiques 5-HT_{2A} induit une potentialisation robuste et significative de la transmission glutamatergique de type NMDA (11), favorisant ainsi l'induction d'une plasticité synaptique. Ils ont également démontré que ces récepteurs étaient impliqués dans les processus de mémoire associative. L'équipe a également montré qu'une activation pharmacologique prolongée des R5-HT_{2A} postsynaptiques, par leur agoniste le DOI, permet l'induction d'une LTD (6) au niveau des synapses thalamo-corticales, via

l'internalisation des, secondaire à la phosphorylation de leur sous-unité GLUA2 (SU GLUA2) par la protéine kinase C (PKC). Afin d'induire/mimer une augmentation de sérotonine extracellulaire, ligand endogène du R5-HT2A, mon équipe d'accueil a réalisé un traitement subchronique d'une semaine, avec de la Fluoxétine (un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS) utilisée comme antidépresseur en psychiatrie), chez la souris. Ce traitement induit une activation prolongée des R 5-HT2A, la phosphorylation de la SU GLUA2 des R-AMPA ainsi qu'une LTD au niveau de ces synapses chez les souris sauvages. On constate néanmoins que cette plasticité est absente chez les animaux Knock Out (KO) 5-HT2A (dont le gène codant pour le récepteur a été invalidé) ayant reçu le même traitement. C'est la première fois qu'il est montré qu'une activation prolongée d'un récepteur sérotoninergique induit les mêmes phénomènes moléculaires que ceux impliqués dans la plasticité cérébrale et habituellement provoqués par des mécanismes neurophysiologiques.

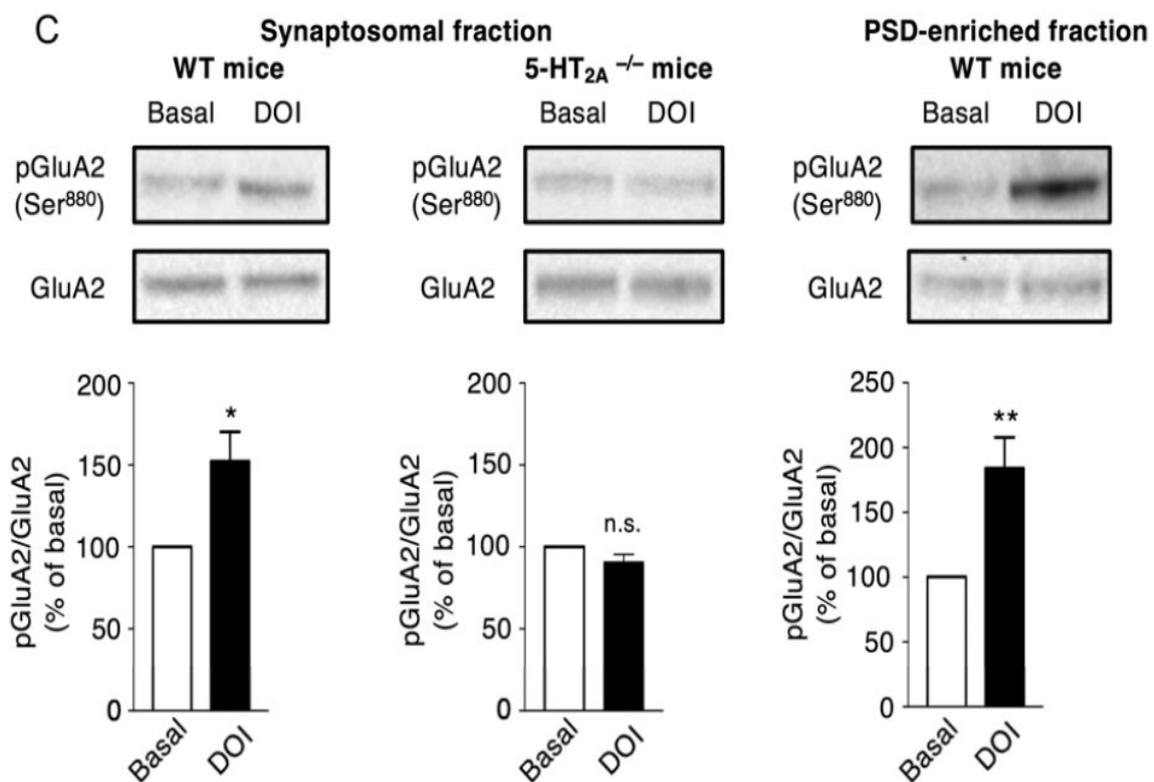


Illustration 10 : D'après (Berthoux et coll. 2018) Figure 4 (6). C) Fractions synaptosomales et enrichies en protéines postsynaptiques (PSD= postsynaptic density protein) issues des CPF des souris sauvages (WT) et des souris knockouts (KO) 5HT2A. Western blot et histogrammes quantitatifs correspondants, représentant les taux de phosphorylation de la sous-unité GluA2 sur le résidu sérine 880 (Ser880) (Ratios phospho-GluA2/GluA2 totaux. *P < 0.05, **P < 0.01) L'activation prolongée des R-5HT2A par du DOI entraine une augmentation significative de la phosphorylation de la sous-unité GluA2 du récepteur AMPA (AMPA-R) chez les souris WT. Cette différence de phosphorylation n'est pas retrouvée chez les souris KO 5HT2A.

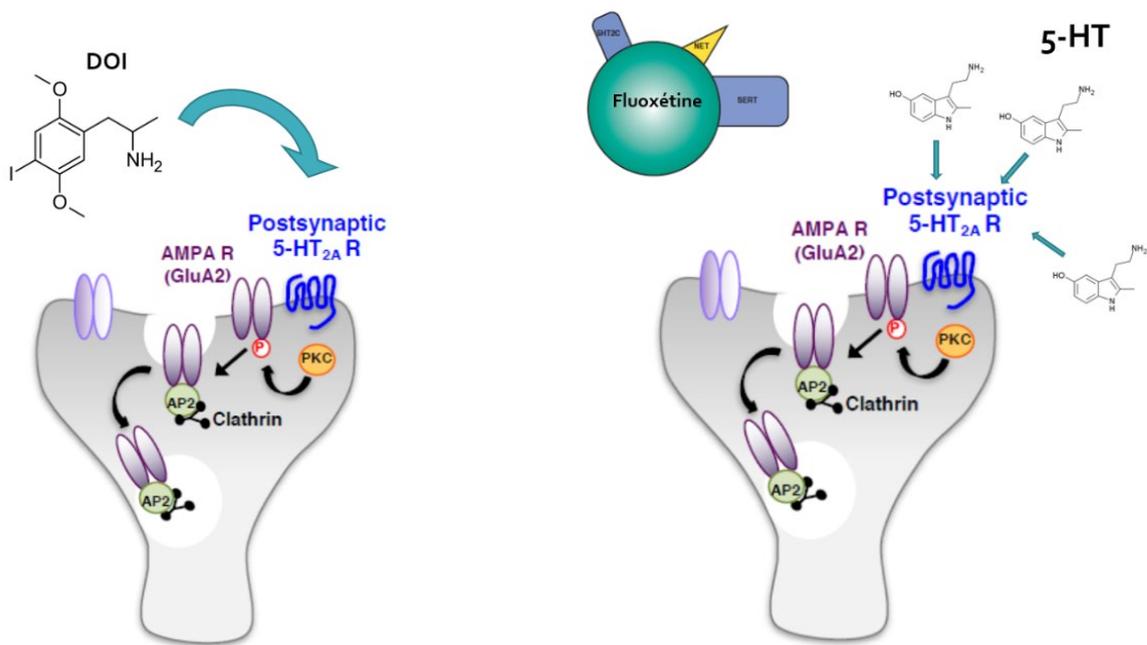


Illustration 11 : D'après (Barre et coll. 2016) (1, 11) et (Berthoux et coll. 2018) (6). L'activation prolongée des R-5HT_{2A} par du DOI entraîne une phosphorylation de la sous-unité GluA2 du récepteur AMPA (AMPA-R) par la protéine kinase C (PKC) ce qui induit son internalisation via un processus dépendant de la clathrine. Ce phénomène est reproduit chez les animaux traités de façon subchronique par de la fluoxétine.

