

Université de Montréal

**Le rôle de la neurotensine dans l'expression de la
sensibilisation dopaminergique induite par un traitement
continu aux antipsychotiques**

par

Alice Servonnet

Département de neurosciences

Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté de médecine
en vue de l'obtention du grade de Maître ès Sciences (M. Sc.) en sciences neurologiques

Août 2015

© Alice Servonnet, 2015

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

**Le rôle de la neurotensine dans l'expression de la sensibilisation dopaminergique induite
par un traitement continu aux antipsychotiques**

Présenté par :

Alice Servonnet

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dre Valérie Mongrain
Présidente-rapporteuse

Dre Anne-Noël Samaha
Directrice de recherche

Dr Pierre-Paul Rompré
Codirecteur

Dr Jonathan Brouillette
Membre du jury

Résumé

Les médicaments antipsychotiques améliorent les symptômes de la schizophrénie, mais peuvent perdre leur efficacité à long terme en sensibilisant le système dopaminergique. Les mécanismes sous-tendant cette sensibilisation ne sont pas connus. Le neuropeptide neurotensine module le système dopaminergique et est régulé par les antipsychotiques dans le noyau accumbens. Dans cette région, la neurotensine peut avoir des effets anti- et pro-dopaminergiques via les récepteurs NTS1. Nous avons pour hypothèse que la neurotensine du noyau accumbens module l'expression de la sensibilisation dopaminergique induite par les antipsychotiques. Ainsi, nous avons traité par intermittence ou continuellement des rats à l'antipsychotique halopéridol. Seule l'administration continue sensibilise le système dopaminergique et donc sensibilise aux effets locomoteurs de l'amphétamine. Des microinjections de neurotensine dans le noyau accumbens ont diminué l'hyperlocomotion induite par l'amphétamine chez les rats témoins et ceux traités par intermittence aux antipsychotiques. Au contraire, la sensibilisation dopaminergique induite par un traitement continu serait liée à une augmentation des effets pro-dopaminergiques de la neurotensine. Ceci est indépendant d'un changement de densité des récepteurs NTS1 dans le noyau accumbens. Un traitement intermittent n'a pas d'effet sur cette mesure également. De plus, autant un traitement antipsychotique continu qu'intermittent augmentent la transcription de proneurotensine. Donc, seule l'altération de la fonction de la neurotensine du noyau accumbens corrèle avec la sensibilisation dopaminergique. En parallèle, dans le caudé-putamen, un traitement continu augmente la transcription de proneurotensine et un traitement intermittent augmente la densité des récepteurs NTS1. En somme, la neurotensine du noyau accumbens module la sensibilisation dopaminergique induite par les antipsychotiques.

Mots-clés : Amphétamine, antipsychotique, caudé-putamen, locomotion, neurotensine, noyau accumbens, proneurotensine, récepteur NTS1, schizophrénie, sensibilisation dopaminergique.

Abstract

Antipsychotic medications improve schizophrenia symptoms, but they can also sensitize the dopamine system over time, consequently leading to impaired treatment efficacy. The mechanisms underlying antipsychotic-evoked dopamine supersensitivity are not known. The neuropeptide neurotensin regulates the dopamine system and can be modulated by antipsychotics, particularly in the nucleus accumbens. In this area, neurotensin has both anti- and pro-dopaminergic effects via an interaction with NTS1 receptors. In the present study, we hypothesized that neurotensin in the nucleus accumbens can modulate the expression of dopamine supersensitivity-evoked by an antipsychotic treatment. We treated rats with the antipsychotic haloperidol administered either intermittently or continuously. Continuous, but not intermittent, haloperidol treatment induces dopamine supersensitivity as shown by an increased locomotor activity induced by amphetamine. Microinjections of neurotensin in the nucleus accumbens diminish amphetamine-induced locomotion in control and intermittently antipsychotic-treated rats. Dopamine supersensitivity-evoked by a continuous antipsychotic treatment is linked to a potential enhancement of the pro-dopaminergic effects of neurotensin. This is not caused by any change in NTS1 receptor levels in the nucleus accumbens. An intermittent treatment did not alter NTS1 receptor levels as well in this area. Also, both continuous and intermittent treatment increased neurotensin transcription in the nucleus accumbens. Thus, only neurotensin altered function correlates with dopamine supersensitivity. In the caudate-putamen, continuous antipsychotic treatment increased neurotensin transcription, whereas intermittent treatment increased NTS1 receptor levels. In summary, neurotensin in the nucleus accumbens can modulate the expression of dopamine supersensitivity-evoked by antipsychotics.

Keywords: Amphetamine, antipsychotic, caudate-putamen, dopamine supersensitivity, locomotion, neurotensin, NTS1 receptor, nucleus accumbens, proneurotensin, schizophrenia.

Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	iv
Table des matières.....	v
Liste des tableaux.....	ix
Liste des figures.....	x
Liste des sigles.....	xi
Remerciements.....	xiii
INTRODUCTION.....	1
1. LE SYSTÈME DOPAMINERGIQUE.....	2
1.1. LA DOPAMINE.....	2
1.2. LES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES.....	3
1.2.1. Les récepteurs dopaminergiques de type 1.....	3
1.2.2. Les récepteurs dopaminergiques de type 2.....	4
1.3. LES CIRCUITS DOPAMINERGIQUES ET LEURS FONCTIONS.....	5
1.3.1. La voie mésocorticolimbique.....	5
1.3.2. La voie nigrostriée.....	7
1.3.3. La voie tubéroinfundibulaire.....	10
2. LE SYSTÈME NEUROTENSINERGIQUE.....	11
2.1. LA NEUROTENSINE.....	11
2.2. LES RÉCEPTEURS NEUROTENSINERGIQUES.....	12
2.2.1. Les récepteurs de la neurotensine de type 1.....	13
2.2.2. Les récepteurs de la neurotensine de type 2.....	13
2.2.3. Les récepteurs de la neurotensine de type 3 et 4.....	15
3. INTERACTION ENTRE LES SYSTÈMES DOPAMINERGIQUE ET NEUROTENSINERGIQUE.....	16