7) Le modèle neurodéveloppemental préclinique de schizophrénie PCP

La schizophrénie étant une pathologie complexe et dont les facteurs étiologiques sont multiples et mal connus, de nombreux modèles précliniques ont été développés(51). Un modèle préclinique doit pouvoir reproduire des analogues des symptômes cardinaux, avec comme contrôle fréquent l'amendement des équivalents de symptômes positifs (le plus souvent, une altération du Pré pulse Inhibition = PPI) sous halopéridol ou clozapine(13) ou d'autres APA tels que l'aripiprazole(52). Certains modèles exploitent les variations génétiques déjà connues, comme le modèle Knock Out (KO) DISC1 (53) ou KO Neuregulin. D'autres cherchent à reproduire une trajectoire neurodéveloppementale. Pour cela, certains modèles provoquent un stress gestationnel (par exemple le modèle gestationnel exploitant un antimétabolite le méthylazoxyméthanol (MAM), ou un stress inflammatoire en employant le PolyIC). D'autres modèles vont induire un stress postnatal avec par exemple un isolement social post sevrage. D'autres encore recourent à des moyens pharmacologiques, utilisant les amphétamines pour reproduire les altérations dopaminergiques ou des molécules bloquant les R NMDA comme la kétamine ou de la phencyclidine (PCP). Cette dernière a été largement maniée selon divers protocoles, en injections aiguës, chroniques, chez des animaux juvéniles ou adultes. Le modèle

préclinique de schizophrénie utilisé dans nos travaux fait partie des prototypes neurodéveloppementaux de schizophrénie. Ce modèle consiste en des injections de phencyclidine qui est une substance psychoactive, à raison de 10 mg/kg au 7e, 9e et 11e jour postnatal. Ces souris seront ainsi désignées pendant la présentation du projet comme les « souris PCP ». La PCP est un psychotrope hallucinogène, antagoniste non compétitif des récepteurs au glutamate de type N-méthyl-D-Aspartate (NMDA)(54). Elle a été développée au départ dans les années 60 pour être un agent anesthésique, puis rapidement retirée du marché devant ses importants effets secondaires comprenant hallucinations et troubles du comportement. Cela fait maintenant plusieurs dizaines d'années que la PCP est utilisée dans des modèles précliniques (55) qui permettent de reproduire non seulement les symptômes positifs et négatifs(56), mais qui ont également eu la validation pour l'étude spécifique des déficits cognitifs retrouvés dans la schizophrénie (39, 57-59). De plus, l'injection néonatale de PCP (60) permet de restituer l'hypothèse d'une trajectoire neurodéveloppementale dans l'émergence de la pathologie(60).

La littérature relate que les souris traitées de façon chronique avec la PCP présentent des comportements évoquant des symptômes de type négatif, notamment une augmentation de l'immobilité au test de nage forcée (Forced Swim Test (FST))(9, 61). Force est de constater que ces manifestations sont souvent difficilement distinguables des signes négatifs de la schizophrénie (par exemple l'anhédonie, l'apragmatisme et l'avolition). Certains travaux rapportent d'ailleurs une amélioration de ces symptômes après traitement par APA et certains antidépresseurs ciblant le R5-HT2A plutôt que SERT (le transporteur de la sérotonine) dans des modèles de rongeurs (62), suggérant l'implication probable du R5-HT2A. En accord avec cette hypothèse, d'autres travaux montrent par ailleurs une augmentation extracellulaire de sérotonine dans un modèle pharmacologique de schizophrénie (injection de PCP) (62, 63), ce qui pourrait entraîner une activation prolongée des récepteurs sérotoninergiques et notamment les R5-HT2A.

8) Objectifs du stage de master 2

Les mécanismes physiopathologiques sous-tendant l'apparition des altérations neurobiologiques retrouvées dans la schizophrénie sont à ce jour très mal connus. Les traitements pharmacologiques disponibles à l'heure actuelle sont au mieux partiellement efficaces et responsables de nombreux effets secondaires. Par ailleurs, il n'existe actuellement aucun traitement, médicamenteux ou non, capable d'améliorer ou de prévenir les déficits

cognitifs et les symptômes négatifs émergeant au cours de l'évolution d'une pathologie schizophrénique (64-66). Ces symptômes apparaissent de façon très précoce et sont responsables d'un handicap majeur. De plus, il est souvent difficile de réellement distinguer les manifestations dépressives des symptômes négatifs dans la schizophrénie. Cela soulève à la fois des questionnements concernant la stratégie thérapeutique, mais également quant aux voies neuronales pouvant être impliquées et dérégulées. Il est donc primordial de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques sous-tendant l'existence de ces symptômes, le R5-HT2A étant ici au centre de la réflexion.

Mon stage devait initialement poursuivre les travaux débutés par mon laboratoire d'accueil sur le récepteur sérotoninergique 5-HT6 (R5-HT6) dans un modèle développemental de schizophrénie (modèle phencyclidine ou PCP) et un modèle de consommation chronique de cannabis pendant l'adolescence (modèle THC). Le but étant de caractériser de façon globale, à l'aide d'un crible de phosphoprotéomique, les modifications protéiques dans ces modèles, secondaires à l'activation soutenue de la voie mTOR dans le CPF (67, 68), et définir les bénéfices du traitement précoce administré pendant l'adolescence avec les inhibiteurs de la voie 5-HT6/mTOR.

Mais avant de réaliser cette analyse phosphoprotéomique des étapes de mise au point pour optimiser la préparation des échantillons, à l'aide d'un modèle d'étude permettant plus de flexibilité, sont nécessaires. Dans ce contexte, déterminer le phosphoprotéome induit *in vivo* dans le CPF à la suite de l'activation des R5-HT2A nous a semblé pertinent. Mon équipe d'accueil a déjà démontré dans de précédents travaux que l'activation des R5-HT2A entraîne une phosphorylation de la protéine ERK (P ERK), de la sous unité (SU) GluN2B des R-NMDA et de la SU GluA2 des R-AMPA. Ainsi, utiliser un modèle *in vivo* d'activation des R5-HT2A par du DOI, et en confirmant par procédés biochimiques (Western Blot) la phosphorylation des protéines suscitées, nous assurant l'activation effective du récepteur, permettra une mise au point satisfaisante des échantillons. Pour résumer les objectifs, des travaux réalisés pendant mon stage ont été de :

- 1) Déterminer si les R5-HT2A sont impliqués dans l'apparition des symptômes types négatifs observés dans le modèle PCP grâce notamment à une lignée de souris KO 5-HT2A.
- 2) Mettre au point la préparation des échantillons biologiques pour permettre l'analyse du phosphoprotéome induit par l'activation des R 5-HT2A, *in vivo*.

Méthodes

1) Le modèle utilisé : modèle pharmacologique neurodéveloppemental de schizophrénie

Les souris sauvages C57B/6J (Wild type WT) ou KO 5-HT2A (KO) ont été injectées soit avec de la PCP à 10 mg/kg (souris PCP) soit avec une solution saline (souris contrôle ou véhicule = Veh) en sous-cutanée, au 7^e, 9^e et 11^e jour postnatal (P7, P9 et P11). Les expériences de biochimie, immunohistochimie et comportement ont ensuite été réalisées sur les souris adultes, à partir du 60^e jour post natal (P60).

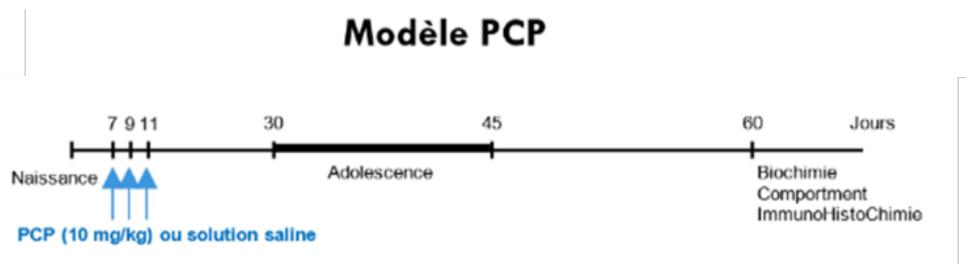


Figure 1 : Schéma représentant les séquences temporelles dans le modèle PCP

2) Expériences de comportement

Les tests comportementaux ont été réalisés par l'équipe avec des souris sauvages (Wild Type, WT) (+/- PCP) et des souris KO 5HT2A (+/- PCP).

a) Test de nage forcée (Forced Swim Test (FST))

Le principe de ce test dérive de sa relation supposée avec un comportement de résignation. Après une phase d'agitation (temps d'adaptation), l'animal cesse de nager et se fige adoptant un comportement de désespoir. Après un temps d'adaptation, les souris sont individuellement déposées dans des béciers contenant de l'eau courante. Leurs temps de nage et d'immobilité sont chronométrés pendant 6 minutes, permettant la mesure du temps d'immobilité.

b) Test de préférence Sucrose (Sucrose Preference Test (SPT))

Ce test est utilisé afin de mesurer chez les animaux une perte de la sensation de plaisir, connue également sous le nom d'anhédonie. Les animaux ont dans cette épreuve l'accès à deux biberons remplis respectivement d'une solution sucrée et d'eau courante. Habituellement, les rongeurs présentent une nette préférence pour la solution sucrée et vont donc majoritairement

consommer le biberon contenant cette solution. Ainsi dans ce test, il est possible d'apprécier une perte de plaisir si les animaux ne manifestent pas une telle préférence. Après un temps d'adaptation, les souris sont exposées pendant 12 h à deux biberons de même volume, l'un contenant de l'eau avec du sucrose (1 %) et l'autre de l'eau courante (mesures de référence). Puis les animaux sont privés d'eau et de nourriture pendant 24 h. Immédiatement après la privation, tous les animaux reçoivent individuellement un accès de 12 h à deux biberons de même volume contenant soit de l'eau contenant du sucrose (1 %) soit de l'eau courante (test de référence). Chaque biberon est pesé avant et après le test. L'anhédonie est définie selon un ratio de préférence de sucrose, acquise au cours du test de préférence, par rapport à un groupe témoin.

3) Immunofluorescence

Les souris WT (+/- PCP) et KO 5HT2A (+/- PCP) ont été perfusées au niveau intra cardiaque avec une solution d'ACSF. Puis les cerveaux ont été prélevés et stockés dans une solution de Paraformaldéhyde à 4 % pour fixer les tissus. Après rinçage au PBS, les cerveaux ont été coupés en tranches 40µm m d'épaisseur au niveau du CPF grâce à un vibratome, puis stockées à -20 °C dans du cryoconservateur. Ensuite, après plusieurs cycles de rinçage, incubation 2 h à température ambiante dans une solution de saturation contenant 1 % de triton, et du sérum de chèvre, les tranches ont été incubées 36 h dans une solution d'anticorps primaires puis dans une solution d'anticorps secondaires couplés à des fluorophores pendant 2 h. Les immunomarquages ont été observés au microscope Apotome Zeiss. Les analyses ont été réalisées avec le logiciel Fiji.

4) Mise au point de l'analyse phosphoprotéomique

a) Préparation des échantillons fractionnés pré et post synaptiques

Les animaux âgés de P30 à P35 ont reçu une injection en Intra Périonéal (IP) soit de DOI (5 mg/kg), soit de sérum physiologique puis ils ont été sacrifiés 1 h après l'administration. Les CPF ont rapidement été prélevés puis lysés et homogénéisés grâce à un potter en verre dans un tampon Hepes (10 mM, pH 7.4) et sucrose (0.32 mM) contenant des inhibiteurs de phosphatases et de protéases. Après une centrifugation à 1000 g pendant 10 min à 4 °C, le surnageant a été conservé. Une partie (extraits bruts de CPF = input) a été conservée dans du laemmli 4X, une autre partie a subi une centrifugation à 12 000 g pendant 20 min à 4 °C. Le culot a ensuite été

repris dans une solution contenant du tampon HEPES (4 mM, pH 7.4), de l'EDTA (1 mM), des inhibiteurs de protéases et de phosphatases. Cette étape a été répétée deux fois. Le culot résultant a été réhomogénéisé dans une solution contenant du tampon Tris (20 mM, pH 6), du SDS (1 %), du triton (1 %) associés à des inhibiteurs de protéases et de phosphatases (= préparation de synaptosomes de CPF). Après 30 min sur roue à 4 °C, les échantillons ont été centrifugés à 40 000 g pendant 30 min à 4 °C. Le culot résultant a été réhomogénéisé dans une solution contenant du tampon Tris (10 mM, pH 8), du triton (1 %) associé à des inhibiteurs de protéases et de phosphatases, placé sur roue pendant 30 min à 4 °C puis centrifugé à 40 000 g pendant 30 min à 4 °C. Le surnageant correspondant à l'enrichissement présynaptique a été conservé dans du Laemmli 4X, le culot a été repris dans du SDS 5 % (= enrichissement postsynaptique).

b) Western Blot

Après dosage des divers échantillons, les protéines ont été séparées sur gel gradient 7-15 % SDS PAGE, puis transférées sur une membrane de nitrocellulose. Après saturation dans du lait +T-BST 5 % (Tween-Tris Buffered Saline) les membranes ont été incubées toute la nuit à 4 °C dans de la BSA 5 % (Bovine Serum Albumine) contenant l'anticorps primaire (aux dilutions indiquées par le fournisseur). Les membranes ont ensuite été lavées avec du T-BST et incubées avec l'anticorps secondaire conjugué à la horseradish peroxydase (1/5000) 1 h à température ambiante. L'immunoréactivité a été détectée par chimioluminescence sur un microscope Apotome.

Résultats

1) Les souris PCP présentent un phénotype comportemental dépendant des R5-HT2A

Dans un premier temps, l'équipe a réalisé les analyses comportementales chez des souris WT (+/- PCP) et KO 5-HT2A (+/- PCP). Les expériences de comportement ont été exécutées sur les souris PCP à l'âge adulte, à P60. Les animaux WT-PCP présentent un temps d'immobilité significativement supérieur dans le FST par rapport aux animaux WT-Veh (pour rappel Veh = souris contrôles injectées avec de la solution saline) (figure 1A), ainsi qu'une diminution significative de la préférence au sucrose dans le SPT (figure 1B). En revanche, les souris KO 5-HT2A-PCP ne présentent pas de différence significative par rapport aux souris KO-Veh dans aucun

de ces deux tests (Figure 1). L'ensemble de ces résultats indiquent que les souris WT-PCP présentent des symptômes objectivés par des comportements significativement différents par rapport aux souris contrôles (Veh), en accord avec les données de la littérature. Cette différence de phénotype ne se retrouvant pas entre les souris KO 5HT2A-Veh et PCP, suggère l'implication du R5-HT2A dans l'apparition de ces comportements.

2) Les R5-HT2A sont activés dans le modèle de souris PCP

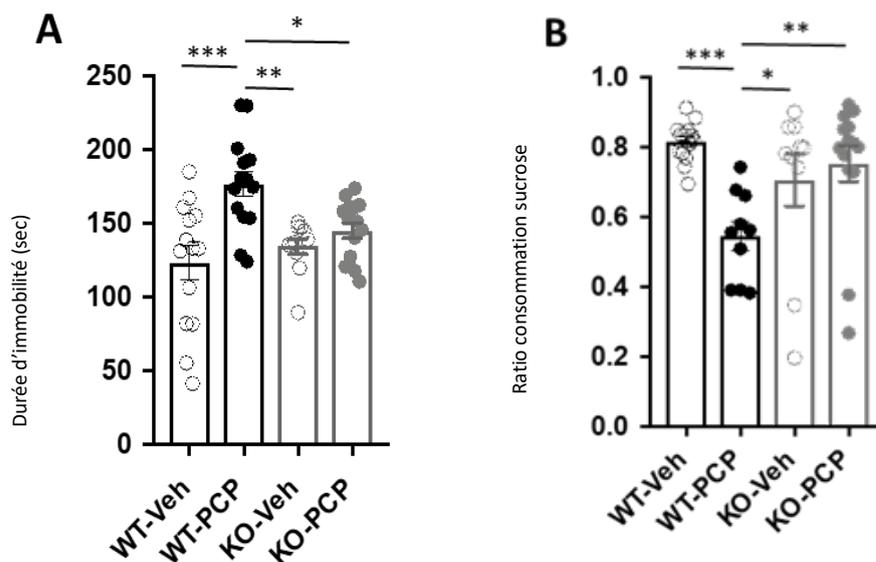


Figure 1 histogrammes quantitatifs des résultats des tests FST (A) et SPT (B) chez des souris WT Veh et souris WT ayant été injectées en période néonatale avec de la PCP à J7, J9 et J11. Résultats des mêmes tests chez des souris KO 5HT2A Veh et injectées en période néonatale avec de la PCP. (FST : n=14 WT-Veh, n=14 WT-PCP, n= 11 KO-Veh, n=15 KO-PCP) (SPT : n=15 WT-Veh, n=10 WT-PCP, n=11 KO-Veh, n= 15 KO-PCP) * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. Analyse statistique one-way ANOVA comparaisons multiples

Afin de déterminer si le comportement observé chez les souris WT-PCP relevait d'une activation des R5-HT2A, nous avons réalisé une analyse biochimique de l'état de phosphorylation de différents effecteurs de la voie de signalisation dépendante des récepteurs R5-HT2A. Pour rappel l'équipe avait précédemment démontré que les résidus S880 de la SU GluA2 et la Ser1303 de la SU GluN2B subissaient une phosphorylation dans les suites de l'activation des R 5-HT2A. J'ai donc suivi l'état de phosphorylation de ces deux SU par une analyse biochimique de type WB à partir d'extraits de CPF.

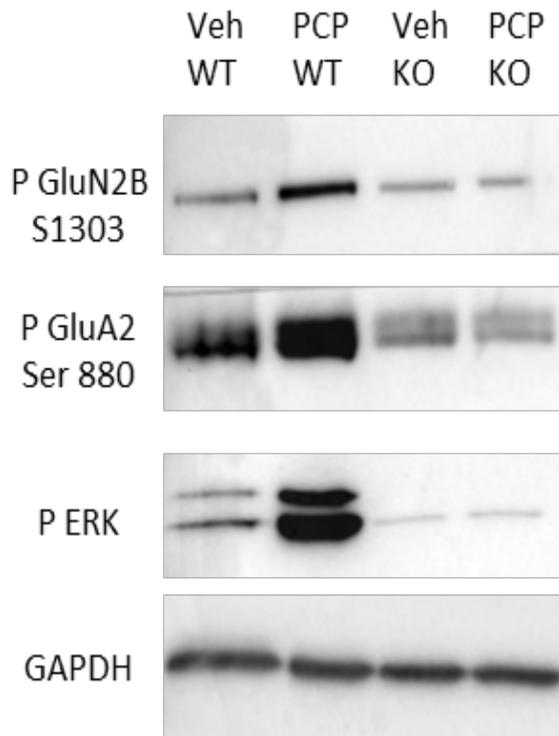


Figure 2 résultats des WB réalisés à partir d'inputs de lysats de CPF de souris WT et de souris KO 5HT2A traitées ou non avec de la PCP en période néonatale

Ainsi, nous observons chez les souris WT-PCP une phosphorylation robuste de la SU GluN2B (= NR2B) des R NMDA, et de la SU GluA2 des R AMPA ainsi que de la protéine ERK, par rapport aux souris WT-Veh. Par conséquent la phosphorylation de la protéine ERK nous permet de confirmer l'activation du R5-HT2A dans notre modèle préclinique de schizophrénie. D'autre part, étant donné que les phosphorylations des SU des récepteurs glutamatergiques sont habituellement connues pour être impliquées lors des phénomènes de plasticité synaptique, ces résultats sous-entendent la mise en place, au moins sur le plan moléculaire, de processus équivalents. Nous n'observons pas de différence de l'état de phosphorylation de ces protéines entre les souris KO 5HT2A-PCP et KO 5HT2A-Veh (Figure 2), suggérant que l'activation des R5-HT2A est bien impliquée et nécessaire aux phosphorylations des SU des R-AMPA et NMDA dans ce modèle.