3.1. LES EFFETS DE LA NEUROTENSINE SUR LES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES	16
3.1.1. Effets sur les récepteurs dopaminergiques de type 2	17
3.1.2. Effets sur les récepteurs dopaminergiques de type 1	17
3.2. LES EFFETS DE LA NEUROTENSINE DANS LE SYSTÈME DOPAMINERGIQUE	18
3.2.1. Effets dans le noyau accumbens	18
3.2.2. Effets dans le caudé-putamen.....	21
3.2.3. Effets dans le mésencéphale	22
3.3. ALTÉRATION DE L'EXPRESSION DE LA NEUROTENSINE PAR LES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES	24
3.3.1. Modulation par les récepteurs dopaminergiques de type 2.....	24
3.3.2. Modulation par les récepteurs dopaminergiques de type 1	25
4. LA SCHIZOPHRÉNIE	27
4.1. LES SYMPTÔMES DE LA SCHIZOPHRÉNIE	27
4.2. LE TRAITEMENT DES SYMPTÔMES DE LA SCHIZOPHRÉNIE	27
4.2.1. Les antipsychotiques typiques	28
4.2.2. Les antipsychotiques atypiques.....	29
4.3. LA THÉORIE NEURODÉVELOPPEMENTALE DE LA SCHIZOPHRÉNIE.....	30
4.3.1. La structure anormale du système nerveux central.....	30
4.3.2. Les facteurs génétiques et environnementaux.....	31
4.4. LES SYSTÈMES DE NEUROTRANSMETTEURS ALTÉRÉS DANS LA SCHIZOPHRÉNIE	33
4.4.1. Le système dopaminergique.....	33
4.4.2. Le système glutamatergique.....	34
4.4.3. Le système neurotensinergique.....	35
5. PROBLÉMATIQUES ET HYPOTHÈSE DE L'ÉTUDE PRÉSENTE.....	37
ARTICLE	41
TITLE PAGE.....	42
CONTRIBUTION DES CO-AUTEURS.....	43

ACCORD DES CO-AUTEURS	43
HIGHLIGHTS	44
ABSTRACT	44
KEY WORDS	45
INTRODUCTION	45
MATERIALS AND METHODS	47
RESULTS	54
DISCUSSION	59
ACKNOWLEDGMENT	66
FUNDING AND DISCLOSURE	67
ABBREVIATIONS	67
FIGURE LEGENDS	67
REFERENCES	69
<i>DISCUSSION</i>	83
6. RÉSUMÉ DES RÉSULTATS	84
7. TRAITEMENTS ANTIPSYCHOTIQUES DE L'ÉTUDE PRÉSENTE	85
7.1. DESCRIPTION DES TRAITEMENTS	85
7.2. SENSIBILISATION DOPAMINERGIQUE : RÉSULTATS	87
8. LA FONCTION DE LA NEUROTENSINE DANS LE NOYAU ACCUMBENS	88
8.1. RAPPEL DE SA FONCTION	88
8.2. LES RÉSULTATS DE L'ÉTUDE PRÉSENTE	88
8.2.1. La fonction de la neurotensine dans le noyau accumbens chez des animaux non-sensibilisés	89
8.2.2. La fonction de la neurotensine dans le noyau accumbens chez des animaux dont le système dopaminergique est sensibilisé par un traitement antipsychotique	89

8.3. COMMENT UN TRAITEMENT ANTIPSYCHOTIQUE PEUT-IL ALTÉRER LA FONCTION DE LA NEUROTENSINE DANS LE NOYAU ACCUMBENS ?	91
8.3.1. Régulation de la concentration extra-cellulaire de neurotensine dans le noyau accumbens par les antipsychotiques	91
8.3.2. Régulation des récepteurs NTS1 par les récepteurs dopaminergiques de type 2....	93
9. LES RÉCEPTEURS NEUROTENSINERGIQUES DU STRIATUM	95
9.1. LE NOYAU ACCUMBENS	95
9.1.1. Densité des récepteurs NTS1 : les résultats de l'étude présente et leur implication	95
9.2. LE CAUDÉ-PUTAMEN	97
9.2.1. Densité des récepteurs NTS1 : les résultats de l'étude présente et leur implication	97
10. LES PROJECTIONS NEUROTENSINERGIQUES DU STRIATUM.....	99
10.1. LE NOYAU ACCUMBENS	99
10.1.1. Expression de l'ARNm de la proneurotensine : les résultats de l'étude présente et leur implication	99
10.2. LE CAUDÉ-PUTAMEN	100
10.2.1. Expression de l'ARNm de la proneurotensine : les résultats de l'étude présente et leur implication	100
11. LES LIMITES ET PERSPECTIVES DE L'ÉTUDE PRÉSENTE	102
12. LES IMPLICATIONS CLINIQUES DE L'ÉTUDE PRÉSENTE	105
CONCLUSION.....	107
BIBLIOGRAPHIE.....	i

Liste des tableaux

Tableau I. Les effets d'un traitement aigu aux antagonistes D ₂ (e.g. antipsychotique) sur la neurotensine et les récepteurs NTS1 dans le striatum	24
--	----

Liste des figures

Figure 1. Schéma des circuits mésocorticolimbique et nigrostrié	6
Figure 2. Le circuit des ganglions de la base	8
Figure 3. Modulation de l'activité des récepteurs de type D ₂ par la neurotensine et le récepteur NTS1	16
Figure 4. Effet de la neurotensine dans le striatum.....	20
Manuscrit – Fig. 1	77
Manuscrit – Fig. 2	78
Manuscrit – Fig. 3	79
Manuscrit – Fig. 4	80
Manuscrit – Fig. 5	81
Manuscrit – Fig. 6	82
Figure 5. Représentation schématique de l'occupation des récepteurs de type D ₂ par les deux modèles de traitement antipsychotique utilisés dans l'étude présente.....	86

Liste des sigles

5-HT : 5-hydroxytryptamine

ADN : acide désoxyribonucléique

AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate

AMPc : adénosine monophosphate cyclique

ARNm : acide ribonucléique messenger

BRET : transfert d'énergie de résonance de bioluminescence

CREB : *cAMP-response element binding protein*

CA : corne d'Ammon

CPu : caudé-putamen

DA : dopamine

DAT : transporteur membranaire de la dopamine

D₁ : récepteur dopaminergique 1

D₂ : récepteur dopaminergique 2

D₂^{HIGH} : récepteur dopaminergique de type D₂ en haute affinité pour la dopamine