3) Les souris PCP présentent une augmentation de la transmission sérotoninergique.

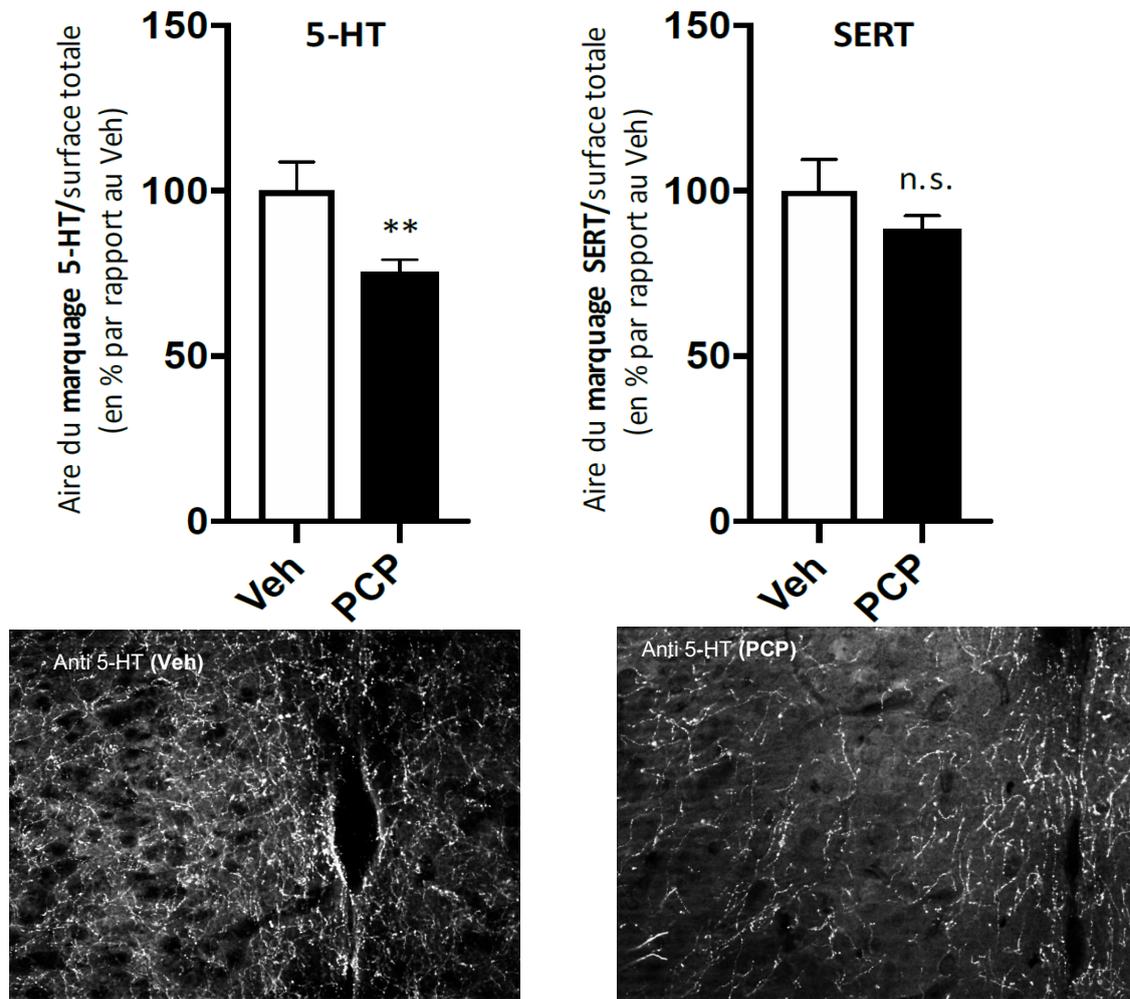


Figure 3 : Images d'immunofluorescence et histogrammes quantitatifs représentant en pourcentage par rapport aux souris WT -Veh, la surface occupée par le marquage 5HT et SERT au niveau des neurones pyramidaux de la couche V dans les coupes de CPF. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$. Analyse statistique Unpaired t Test. (N=1 par condition)

Nous avons ensuite étudié l'origine de l'activation des R5-HT2A dans le modèle PCP. Pour cela nous avons réalisé une analyse immunohistochimique sur des tranches de CPF de souris PCP ou souris Veh en utilisant des anticorps dirigés contre la sérotonine (=5HT), le ligand endogène des R5-HT2A, et dirigés contre SERT, le transporteur de la sérotonine (marqueur des fibres sérotoninergiques). Les souris WT-PCP présentent un taux de marquage 5HT significativement inférieur aux souris WT-Veh suggérant une diminution de la quantité de 5-HT dans les fibres, qui peut être due, soit à une majoration de sa libération, soit une diminution de sa synthèse. Comme nous avons vu que les R 5-HT2A sont activés, la première hypothèse semble la plus probable et renforce l'hypothèse d'une libération sérotoninergique augmentée chez les souris PCP (Figure 3).

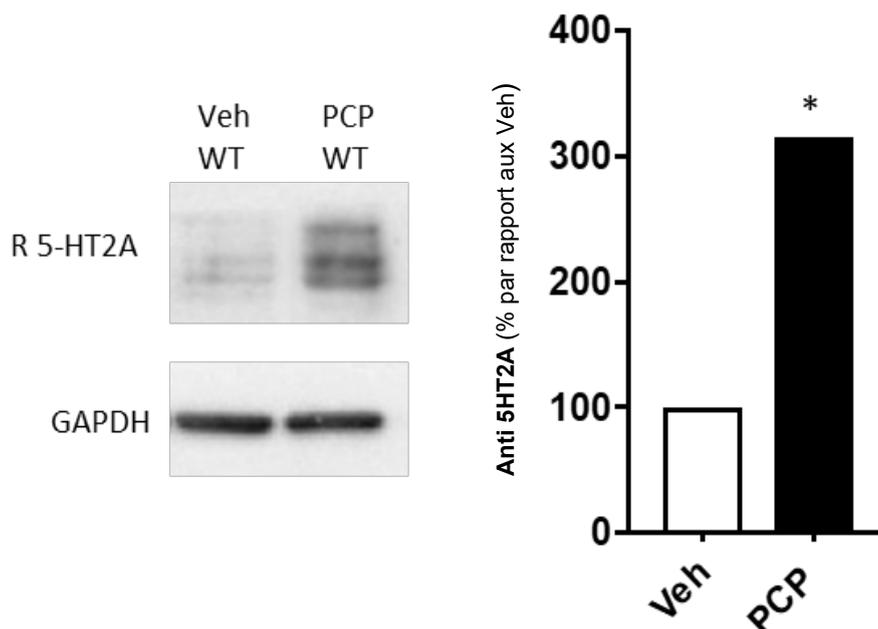


Figure 4 : Western Blot et histogramme quantitatif représentant le taux de R5HT2A chez des souris WT-Veh (n=3) et WT-PCP (n=3) * p<0,05, ** p<0,01. Analyse statistique Unpaired t Test.

Ensuite, nous avons évalué en analyse biochimique le taux d'expression des R5-HT2A au niveau du CPF des souris WT-PCP par rapport aux souris contrôles. Les souris WT-PCP présentent un niveau d'expression des R5-HT2A significativement supérieur par rapport aux souris WT-Veh (Figure 4). Ces résultats suggèrent l'apparition d'un phénomène adaptatif.

4) Analyse phosphoprotéomique : mise au point

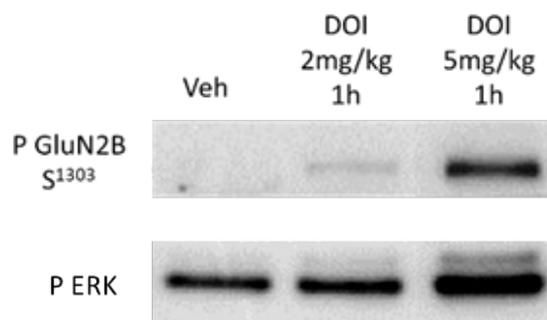


Figure 5 résultats des WB chez des souris Veh, et des souris injectées en IP par des doses de DOI de 2 mg/kg ou 5 mg/kg, puis sacrifiée à 1 h. (n=6 par condition) la dose 5 mg/kg avec sacrifice à 1 h permet de voir la phosphorylation au niveau de la SU GluN2B des RNMDA et de la protéine ERK.

Enfin dans le but de caractériser le phosphoprotéome induit à la suite de l'activation des R 5-HT2A in vivo, nous avons mis au point les préparations des échantillons biochimiques en vue

de l'analyse phosphoprotéomique. Pour cela nous avons réalisé des extraits de CPF à partir d'animaux ayant été injectés soit avec du DOI (2 mg/kg ou 5 mg/kg IP), soit du sérum physiologique. La dose de DOI à 5 mg/kg induit un niveau de phosphorylation des protéines ERK et GluN2B significativement plus important que la dose 2 mg/kg (Figure 5). Nous avons donc choisi cette condition pour effectuer la suite de nos expériences. N = 6 animaux ont été utilisés par condition (DOI vs solution saline). Pour préparer les enrichissements pré et post synaptiques nous avons poolé les CPF de 2 animaux afin d'obtenir au minimum 100 ug de protéines par condition. Les échantillons ont ensuite été transférés sur la plateforme de protéomique de l'institut (<http://www.fpp.cnrs.fr/>) pour l'enrichissement en phosphopeptides et analyse en spectrométrie de masse. Nous attendons actuellement les résultats.