D_{2L} : isoforme long du récepteur dopaminergique 2

D_{2s} : isoforme court du récepteur dopaminergique 2

D₃ : récepteur dopaminergique 3

D₄ : récepteur dopaminergique 4

D₅ : récepteur dopaminergique 5

ESPC : courant post-synaptique excitateur

GABA : acide γ -aminobutyrique

GL : glutamate

GluR : récepteurs glutamatergiques

GPe : globus pallidus externe

GPi : globus pallidus interne

L-DOPA : 3,4-dihydroxyphénylalanine

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NPP : noyau pédonculo-pontin

NST : noyau sous-thalamique

NT : neurotensine

NTS1 : récepteur de type 1 de la neurotensine

NTS2 : récepteur de type 2 de la neurotensine

NTS3 : récepteur de type 3 de la neurotensine

NTS4 : récepteur de type 4 de la neurotensine

PCP : phéncyclidine

PKC : protéine kinase C

SNe : substance noire compacte

SNr : substance noire réticulée

TVL : thalamus ventrolatéral

VMAT2 : transporteur vésiculaire des monoamines de type 2

Remerciements

J'aimerais tout d'abord remercier mes deux directeurs de maîtrise, les Drs Anne-Noël Samaha et Pierre-Paul Rompré. Dre Samaha m'a accueilli dans son laboratoire pour un stage durant mon baccalauréat, ce qui m'a guidé et motivé à continuer aux études supérieures. Je tiens spécialement à la remercier pour m'avoir fait confiance et m'avoir accepté dans son laboratoire pour la maîtrise. Je tiens également à remercier le Dr Rompré pour avoir accepté de me codiriger, et de m'avoir permis de continuer à étudier dans un domaine que je trouve fascinant. Je suis reconnaissante d'avoir eu des directeurs qui m'ont guidé tout au long de ma maîtrise avec leur grand savoir et leur grande disponibilité.

Je veux également remercier mes collègues : Florence Allain, Cynthia El Hage, Ritchy Hodebourg et Ellie-Anna Minogianis. Je suis reconnaissante qu'ils aient été toujours disponibles pour m'aider lorsque j'avais besoin d'eux. Grâce à leur grand esprit d'équipe, j'ai réussi à apprendre et à accomplir beaucoup plus durant ma maîtrise. Merci à Florence pour m'avoir supporté, Cynthia pour m'avoir aidé dans toutes les complications que j'ai connues, Ritchy pour son amicalité et Ellie-Anna dont l'aide et la disponibilité sont toujours précieuses. Je tiens aussi à remercier Claude Bouchard, pour son aide incroyable tout au long de ma maîtrise. Je remercie aussi le Dr Daniel Lévesque, qui m'a guidé dans plusieurs expériences effectuées au cours de ma maîtrise et qui a été grandement disponible. J'aimerais remercier ma famille, particulièrement mes parents, qui m'ont toujours encouragé et supporté dans mes études, et mon frère et ma sœur. Finalement, j'aimerais remercier mon amie Nadine Marcu Roy, qui m'a aidé à décrocher grâce à son humour et sa personnalité unique en son genre.

Introduction

1. LE SYSTÈME DOPAMINERGIQUE

1.1. LA DOPAMINE

La dopamine est un neurotransmetteur du système nerveux central et périphérique, faisant partie de la famille des catécholamines (Meyer and Quenzer, 2005). Elle est issue de l'acide aminé essentiel tyrosine, qui est converti en 3,4-dihydroxyphénylalanine (L-DOPA) par la tyrosine hydroxylase. À partir de la L-DOPA, la dopamine est produite par l'enzyme décarboxylase des acides aminés aromatiques. Par la suite, les catécholamines norépinéphrine et épinéphrine peuvent être produites à partir de la dopamine. La synthèse de dopamine est contrôlée grâce à la régulation de la production de l'enzyme tyrosine hydroxylase par l'activité des neurones dopaminergiques, ainsi que la concentration de dopamine dans les terminaisons dopaminergiques (Meyer and Quenzer, 2005). Ainsi, lorsque la décharge des neurones dopaminergiques est élevée et donc la libération de dopamine aussi, la production de l'enzyme tyrosine hydroxylase se voit augmentée, afin de satisfaire la demande en dopamine. Lorsque la concentration de dopamine dans les terminaisons pré-synaptiques est élevée, la production de la tyrosine hydroxylase est restreinte, puisque le réservoir de dopamine est suffisant. Une diminution de la disponibilité de la tyrosine peut également avoir un impact sur la production de dopamine. À des fins de recherche, il a été démontré qu'une diète faible en tyrosine permet de diminuer les taux de dopamine dans le cerveau (Leyton et al., 2004). La dopamine est synthétisée en très grande majorité dans une région restreinte du cerveau, soit le mésencéphale (Meyer and Quenzer, 2005). Elle est également produite à moindre échelle dans l'hypothalamus, le bulbe olfactif et la rétine.

La dopamine est stockée dans des vésicules via le transporteur vésiculaire des monoamines de type 2 (VMAT2). La dopamine libérée est recapturée dans les terminaisons dopaminergiques, via le transporteur membranaire de la dopamine (DAT). Elle peut ensuite être de nouveau stockée dans des vésicules ou alors être dégradée par la monoamine oxydase (MAO), afin d'éviter un stockage excessif de dopamine. Les psychostimulants peuvent augmenter les taux extra-cellulaires de dopamine en interagissant avec le DAT, mais également le VMAT2. Par exemple, le psychostimulant amphétamine peut vider le contenu des vésicules en dopamine (Fleckenstein et al., 2007), changer le sens à travers lequel la dopamine traverse le

DAT, en devenant d'intra- à extra-cellulaire (Robertson et al., 2009) et augmenter l'exocytose de dopamine (Daberkow et al., 2013).

1.2. LES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES

La dopamine possède des récepteurs de type métabotropique, qui sont classés en deux catégories, soit les récepteurs dopaminergiques de type 1 et de type 2 (Missale et al., 1998). Ils seront référés ici comme les récepteurs de type D₁ et de type D₂. Avant même avoir été clonés, les récepteurs de type D₁ ont été identifiés par leur capacité à stimuler l'activité de l'adénylyl cyclase (Missale et al., 1998). Au contraire, il avait été démontré qu'un autre type de récepteur dopaminergique inhibait l'activité de l'adénylyl cyclase. Il fut alors clair que deux types de récepteurs dopaminergiques co-existaient dans le système nerveux central.

1.2.1. Les récepteurs dopaminergiques de type 1

Les récepteurs de type D₁ sont une famille de récepteurs à sept passages transmembranaires couplés à une protéine G. Le récepteur dopaminergique 1 (D₁) fut le premier à être cloné dans la famille des récepteurs de type D₁, et possède des séquences de 446 acides aminés chez le rat et l'humain, qui sont similaires à 90 % entre les deux espèces (Zhou et al., 1990, Dearry et al., 1990). Un deuxième récepteur dopaminergique très similaire au récepteur D₁ fut identifié, soit le récepteur dopaminergique 5 (D₅). Ce récepteur possède une séquence de 477 acides aminés chez l'humain (Sunahara et al., 1991) et de 475 acides aminés chez le rat, similaire à 83 % entre les deux espèces (Tiberi et al., 1991). L'affinité de la dopamine pour le récepteur D₅ est dix fois supérieure à celle pour le récepteur D₁ ($K_i = 228$ nM versus 2 340 nM; Sunahara et al., 1991). Les récepteurs de type D₁ sont principalement couplés avec des protéines de type G_s, soit des protéines de type stimulatrice (Sunahara et al., 1991, Missale et al., 1998). Ainsi, ces récepteurs peuvent stimuler l'activité de l'enzyme adénylyl cyclase et augmenter la production d'adénosine monophosphate cyclique [AMPC; Meyer and Quenzer (2005), Missale et al. (1998)]. Ils peuvent également augmenter la mobilisation intra-cellulaire de calcium (Missale et al., 1998).

Les récepteurs de type D₁ sont localisés dans de nombreuses régions cérébrales, dont le caudé-putamen, le noyau accumbens, le globus pallidus, l'amygdale, le tubercule olfactif, le septum latéral, le thalamus, l'hypothalamus, le cervelet, l'hippocampe, le cortex cingulaire et

orbitofrontal, la substance noire et l'aire tegmentaire ventrale (Huang et al., 1992, Khan et al., 2000).

1.2.2. Les récepteurs dopaminergiques de type 2

Tout comme les récepteurs de type D₁, les récepteurs de la famille des récepteurs de type D₂ sont à sept passages transmembranaires et couplés à une protéine G. Le récepteur dopaminergique 2 (D₂) est le premier à avoir été cloné dans cette famille (Bunzow et al., 1988). Autant chez l'humain que chez le rat, le récepteur D₂ possède deux isoformes issus du même gène, soit un isoforme long (D_{2L}) et un isoforme court (D_{2S}) moins répandu (Eidne et al., 1989, Dal Toso et al., 1989). Entre le rat et l'humain, la séquence en acides aminés de ces deux isoformes est hautement similaire. Le récepteur D_{2S} contient 414 acides aminés chez l'humain et 415 chez le rat, alors que l'isoforme D_{2L} contient 29 acides aminés supplémentaires chez les deux espèces. Il est intéressant de noter que cette séquence supplémentaire se situe sur un site déterminant dans l'affinité pour les protéines G. Les deux isoformes possèderaient donc des affinités distinctes pour ces protéines. De plus, ces isoformes se différencient par leur localisation et leur fonction dans la synapse. Les récepteurs D_{2L} sont majoritairement exprimés en post-synaptique, alors que les récepteurs D_{2S} sont principalement des autorécepteurs exprimés en pré-synaptique (Usiello et al., 2000). En ce qui attrait à leur fonction, les autorécepteurs D₂ localisés en somato-dendritiques régulent le taux de décharge et l'excitabilité des neurones dopaminergiques, alors que ceux localisés sur les terminaisons axonales modulent la synthèse et la relâche de dopamine (Ford, 2014).

Le récepteur dopaminergique 3 (D₃) est le second récepteur de la famille des récepteurs de type D₂ à avoir été cloné (Sokoloff et al., 1990). Ce récepteur possède une séquence de 446 acides aminés chez le rat, qui est similaire à celle de l'humain composée de 400 acides aminés (Giros et al., 1990). Le récepteur dopaminergique 4 (D₄) est le troisième et dernier récepteur connu de la famille des récepteurs de type D₂. Il fut cloné en premier chez l'humain (Van Tol et al., 1991), puis plus tard chez le rat (O'Malley et al., 1992). Le récepteur D₄ possède une séquence de 387 acides aminés chez l'humain et une de 385 acides aminés chez le rat hautement similaire. Les récepteurs de type D₂ sont modérément similaires entre eux et présentent des

propriétés pharmacologiques distinctes. Par exemple, la dopamine possède une affinité vingt fois supérieure pour le récepteur D₃ par rapport au récepteur D₂ (Sokoloff et al., 1990).

Les récepteurs de type D₂ sont principalement couplés avec des protéines de type G_i, soit des protéines de type inhibitrice (Meyer and Quenzer, 2005, Missale et al., 1998). Ce couplage permet d'inhiber l'activité de l'adénylyl cyclase et donc la production d'AMPc. Ils peuvent également diminuer la concentration intra-cellulaire de calcium et de potassium. L'activité inhibitrice des récepteurs de type D₂ en fait une bonne cible thérapeutique pour traiter les symptômes de la schizophrénie. En effet, il y a une forte corrélation entre l'efficacité thérapeutique d'un traitement antipsychotique et son affinité pour les récepteurs de type D₂ (Seeman et al., 1976, Creese et al., 1976), surtout le récepteur D₂ [voir Chapitre 4.2 à la page 27; Richtand et al. (2007)]. Tout comme les récepteurs de type D₁, les récepteurs de type D₂ sont exprimés dans le caudé-putamen, le noyau accumbens, l'amygdale, le tubercule olfactif, le septum latéral, le thalamus, l'hypothalamus, l'hippocampe, le cervelet, l'aire tegmentaire ventral, la substance noire et le cortex cingulaire (Levey et al., 1993, Brock et al., 1992, Levesque et al., 1992, Defagot et al., 1997, Primus et al., 1997).