Discussion

1) Analyse des résultats et hypothèses physiopathologiques

Dans cette étude, nous démontrons que les souris PCP présentent une différence significative en matière de comportement. Reste à déterminer dans quel phénotype peuvent s'inscrire les altérations observées. Les tests utilisés dans ces travaux (FST et SPT) sont des tests couramment utilisés pour évaluer les symptômes de types dépressifs(69, 70). Le premier test, le FST, est d'ailleurs un test gold standard dans les modèles précliniques pour évaluer la réponse à un traitement antidépresseur. Il s'agit d'un test de « désespoir »(69) et de sensibilité à l'humeur négative. Le deuxième, le SPT, est considéré comme un test évaluant l'anhédonie(71, 72), puisque les souris, habituellement particulièrement friandes de sucrose, perdent cette préférence dans nos travaux. Cependant, ces tests ne sont pas l'apanage des modèles de dépression, mais sont également utilisés dans de nombreux modèles cherchant à recréer et évaluer les symptômes négatifs retrouvés dans la schizophrénie. Par exemple, à l'instar du FST, le Tail Suspension Test (TST=test de suspension caudale) est un test utilisé dans les modèles de dépression et est considéré comme un test de « désespoir »(69, 70). Néanmoins, certaines équipes l'utilisent, au même titre que le FST, pour évaluer des équivalents de symptomatologie négative(59, 73), en partant du postulat qu'il s'agirait également de tests pouvant refléter une perte de motivation de l'animal, symptôme clé dans la schizophrénie(74). Le fait que les tests utilisés pour évaluer un phénotype de type dépressif soient les mêmes que ceux utilisés pour reconnaître un phénotype de type négatif peut troubler. Mais est-ce si surprenant ? Au regard de la pratique clinique, cela ne semble pas si saugrenu. En effet, différencier chez nos patients

atteints de schizophrénie les symptômes dépressifs des symptômes négatifs n'est pas chose aisée. La tristesse et l'anhédonie, entre autres, mais aussi l'apragmatisme, la perte de motivation, l'avolition et encore l'éroussement des affects peuvent exister et de plus co-exister chez un même patient. Pourtant ces signes existent dans la description clinique et de l'épisode dépressif caractérisé (EDC) comme celle des symptômes négatifs de la schizophrénie(7).

Symptom	Depressive symptoms	Depressive and negative symptoms	Negative symptoms
Anhedonia		X	
Emotional blunting		X	
Anergia		X	
Amotivation		X	
Asociality		X	
Avolition		X	
Low mood	X		
Pessimism	X		
Suicidal ideation	X		
Observed sadness			X
Alogia			X
Poor attention and concentration			X
Blunted affect			X
Social withdrawal			X

Illustration 12 Krynicki, C. R., et coll. (2018). (7)"The relationship between negative symptoms and depression in schizophrenia: a systematic review." *Acta Psychiatrica Scandinavica* 137 (5): 380-390. Table 2. Association of symptoms within the depressive and negative symptoms

Parmi les patients atteints de schizophrénie, nombreux sont ceux souffrant également d'EDC de façon comorbide ou en matière de complication (avec une prévalence pouvant aller de 25 % à 81 %) (75, 76). Les symptômes dépressifs peuvent exister à chaque étape de la maladie schizophrénique, et sont particulièrement fréquents au stade prodromal de la pathologie, chez les individus à ultra haut risque (UHR) de transition psychotique et dans les premiers épisodes(1, 77-79). Cette comorbidité dépressive péjore le pronostic, favorise les rechutes et les ré hospitalisations, altère la qualité de vie. Sans oublier que cet état dépressif majore fortement le risque de décès par suicide. La schizophrénie est en effet associée à une surmortalité par suicide comparativement à la population générale, avec une prévalence entre 5 à 13 % (80). De plus, les effets secondaires de certains antipsychotiques, notamment le syndrome extrapyramidal, peuvent également mimer un syndrome dépressif (75, 80).

Symptômes névrotiques	Anxiété : 18 % Inquiétude : 17 %
Symptômes thymiques	Humeur dépressive : 16 % Manque d'énergie : 8,6 %
Symptômes cognitifs	Troubles de la concentration : 13 %
Symptômes physiques	Troubles de l'appétit et du sommeil : 13,5 %
Symptômes positifs	Suspicion : 9,7 % Idées de références : 7,1 %
Symptômes négatifs	Retrait social : 9,7 % Problèmes professionnels : 7 % Isolement : 6 %

Illustration 13 : Krebs, M.-O. (2015). *Signes précoces de schizophrénie*, Dunod. (1)
Figure 5,3 symptômes prodromiques de la schizophrénie d'après Hafner et coll. (1992)(12)

Ainsi cette interrogation des symptômes dépressifs dans la schizophrénie a intéressé de nombreuses équipes. Déjà en 1999 l'équipe d'Häfner et coll. (81) se posait la question si cette dimension dépressive pouvait finalement faire partie des symptômes de la schizophrénie, s'il s'agissait plutôt d'effets secondaires des traitements, ou plutôt d'une complication secondaire à l'évolution de la maladie psychotique voire parfois les 3 à la fois. Dans nos travaux ce qui fait pencher la balance en faveur d'un phénotype plutôt de type négatif que dépressif, est l'hypothèse physiopathologique qui semble sous-tendre cette différence comportementale. La principale hypothèse physiopathologique connue dans la dépression est celle d'une diminution de la transmission sérotoninergique, ce qui expliquerait l'efficacité des antidépresseurs, ayant pour but pharmacologique d'augmenter la disponibilité de la sérotonine dans les synapses. Or dans nos travaux, nous avons constaté que le phénotype observé résulte de la présence, mais aussi (et surtout) de l'activation des R5-HT2A, puisqu'il n'existe pas chez les souris dépourvues de ce récepteur. Les premiers résultats que nous avons obtenus en immunohistochimie suggèrent que cette activation dépende d'une augmentation de la libération extracellulaire de 5-HT dans le modèle PCP, ce qui est en accord avec les données de la littérature (74). En effet, l'équipe de Martin et coll. en 1998 (63) avait prouvé grâce à la micro dialyse (permettant la mesure directe du taux d'un neurotransmetteur dans une zone cérébrale donnée) qu'une administration systémique aiguë de PCP chez des rats adultes entraînait une augmentation du taux de 5 HT dans le CPF médian chez ces animaux. Une autre équipe, celle de Noda et coll., a démontré d'abord que l'administration répétée (chronique) de PCP chez des souris adultes

provoquait une augmentation significative de l'immobilité au FST (9). Cette augmentation est significativement atténuée par des APA tels que la clozapine et la ritansérine, mais aussi

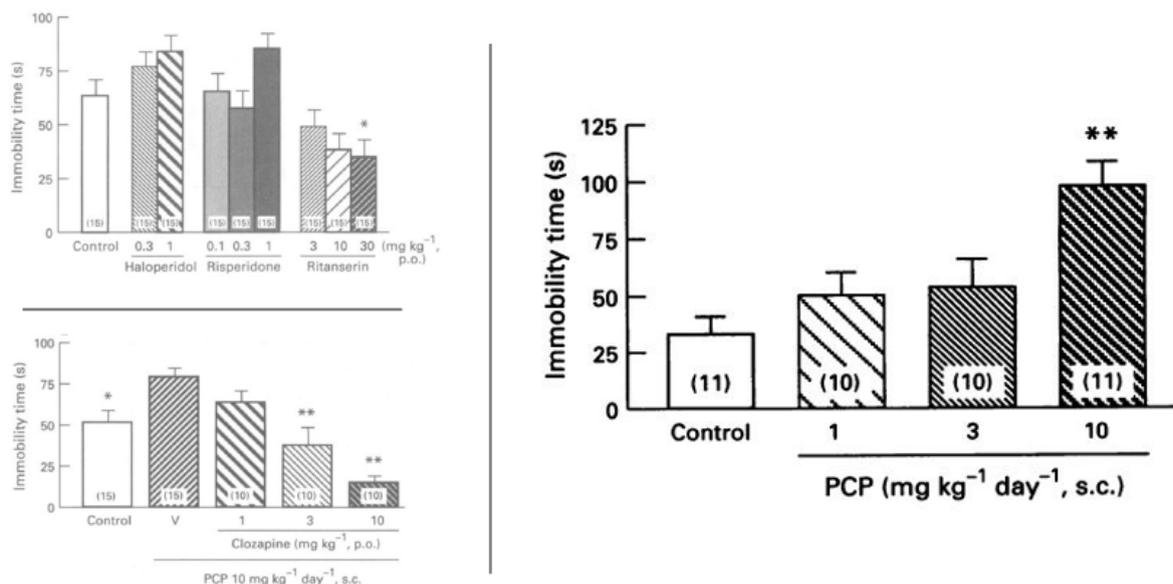


Illustration 14 : D'après Noda, Y. et coll. (1995). « Enhancement of immobility in a forced swimming test by subacute or repeated treatment with phencyclidine: a new model of schizophrenia. » *British journal of pharmacology* 116 (5): 2531-2537.(9) d'après les figures 1, 6 et 7

l'olanzapine (61). Une telle réduction n'existe pas dans le cas d'un traitement par Halopéridol (antipsychotique de première génération n'antagonisant pas le R-5HT2A). Néanmoins, l'augmentation de la libération extracellulaire de 5 HT dans notre modèle reste à confirmer expérimentalement par des études de micro dialyse, qui sont prévues en collaboration avec l'équipe d'Alain GARDIER de Châtenay-Malabry.