1.3. LES CIRCUITS DOPAMINERGIQUES ET LEURS FONCTIONS

Tel que mentionné précédemment, la dopamine est synthétisée dans des régions restreintes du cerveau, incluant le mésencéphale, l'hippocampe, la rétine et le bulbe olfactif (Meyer and Quenzer, 2005). La dopamine est toutefois libérée dans de nombreuses régions du cerveau. Dans ce chapitre, il sera question de détailler les circuits dopaminergiques ayant pour origine le mésencéphale, soit les circuits mésocorticolimbique et nigrostrié, et leurs aires de projections. Le circuit tubéro-infundibulaire, ayant pour origine l'hypothalamus, sera également décrit.

1.3.1. La voie mésocorticolimbique

La voie mésocorticolimbique a pour origine les neurones dopaminergiques situés dans l'aire tegmentaire ventrale et les noyaux de la ligne médiane. Ces neurones projettent dans diverses aires limbiques sous-corticales et corticales. Le *shell* latéral et le *core* du noyau

accumbens, ainsi que le tubercule olfactif latéral, les noyaux de la strie terminale et l'amygdale reçoivent principalement des projections dopaminergiques de la portion latérale de l'aire tegmentaire ventrale [circuit vert dans la **Figure 1** à la page 6; Ikemoto (2007), Fallon (1988)]. Le *shell* médian du noyau accumbens, le tubercule olfactif médian et le septum latéral reçoivent principalement des projections dopaminergiques des noyaux de la ligne médiane, et de la portion médiane de l'aire tegmentaire ventrale (le circuit bleu dans la **Figure 1** à la page 6). Les cortex

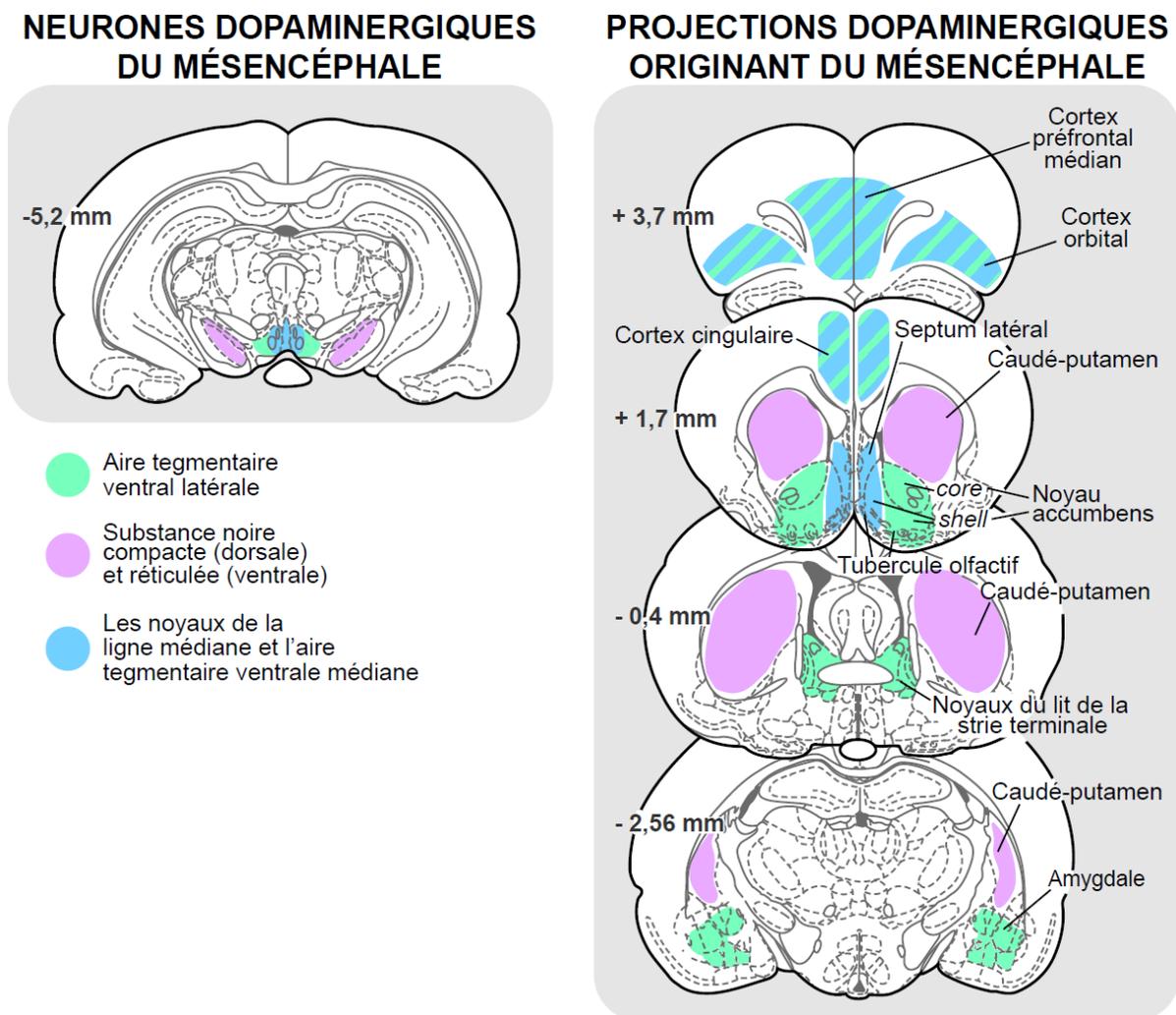


Figure 1. Schéma des circuits mésocorticolimbique (bleu et vert) et nigrostrié (mauve). Schéma basé sur Ikemoto (2007), Fallon (1988), Bjorklund and Dunnett, (2007) et Gerfen et al. (1987). Les coupes coronales proviennent de l'atlas de Paxinos and Watson (1986) et les distances antéro-postérieures indiquées à chaque coupe sont celles par rapport à Bregma.

préfrontal, orbital et cingulaire reçoivent des projections de l'aire tegmentaire ventrale et des noyaux de la ligne médiane (Bjorklund and Dunnett, 2007).