Par la suite, cette même équipe a montré que certains antidépresseurs comme la miansérine (qui à l'instar de la mirtazapine antagonisent également le R-5HT2A) entraînent une réduction de l'immobilité au FST induite par le traitement par PCP(62). Dans la même étude, ils observent une augmentation de la transmission sérotoninergique chez les animaux traités par la PCP, en mesurant le taux d'acide 5-hydroxyindoleacetic (5-HIAA), un métabolite de la 5 HT dans le CPF. Par ailleurs, l'hypothèse d'un rôle de la suractivation des R-5HT2A dans la genèse des symptômes négatifs a déjà fait l'objet de nombreuses études, précliniques (74), mais aussi cliniques en explorant les effets chez des patients souffrant de schizophrénie de traitements connus pour antagoniser les R-5HT2A, APA ou antidépresseurs(82, 83). Enfin, dans nos travaux nous démontrons que les souris PCP présentent au niveau du CPF, un degré d'expression de R5-HT2A significativement supérieur par rapport aux souris contrôles. Ce résultat étonnant pourrait être dû à un mécanisme neurodéveloppemental adaptatif en réponse à l'excès de 5-HT.

L'hypothèse neurophysiopathologique pourrait ainsi être la suivante : le phénotype observé chez les souris WT-PCP appartiendrait à un phénotype de type négatif, qui pourrait être secondaire à une activation soutenue des R5-HT2A au niveau du CPF par une augmentation de la transmission sérotoninergique, entraînant ainsi des altérations de la plasticité cérébrale au niveau neurodéveloppemental.

2) Forces des travaux présentés

Les forces des travaux exposés résident déjà dans le prototype utilisé. En effet, il s'agit d'un modèle reproduisant la trajectoire neurodéveloppementale de la schizophrénie tout en exploitant l'hypothèse d'un hypofonctionnement des R-NMDA dans la pathologie. De plus dans ce modèle les animaux présentent des équivalents des trois catégories de symptômes cardinaux, ce qui rend ce paradigme particulièrement robuste(13). C'est, à notre connaissance, la première fois qu'est évaluée dans ce modèle neurodéveloppemental avec administration néonatale de PCP la fonction des R-5HT2A et par extension le rôle de la sérotonine, dans l'apparition des altérations comportementales. Il s'agit de résultats solides sur le plan du contrôle de l'implication des R-5HT2A, puisqu'ils sont comparés à des populations d'animaux n'exprimant plus le récepteur à la suite d'une manipulation génétique. Enfin, ces travaux associent plusieurs catégories d'expérimentations, d'abord comportementales, mais aussi biochimiques et immunohistochimiques.

3) Limites des travaux présentés

La principale limite des travaux présentés est le fait que d'une manière générale, et d'autant plus dans une pathologie aussi multifactorielle et complexe que la schizophrénie, il soit délicat de faire une extrapolation directe entre les modèles précliniques et la clinique en elle-même. Dans la schizophrénie, il n'existe pas, à ce jour, de modèle unique, reproduisant parfaitement toutes les anomalies neurobiologiques et comportementales connues à ce jour dans la schizophrénie. De plus, il paraît difficile de recréer et surtout d'évaluer chez l'animal les manifestations à caractères subjectifs (comme les idées délirantes ou les hallucinations), ou certaines altérations de fonctions cognitives propres à l'homme (mémoire verbale ou sémantique) (13). Néanmoins, les modèles précliniques nous permettent de monitorer l'apparition des symptômes et d'étudier en profondeur les mécanismes pathologiques sous-jacents (notamment les mécanismes moléculaires) et ainsi de réunir progressivement des éléments nous permettant de mieux comprendre la physiopathologie de la maladie. Cela permet par conséquent de mettre en lumière de potentielles cibles thérapeutiques et donc à terme des

traitements qu'on espère efficaces. La seconde limite pourrait être l'impossibilité à ce jour de confirmer de façon formelle si ce que nous observons peut d'intégrer réellement dans un phénotype de nature négatif ou bien s'il s'agit finalement de comportements de type dépressif.

4) Ouverture

Ainsi d'autres travaux complémentaires vont être nécessaires afin d'étayer et approfondir les suppositions soulevées par ces résultats intermédiaires. Notamment, il faudra confirmer ou infirmer l'hypothèse d'une augmentation de la transmission sérotoninergique au sein du CPF. Pour cela il sera possible de doser directement le niveau de 5HT extracérébrale au niveau du CPF (technique de micro-dialyse) et de valider en immunofluorescence (IF) la présence de l'enzyme limitante de la formation de la sérotonine : la tryptophane hydroxylase (TPH2). Ce dernier contrôle serait intéressant notamment pour vérifier que la réduction du marquage 5HT observé en IF chez les animaux WT-PCP ne serait pas simplement secondaire à une diminution de la synthèse du neurotransmetteur. Pour confirmer le rôle du R5-HT2A dans l'apparition de ces anomalies, nous envisageons de réaliser les mêmes expériences sur des animaux ayant reçu une injection avec un antagoniste 5-HT2A avant le test, ainsi si nous ne retrouvons pas les altérations précédemment observées, nous pourrions conclure que l'activation du récepteur est indispensable à leur apparition. D'autre part, des enregistrements électrophysiologiques sur des tranches de CPF issus d'animaux PCP seront nécessaires afin de déterminer s'il existe des variations de plasticité synaptique au niveau des synapses thalamo-corticales ce qui corroborerait d'un point de vue « électrique » et fonctionnel ce que nous observons sur le plan moléculaire et biochimique. Enfin pour confirmer que ces anomalies retrouvées dans le modèle PCP néonatal peuvent s'inscrire dans l'élucidation des mécanismes physiopathologiques dans la schizophrénie, il sera nécessaire de vérifier si elles peuvent être répliquées dans un autre prototype, génétique cette fois. Il s'agirait du modèle de souris DISC-1 (Disrupted In Schizophrenia 1) que le laboratoire vient d'obtenir. DISC 1 est un gène codant pour la protéine synaptique DISC 1, qui est une protéine d'échafaudage (scaffold protein) essentielle dans des processus de développement cérébraux tels que la migration neuronale et l'arborisation dendritique(51, 84). DISC 1 fait partie des gènes candidats favorisant le développement de la schizophrénie. Il existe différents types de modèles précliniques de mutations génétiques allant du KO du gène à des protéines tronquées. Les animaux de ces modèles présentent des anomalies comportementales, mais également des altérations morphologiques cérébrales habituellement retrouvées dans la schizophrénie, à savoir des ventricules cérébraux élargis et une diminution de

l'épaisseur de la substance blanche corticale(53, 85). Ainsi si nous retrouvons des résultats similaires aux travaux exposés dans ce modèle, nos hypothèses s'en retrouveront renforcées, puisque les phénomènes observés le seraient à la fois dans un modèle reproduisant la trajectoire neurodéveloppementale de la schizophrénie, utilisant un agent pharmacologique, mais également dans un modèle génétique de schizophrénie. Enfin pour confirmer, si tant cela est possible, que le phénotype constaté soit bien de type négatif, d'autres tests comportementaux pourraient être utilisés, notamment dans l'appréciation de la motivation(56), ou en utilisant d'autres tests évaluant l'anhédonie. Enfin, la mise au point des échantillons autorisant l'étude du phosphoprotéome induit dans le CPF par l'activation des R5-HT2A permettra également d'étudier les modifications du phosphoprotéome induit dans les modèles PCP, mais également dans le modèle DISC1. Cela pourrait permettre à terme de mettre en évidence de nouvelles cibles thérapeutiques voire des candidats de biomarqueurs.

Bibliographie

1. Krebs M-O. Signes précoces de schizophrénie: Dunod; 2015.
2. Stahl SM, Stahl SM. Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications: Cambridge university press; 2013.
3. Dalery J, d'Amato T, Saoud M. Pathologies schizophréniques: Lavoisier; 2012.
4. Fossati P. Imagerie cérébrale en psychiatrie: contributions physiopathologiques de la neuro-imagerie: Lavoisier-Médecine sciences; 2015.
5. Insel TR. Rethinking schizophrenia. *Nature*. 2010;468(7321):187.
6. Berthoux C, Barre A, Bockaert J, Marin P, Bécamel C. Sustained Activation of Postsynaptic 5-HT_{2A} Receptors Gates Plasticity at Prefrontal Cortex Synapses. *Cerebral Cortex*. 2018.
7. Krynicki CR, Upthegrove R, Deakin J, Barnes TR. The relationship between negative symptoms and depression in schizophrenia: a systematic review. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 2018;137(5):380-90.
8. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular psychiatry*. 2005;10(1):40-68.
9. Noda Y, Yamada K, Furukawa H, Nabeshima T. Enhancement of immobility in a forced swimming test by subacute or repeated treatment with phencyclidine: a new model of schizophrenia. *British journal of pharmacology*. 1995;116(5):2531-7.
10. Millan MJ, Andrieux A, Bartzokis G, Cadenhead K, Dazzan P, Fusar-Poli P, et al. Altering the course of schizophrenia: progress and perspectives. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2016;15(7):485.
11. Barre A, Berthoux C, De Bundel D, Valjent E, Bockaert J, Marin P, et al. Presynaptic serotonin 2A receptors modulate thalamocortical plasticity and associative learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(10):E1382-E91.
12. Häfner H, Riecher-Rössler A, Hambrecht M, Maurer K, Meissner S, Schmidtke A, et al. IRAOS: an instrument for the assessment of onset and early course of schizophrenia. *Schizophrenia research*. 1992;6(3):209-23.