La dopamine du circuit mésocorticolimbique est impliquée dans plusieurs fonctions. Tout d'abord, elle est une composante critique du système de récompense et module la motivation à obtenir des récompenses, telles que de la nourriture. Cette dernière fonction dépend de la relâche de dopamine dans le noyau accumbens, qui provient de l'aire tegmentaire ventrale (Cami and Farre, 2003). D'ailleurs, le pouvoir addictif des drogues d'abus provient de leur capacité à favoriser la relâche de dopamine dans le noyau accumbens (Cami and Farre, 2003). Des altérations du système de récompense (incluant la voie mésocorticolimbique) seraient donc critiques dans la toxicomanie qui est caractérisée par une consommation incontrôlée de drogues, des échecs à arrêter de consommer, une motivation excessive à obtenir de la drogue et de faire fi des conséquences néfastes du trouble de consommation (Meyer and Quenzer, 2005). Cette psychopathologie ne dépendrait pas seulement de l'activité de la dopamine du circuit mésocorticolimbique, mais également de celle du circuit nigrostrié (Wise, 2009). La dopamine de la voie mésocorticolimbique est également impliquée dans la régulation de fonctions exécutives, telles que l'attention, la prise de décision, la mémoire de travail et le jugement (Logue and Gould, 2014). Les fonctions exécutives sont essentielles et leur dérèglement serait impliqué dans diverses pathologies liées à une potentielle altération du système dopaminergique, dont la schizophrénie (voir Chapitre 4.1 à la page 27) et la toxicomanie. La dopamine du circuit mésocorticolimbique est également impliquée dans le conditionnement de la peur, soulignant une fois de plus son rôle important dans des processus cognitifs, mais également dans la peur et l'anxiété (Pezze and Feldon, 2004). L'anxiété est d'ailleurs liée à la psychose chez les schizophrènes et la rechute aux drogues chez les toxicomanes.

1.3.2. La voie nigrostriée

La voie nigrostriée a pour origine les neurones dopaminergiques situés dans la substance noire (compacte principalement et également réticulée) qui projettent abondamment au caudé-putamen [voir **Figure 1** à la page 6, circuit en violet; Gerfen, et al. (1987), Ikemoto, (2007)]. Le caudé-putamen est une structure dont l'aspect est caractérisé par de nombreuses stries. Le reste autre que les stries est référé comme étant la matrice. La provenance des terminaisons