13. Jones C, Watson D, Fone K. Animal models of schizophrenia. *British journal of pharmacology*. 2011;164(4):1162-94.
14. Millan MJ, Agid Y, Brüne M, Bullmore ET, Carter CS, Clayton NS, et al. Cognitive dysfunction in psychiatric disorders: characteristics, causes and the quest for improved therapy. *Nature reviews Drug discovery*. 2012;11(2):141.
15. Sparta DR, Stuber GD. Cartography of serotonergic circuits. *Neuron*. 2014;83(3):513-5.
16. Lesch K-P, Waider J. Serotonin in the modulation of neural plasticity and networks: implications for neurodevelopmental disorders. *Neuron*. 2012;76(1):175-91.
17. David D, Gardier A. Les bases de pharmacologie fondamentale du système sérotoninergique: application à la réponse antidépressive. *L'Encéphale*. 2016;42(3):255-63.
18. Naughton M, Mulrooney JB, Leonard BE. A review of the role of serotonin receptors in psychiatric disorders. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*. 2000;15(6):397-415.
19. Nordquist N, Orelund L. Serotonin, genetic variability, behaviour, and psychiatric disorders-a review. *Upsala journal of medical sciences*. 2010;115(1):2-10.
20. Geyer MA, Vollenweider FX. Serotonin research: contributions to understanding psychoses. *Trends in pharmacological sciences*. 2008;29(9):445-53.
21. Eggers AE. A serotonin hypothesis of schizophrenia. *Medical hypotheses*. 2013;80(6):791-4.
22. Buchsbaum MS, Ingvar DH, Kessler R, Waters RN, Cappelletti J, Van Kammen DP, et al. Cerebral glucography with positron tomography: Use in normal subjects and in patients with schizophrenia. *Archives of General Psychiatry*. 1982;39(3):251-9.
23. Pettegrew JW, Keshavan MS, Panchalingam K, Strychor S, Kaplan DB, Tretta MG, et al. Alterations in brain high-energy phosphate and membrane phospholipid metabolism in first-episode, drug-naive schizophrenics: A pilot study of the dorsal prefrontal cortex by in vivo phosphorus 31 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Archives of general psychiatry*. 1991;48(6):563-8.
24. Gudlowski Y, Özgürdal S, Witthaus H, Gallinat J, Hauser M, Winter C, et al. Serotonergic dysfunction in the prodromal, first-episode and chronic course of schizophrenia as assessed by

the loudness dependence of auditory evoked activity. *Schizophrenia research*. 2009;109(1-3):141-7.

25. Juckel G. Serotonin: from sensory processing to schizophrenia using an electrophysiological method. *Behavioural brain research*. 2015;277:121-4.

26. Juckel G, Gudlowski Y, Müller D, Özgürdal S, Brüne M, Gallinat J, et al. Loudness dependence of the auditory evoked N1/P2 component as an indicator of serotonergic dysfunction in patients with schizophrenia—a replication study. *Psychiatry research*. 2008;158(1):79-82.

27. Stuss DT, Knight RT. *Principles of frontal lobe function*: Oxford University Press; 2013.

28. Selemon L, Zecevic N. Schizophrenia: a tale of two critical periods for prefrontal cortical development. *Translational psychiatry*. 2015;5(8):e623-e.

29. Celada P, Lladó-Pelfort L, Santana N, Kargieman L, Troyano-Rodriguez E, Riga M, et al. Disruption of thalamocortical activity in schizophrenia models: relevance to antipsychotic drug action. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2013;16(10):2145-63.

30. Hiser J, Koenigs M. The multifaceted role of the ventromedial prefrontal cortex in emotion, decision making, social cognition, and psychopathology. *Biological Psychiatry*. 2018;83(8):638-47.

31. Maat A, van Haren NE, Bartholomeusz CF, Kahn RS, Cahn W. Emotion recognition and theory of mind are related to gray matter volume of the prefrontal cortex in schizophrenia. *European Neuropsychopharmacology*. 2016;26(2):255-64.

32. Leweke FM, Mueller JK, Lange B, Fritze S, Topor CE, Koethe D, et al. Role of the Endocannabinoid System in the Pathophysiology of Schizophrenia: Implications for Pharmacological Intervention. *CNS drugs*. 2018;32(7):605-19.

33. Howes OD, Kapur S. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III—the final common pathway. *Schizophrenia bulletin*. 2009;35(3):549-62.

34. Parnaudeau S, O'Neill P-K, Bolkan SS, Ward RD, Abbas AI, Roth BL, et al. Inhibition of mediodorsal thalamus disrupts thalamofrontal connectivity and cognition. *Neuron*. 2013;77(6):1151-62.

35. Eusebio A, Micallef-Roll J. Glutamate et grandes fonctions cérébrales: Actualités sur la voie glutamatergique et la maladie d'Alzheimer. *La Lettre du neurologue*. 2010;14(11):407-12.

36. Javitt D. Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. *Molecular psychiatry*. 2004;9(11):984-97.
37. Kantrowitz JT, Javitt DC. N-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor dysfunction or dysregulation: the final common pathway on the road to schizophrenia? *Brain research bulletin*. 2010;83(3-4):108-21.
38. Castañé A, Santana N, Artigas F. PCP-based mice models of schizophrenia: differential behavioral, neurochemical and cellular effects of acute and subchronic treatments. *Psychopharmacology*. 2015;232(21-22):4085-97.
39. Mouri A, Noda Y, Enomoto T, Nabeshima T. Phencyclidine animal models of schizophrenia: approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochemistry international*. 2007;51(2-4):173-84.
40. Emamian ES, Karayiorgou M, Gogos JA. Decreased phosphorylation of NMDA receptor type 1 at serine 897 in brains of patients with Schizophrenia. *Journal of Neuroscience*. 2004;24(7):1561-4.
41. Bécamel C, Berthoux C, Barre A, Marin P. Growing evidence for heterogeneous synaptic localization of 5-HT_{2A} receptors. ACS Publications; 2017.
42. Stahl SM. *Prescriber's Guide: Antidepressants: Stahl's Essential Psychopharmacology*: Cambridge University Press; 2017.
43. Ebdrup BH, Rasmussen H, Arnt J, Glenthøj B. Serotonin 2A receptor antagonists for treatment of schizophrenia. *Expert opinion on investigational drugs*. 2011;20(9):1211-23.
44. Hernandez I, Sokolov BP. Abnormalities in 5-HT_{2A} receptor mRNA expression in frontal cortex of chronic elderly schizophrenics with varying histories of neuroleptic treatment. *Journal of Neuroscience Research*. 2000;59(2):218-25.
45. Laruelle M, Abi-Dargham A, Casanova MF, Toti R, Weinberger DR, Kleinman JE. Selective abnormalities of prefrontal serotonergic receptors in schizophrenia: a postmortem study. *Archives of general psychiatry*. 1993;50(10):810-8.
46. Marcusson JO, Morgan DG, Winblad B, Finch CE. Serotonin-2 binding sites in human frontal cortex and hippocampus. Selective loss of 5-HT_{2A} sites with age. *Brain Research*. 1984;311(1):51-6.

47. Lewis R, Kapur S, Jones C, DaSilva J, Brown GM, Wilson AA, et al. Serotonin 5-HT₂ receptors in schizophrenia: a PET study using [¹⁸F] setoperone in neuroleptic-naive patients and normal subjects. *American Journal of Psychiatry*. 1999;156(1):72-8.
48. Ngan ET, Yatham LN, Ruth TJ, Liddle PF. Decreased serotonin 2A receptor densities in neuroleptic-naive patients with schizophrenia: a PET study using [¹⁸F] setoperone. *American Journal of Psychiatry*. 2000;157(6):1016-8.
49. Minzenberg MJ, Laird AR, Thelen S, Carter CS, Glahn DC. Meta-analysis of 41 functional neuroimaging studies of executive function in schizophrenia. *Archives of general psychiatry*. 2009;66(8):811-22.
50. Woodward ND, Karbasforoushan H, Heckers S. Thalamocortical dysconnectivity in schizophrenia. *American Journal of Psychiatry*. 2012;169(10):1092-9.
51. Winship IR, Dursun SM, Baker GB, Balista PA, Kandratavicius L, Maia-de-Oliveira JP, et al. An overview of animal models related to schizophrenia. *The Canadian Journal of Psychiatry*. 2019;64(1):5-17.
52. Fejgin K, Safonov S, Pålsson E, Wass C, Engel JA, Svensson L, et al. The atypical antipsychotic, aripiprazole, blocks phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology*. 2007;191(2):377-85.
53. Clapcote SJ, Lipina TV, Millar JK, Mackie S, Christie S, Ogawa F, et al. Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice. *Neuron*. 2007;54(3):387-402.
54. Jentsch JD, Roth RH. The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 1999;20(3):201-25.
55. Sams-Dodd F. Phencyclidine-induced stereotyped behaviour and social isolation in rats: a possible animal model of schizophrenia. *Behavioural pharmacology*. 1996.
56. Yohn SE, Conn PJ. *Pick Your Model Wisely: Understanding the Negative Symptoms of Schizophrenia in Rodent Models*. ACS Publications; 2018.
57. Egerton A, Reid L, McKerchar CE, Morris BJ, Pratt JA. Impairment in perceptual attentional set-shifting following PCP administration: a rodent model of set-shifting deficits in schizophrenia. *Psychopharmacology*. 2005;179(1):77-84.

58. Pedersen CS, Goetghebeur P, Dias R. Chronic infusion of PCP via osmotic mini-pumps: a new rodent model of cognitive deficit in schizophrenia characterized by impaired attentional set-shifting (ID/ED) performance. *Journal of neuroscience methods*. 2009;185(1):66-9.
59. Murai R, Noda Y, Matsui K, Kamei H, Mouri A, Matsuba K, et al. Hypofunctional glutamatergic neurotransmission in the prefrontal cortex is involved in the emotional deficit induced by repeated treatment with phencyclidine in mice: Implications for abnormalities of glutamate release and NMDA–CaMKII signaling. *Behavioural brain research*. 2007;180(2):152-60.
60. Grayson B, Barnes S, Markou A, Piercy C, Podda G, Neill J. Postnatal phencyclidine (PCP) as a neurodevelopmental animal model of schizophrenia pathophysiology and symptomatology: a review. *Neurotoxin Modeling of Brain Disorders—Life-long Outcomes in Behavioral Teratology*: Springer; 2015. p. 403-28.
61. Noda Y, Kamei H, Mamiya T, Furukawa H, Nabeshima T. Repeated phencyclidine treatment induces negative symptom-like behavior in forced swimming test in mice: imbalance of prefrontal serotonergic and dopaminergic functions. *Neuropsychopharmacology*. 2000;23(4):375.
62. Noda Y, Mamiya T, Furukawa H, Nabeshima T. Effects of antidepressants on phencyclidine-induced enhancement of immobility in a forced swimming test in mice. *European journal of pharmacology*. 1997;324(2-3):135-40.
63. Martin P, Carlsson ML, Hjorth S. Systemic PCP treatment elevates brain extracellular 5-HT: a microdialysis study in awake rats. *Neuroreport*. 1998;9(13):2985-8.
64. Kwon M-O, Fischer F, Matthisson M, Herrling P. List of drugs in development for neurodegenerative diseases. *Neurodegenerative Diseases*. 2004;1(2-3):113-52.
65. Harrison PJ, Weinberger DR. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Molecular psychiatry*. 2005;10(1):40.
66. Goff DC, Hill M, Barch D. The treatment of cognitive impairment in schizophrenia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2011;99(2):245-53.
67. Marin P, Meffre J, Bockaert J. mTOR—Une nouvelle cible pour le traitement des troubles cognitifs de la schizophrénie? *médecine/sciences*. 2013;29(1):28-30.
68. Meffre J, Chaumont-Dubel S, la Cour CM, Loiseau F, Watson DJ, Dekeyne A, et al. 5-HT₆ receptor recruitment of mTOR as a mechanism for perturbed cognition in schizophrenia. *EMBO molecular medicine*. 2012;4(10):1043-56.

69. Krishnan V, Nestler EJ. Animal models of depression: molecular perspectives. *Molecular and functional models in neuropsychiatry*: Springer; 2011. p. 121-47.
70. Yan H-C, Cao X, Das M, Zhu X-H, Gao T-M. Behavioral animal models of depression. *Neuroscience bulletin*. 2010;26(4):327-37.
71. Eagle AL, Mazei-Robison M, Robison AJ. Sucrose preference test to measure stress-induced anhedonia. *Bio Protoc*. 2016;6(11):1822.
72. Scheggi S, De Montis MG, Gambarana C. Making sense of rodent models of anhedonia. *International Journal of Neuropsychopharmacology*. 2018;21(11):1049-65.
73. Sultana R, Lee CC. Expression of Behavioral Phenotypes in Genetic and Environmental Mouse Models of Schizophrenia. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2020;14:29.
74. Chatterjee M, Jaiswal M, Palit G. Comparative evaluation of forced swim test and tail suspension test as models of negative symptom of schizophrenia in rodents. *ISRN psychiatry*. 2012;2012.
75. Lako IM, Bruggeman R, Knegtering H, Wiersma D, Schoevers R, Slooff C, et al. A systematic review of instruments to measure depressive symptoms in patients with schizophrenia. *Journal of affective disorders*. 2012;140(1):38-47.
76. Nakajima S, Takeuchi H, Fervaha G, Plitman E, Chung JK, Caravaggio F, et al. Comparative efficacy between clozapine and other atypical antipsychotics on depressive symptoms in patients with schizophrenia: analysis of the CATIE phase 2E data. *Schizophrenia research*. 2015;161(2-3):429-33.
77. Addington D, Addington J, Patten S. Depression in people with first-episode schizophrenia. *The British Journal of Psychiatry*. 1998;172(S33):90-2.
78. Lim J, Rekhi G, Rapisarda A, Lam M, Kraus M, Keefe RS, et al. Impact of psychiatric comorbidity in individuals at Ultra High Risk of psychosis—Findings from the Longitudinal Youth at Risk Study (LYRIKS). *Schizophrenia research*. 2015;164(1-3):8-14.
79. Yung AR, McGorry PD. The prodromal phase of first-episode psychosis: past and current conceptualizations. *Schizophrenia bulletin*. 1996;22(2):353-70.
80. Dollfus S. *Les schizophrénies*. Paris: Lavoisier-Médecine sciences; 2019. 445 p.

81. Häfner H, Löffler W, Maurer K, Hambrecht M, Heiden Wad. Depression, negative symptoms, social stagnation and social decline in the early course of schizophrenia. *Acta Psychiatrica Scandinavica*. 1999;100(2):105-18.
82. Fusar-Poli P, Papanastasiou E, Stahl D, Rocchetti M, Carpenter W, Shergill S, et al. Treatments of negative symptoms in schizophrenia: meta-analysis of 168 randomized placebo-controlled trials. *Schizophrenia bulletin*. 2015;41(4):892-9.
83. Vidal C, Reese C, Fischer BA, Chiapelli J, Himelhoch S. Meta-analysis of efficacy of mirtazapine as an adjunctive treatment of negative symptoms in schizophrenia. *Clinical schizophrenia & related psychoses*. 2015;9(2):88-95.
84. Mouri A, Nagai T, Ibi D, Yamada K. Animal models of schizophrenia for molecular and pharmacological intervention and potential candidate molecules. *Neurobiology of disease*. 2013;53:61-74.
85. Jaaro-Peled H. Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models. *Progress in brain research*. 179: Elsevier; 2009. p. 75-86.

Serment d'Hippocrate

- *En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.*
- *Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.*
- *Admis (e) dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.*
- *Respectueux (se) et reconnaissant (e) envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert (e) d'opprobre et méprisé (e) de mes confrères si j'y manque.*

Résumé

Introduction

La schizophrénie est une pathologie psychiatrique chronique intriquant facteurs génétiques et environnementaux. L'équipe de l'Institut Génomique Fonctionnelle (IGF) a développé un modèle neurodéveloppemental de schizophrénie, utilisant la phencyclidine (PCP) en injections néonatales. De plus, l'expression du R5-HT2A est connue comme dérégulée dans la maladie. Les objectifs de cette étude sont de déterminer si les R5-HT2A sont impliqués dans l'apparition des symptômes de type négatif observés dans le modèle PCP grâce notamment à une lignée de souris Knock-Out 5-HT2A et de mettre au point la préparation des échantillons biologiques pour permettre l'analyse du phosphoprotéome induit par l'activation des R 5-HT2A, in vivo.

Méthodes

Des analyses comportementales ont été réalisées sur les animaux adultes issus de notre modèle (souris PCP), comparativement à des animaux contrôles. Des analyses biochimiques et en immunofluorescence ont été réalisées à partir d'extraits du CPF de ces animaux. Les mêmes expérimentations ont été réalisées sur des animaux de la lignée KO-5-HT2A, exposés ou non à la PCP.

Résultats

Nous confirmons que les souris adultes PCP présentent un phénotype comportemental de type négatif comparativement aux contrôles. Il existe une activation chronique du R-5HT2A entraînant des phosphorylations des sous-unités des récepteurs glutamatergiques, ainsi qu'une diminution significative du marquage de la sérotonine en Immunofluorescence. Ces éléments suggèrent une augmentation de la transmission sérotoninergique. Nous démontrons qu'il n'existe pas de telles différences entre les souris KO-PCP et les KO-contrôles ce qui questionne le rôle du R5-HT2A dans leur apparition. Enfin nous montrons que ce récepteur est surexprimé dans le cortex préfrontal des souris PCP, ce qui laisse présager d'un mécanisme neurodéveloppemental adaptatif.

Conclusion

Nous montrons dans ces travaux qu'il existe des altérations comportementales, biochimiques et immunohistochimiques chez les animaux adultes PCP, dont l'apparition semble dépendre de l'expression et de l'activation du R5-HT2A. D'autres expérimentations restent nécessaires afin de confirmer ou infirmer les hypothèses soulevées.

Mots-Clés

Schizophrénie Phencyclidine symptômes négatifs 5-HT2A sérotonine modèle neurodéveloppemental préclinique Cortex Préfrontal (CPF)