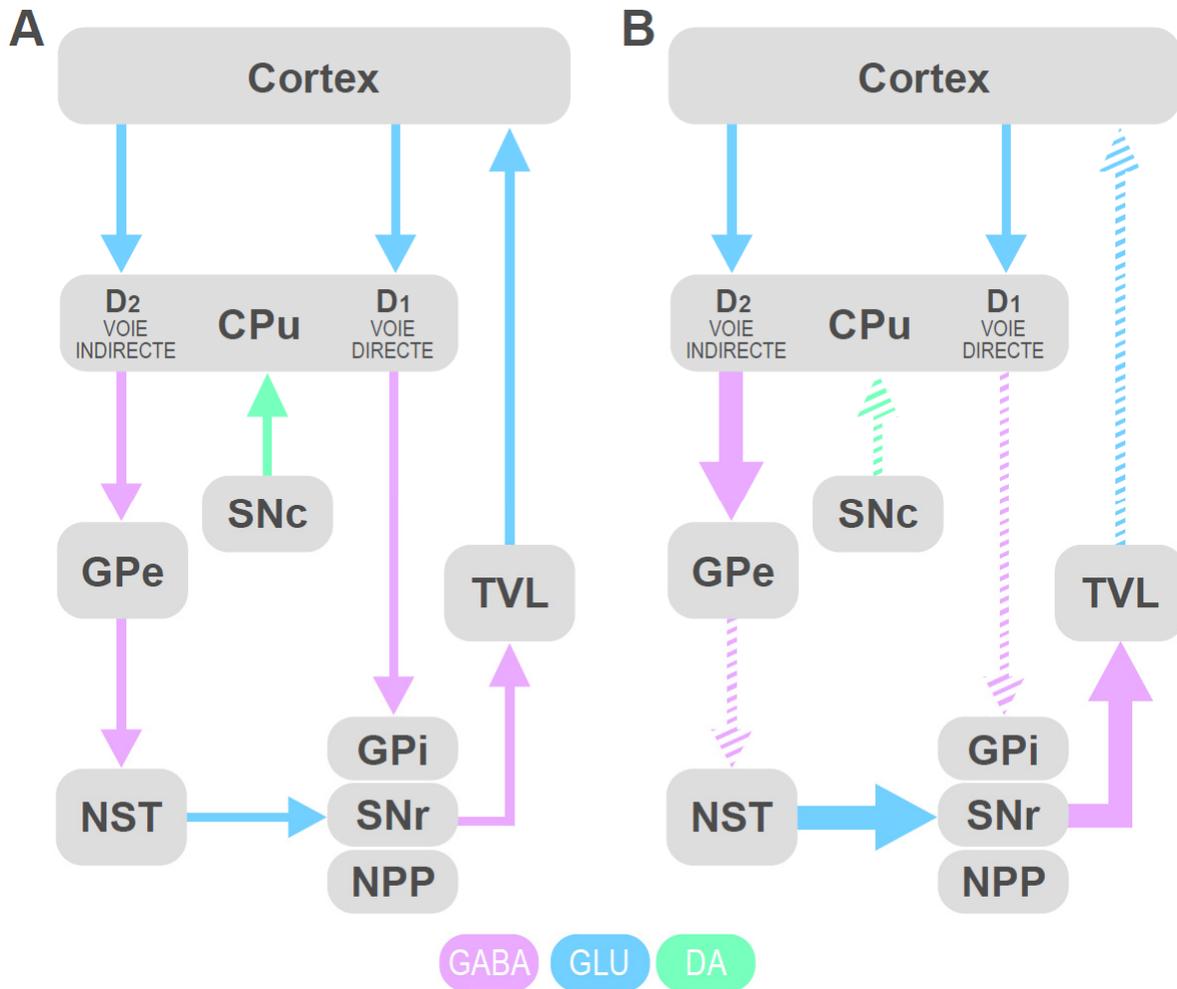


Figure 2. Le circuit des ganglions de la base. (A) Ce circuit prend origine dans le cortex cérébral, qui projette dans le caudé-putamen. Du caudé-putamen (CPU), deux voies se dessinent, une directe et une autre indirecte vers le globus pallidus interne (GPi), la substance noire réticulée (SNr) et le noyau pédonculo-pontin (NPP). La voie indirecte comprend le globus pallidus externe (GPe) et le noyau sous-thalamique (NST). Le GPi, SNc et NPP projettent ensuite vers le thalamus ventrolatéral (TVL), qui ferme la boucle du circuit des ganglions de la base en projetant vers le cortex cérébral. **(B)** La voie nigrostriée [composée du caudé-putamen et de la substance noire compacte (SNc)] est hypoactive dans la maladie de Parkinson et débalance le circuit des ganglions de la base. Schéma basé sur Obeso et al. (2002) et Alexander and Crutcher (1990). GLU, glutamate; DA, dopamine.

dopaminergiques varie entre les stries et la matrice. La substance noire compacte est très riche en neurones dopaminergiques, et envoient beaucoup de projections dopaminergiques vers la matrice et les stries, principalement dans le caudé-putamen dorsal (Gerfen et al., 1987). La substance noire réticulée projette plus spécifiquement aux stries de la partie dorso-latérale. Les circuits nigrostrié et mésocorticolimbique ne sont pas indépendants et se chevauchent d'un point de vue anatomique. De ce fait, l'aire tegmentaire ventrale projette également au caudé-putamen,

principalement dans la partie ventro-médiane de la matrice (voir **Figure 1** à la page 6). De plus, la substance noire envoie des projections dopaminergiques vers d'autres aires limbiques autres que le caudé-putamen, telles que l'amygdale et le cortex cingulaire antérieur (Fallon, 1988).

La voie nigrostriée fait partie des ganglions de la base, un circuit dont l'une des fonctions principales est de moduler la motricité. Brièvement, ce circuit prend origine dans le cortex qui envoie des projections dopaminergiques au caudé-putamen [voir **Figure 2A** à la page 8; Alexander and Crutcher (1990), Obeso et al. (2002)]. Le caudé-putamen envoie des projections directement (voie directe) ou indirectement (voie indirecte) vers le globus pallidus interne (GPi), la substance noire réticulée (SNr) et le noyau pédonculo-pontin (NPP). Les neurones du caudé-putamen sont de type acide γ -aminobutyrique (GABA) et expriment les récepteurs de type D₁ dans la voie directe et les récepteurs de type D₂ dans la voie indirecte. La voie indirecte projette vers ces trois régions via le globus pallidus externe (GPe) qui envoie des projections GABAergiques vers le noyau-sous-thalamique (NST). Le NST envoie des projections glutamatergiques vers le GPi, la SNr et le NPP. Ces trois structures envoient des projections GABAergiques vers le thalamus ventrolatéral (TVL), qui ferme la boucle du circuit des ganglions de la base en envoyant des projections glutamatergiques vers le cortex cérébral.

Un dysfonctionnement de la voie nigrostriée peut avoir des répercussions sur l'équilibre du circuit des ganglions de la base. Un exemple illustrant bien ce concept est la maladie de Parkinson. Cette maladie est caractérisée par une dégénérescence des neurones dopaminergiques situés principalement dans la substance noire compacte (Obeso et al., 2002). De ce fait, les projections dopaminergiques vers le caudé-putamen sont grandement diminuées, avec une perte d'environ 35 à 75 % un an après le diagnostic, et jusqu'à 90 % les années suivantes (Kordower et al., 2013). La transmission dopaminergique dans le caudé-putamen se voit alors grandement diminuée, ce qui a pour conséquence de lever l'inhibition exercée par les récepteurs de type D₂ sur l'activité des neurones de la voie indirecte [voir **Figure 2B** à la page 8; Obeso et al. (2002)]. De ce fait, le GPe est inhibé et l'activité du NST se voit augmentée. Du à la baisse de l'activation des récepteurs de type D₁, l'activité des neurones de la voie directe est diminuée. La sous-activation de la voie directe ainsi que la hausse de l'activité du NST de la voie indirecte a pour conséquence d'augmenter l'activité du GPi, du SNr et du NPP. L'inhibition exercée par ces structures sur le TVL est donc haussée et ceci a ultimement pour conséquence

de diminuer la transmission thalamocorticale. Ces altérations du circuit des ganglions de la base induisent divers troubles moteurs caractéristiques du Parkinson, dont la lenteur d'exécution des mouvements et la rigidité. Il est à noter que la dopamine de la voie nigrostriée et les ganglions de la base sont impliqués dans d'autres fonctions autres que la motricité, telles que des fonctions limbiques (Alexander and Crutcher, 1990).

1.3.3. La voie tubéroinfundibulaire

Les neurones dopaminergiques de l'hypothalamus, principalement du noyau arqué, sont à l'origine de la voie tubéroinfundibulaire et projettent dans l'éminence médiane (Fitzgerald and Dinan, 2008). La dopamine est libérée dans le sang et diffuse jusqu'au lobe antérieur de l'hypophyse. Les neurones dopaminergiques du noyau péri-ventriculaire de l'hypothalamus font également partie de la voie tubéroinfundibulaire. Ils projettent à la tige hypophysaire et la dopamine relâchée dans cette région rejoint l'hypophyse antérieure par le sang. Dans l'hypophyse, la dopamine inhibe la synthèse et la libération de l'hormone prolactine, via l'activation des récepteurs de type D₂. La régulation de la prolactine par la dopamine illustre bien que ce neurotransmetteur a également une fonction hormonale.

2. LE SYSTÈME NEUROTENSINERGIQUE

2.1. LA NEUROTENSINE

La neurotensine est un tridécapeptide [séquence en acides aminés chez le rat, le bovin et l'homme: Glu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu; Carraway and Leeman (1975), Kislauskis et al. (1988), Hammer et al. (1980)] isolé de l'hypothalamus bovin par Carraway and Leeman (1973). En plus d'être présente dans le système nerveux central comme neurotransmetteur, la neurotensine se retrouve également en périphérie, dont en majorité dans le système digestif (Carraway and Leeman, 1976). La neurotensine ne peut traverser la barrière hémato-encéphalique et agit donc de façon indépendante dans le système nerveux central et en périphérie (Nemeroff et al., 1977). La neurotensine située dans le système nerveux central est impliquée dans diverses fonctions, telles que la nociception (Dobner, 2006), la régulation hormonale (Rostene and Alexander, 1997) et la modulation du système dopaminergique [décrit dans le Chapitre 3 à la page 16; Binder et al. (2001)].

Kislauskis et al. (1988) ont été les premiers à déterminer la séquence du gène encodant la protéine précurseur de la neurotensine, soit la proneurotensine, chez le rat. Plus tard, Bean et al. (1992) ont déterminé la séquence de la proneurotensine chez l'humain, qui s'avère être très similaire à celle du rat. La proneurotensine est également précurseur à l'hexapeptide neuromédine N [Lys-Ile-Pro-Tyr-Ile-Leu; Minamino et al. (1984)]. La neurotensine et la neuromédine N possèdent les mêmes quatre derniers acides aminés. La proneurotensine comme telle n'est pas active et subit des modifications post-traductionnelles, permettant d'obtenir des neuropeptides biologiquement actifs. Ces modifications de la proneurotensine dépendent d'enzymes de la famille des prohormones convertases (Kitabgi, 2006a). La prohormone convertase 2 est l'enzyme principalement impliquée dans la maturation de la proneurotensine du système nerveux central. La neurotensine est stockée dans des vésicules à cœur dense (Johansson and Folan, 1989) et est libérée de façon calcium dépendante (Iversen et al., 1978). L'arrêt de la transmission de neurotensine se fait via sa dégradation et non par sa recapture dans les neurones. La dégradation de la neurotensine se fait par les endopeptidases 24.11, 24.15 et 24.16 (Kitabgi, 2006b).

La neurotensine se lie à ses récepteurs via sa terminaison COOH et nécessite au minimum les acides aminés aux positions 9 à 13 pour être active. En effet, une délétion des acides aminés entre la 1^{re} et 8^e position n'inhibe pas l'activité de la neurotensine et peut même la potentialiser (Kitabgi et al., 1977). Par exemple, le fragment 8-13 de la neurotensine inhibe plus efficacement la liaison de la [³H]neurotensine ou de la [¹²⁵I]-[Tyr³]neurotensine que la neurotensine complète (Kitabgi et al., 1977, Tanaka et al., 1990). Comme mentionné plus tôt, la neuromédine N partage les mêmes quatre derniers acides aminés de la terminaison COOH que la neurotensine (Minamino et al., 1984). La neuromédine N peut lier les récepteurs de la neurotensine (Checler et al., 1986), soulignant une fois de plus l'importance de la terminaison COOH de la neurotensine dans sa capacité à lier ces récepteurs.

La neurotensine est produite dans plusieurs régions chez le rat, parmi lesquelles figurent le septum latéral, le caudé-putamen, le noyau accumbens, diverses régions de l'hypothalamus (dont sa partie latérale, l'aire préoptique et le noyau paraventriculaire), le noyau du lit de la strie terminale, plusieurs régions du tronc cérébral (dont l'aire tegmentaire ventrale, la substance noire, le raphé dorsal, le faisceau pyramidal, le locus cœruleus et la substantia gelatinosa V), le thalamus dorsal et le noyau central de l'amygdale (Uhl et al., 1979, Jennes et al., 1982, Kahn et al., 1982, Merchant et al., 1992b). De façon intéressante, la neurotensine est synthétisée et/ou libérée dans des régions importantes du système dopaminergique, dont l'aire tegmentaire ventrale, le noyau accumbens, le caudé-putamen, l'amygdale centrale et le cortex cingulaire (Jennes et al., 1982). Ceci souligne l'importante interaction entre les systèmes dopaminergique et neurotensinergique, dont le Chapitre 3 (page 16) est le sujet principal.

2.2. LES RÉCEPTEURS NEUROTENSINERGIQUES

La neurotensine possède, jusqu'à maintenant, quatre récepteurs clonés qui sont tous présents dans le système nerveux central (Vincent et al., 1999, Hermans-Borgmeyer et al., 1997). Les deux premiers récepteurs clonés de la neurotensine sont à sept passages transmembranaires et couplés à une protéine G. La neurotensine a une grande affinité pour le récepteur de la neurotensine de type 1 (NTS1) et plus faible pour le récepteur de la neurotensine de type 2 (NTS2). Ce dernier se distingue du récepteur NTS1 par sa grande affinité pour la

lévocabastine. Les deux derniers récepteurs de la neurotensine, de type 3 (NTS3) et de type 4 (NTS4), sont des récepteurs ayant une structure très différente de celles des récepteurs NTS1 et NTS2. Les récepteurs NTS3 et NTS4 se distinguent également des autres récepteurs de la neurotensine en étant principalement intra-cellulaires.

2.2.1. Les récepteurs de la neurotensine de type 1

Le récepteur à haute affinité de la neurotensine, NTS1, fut cloné en premier par Tanaka et al. (1990) chez le rat, puis par Vita et al. (1993) chez l'humain. Le récepteur NTS1 est composé de 424 acides aminés chez le rat et de 418 chez l'humain, identique à 84 % entre les deux espèces. Il fait partie de la famille des récepteurs à sept passages transmembranaires et est couplé à une protéine G, principalement de type $G_{11/q}$ (Pelaprat, 2006). Les récepteurs NTS1 peuvent activer la phospholipase C, la protéine kinase C, augmenter les taux d'inositol phosphate et de calcium intra-cellulaire. L'affinité de la neurotensine pour le récepteur NTS1 est très grande, autant chez le rat [$K_D = 0.16$ nM; Tanaka et al. (1990)] que chez l'humain [$K_D = 0.56$ nM; Vita et al. (1993)]. Gully et al. (1993) ont synthétisé un antagoniste sélectif pour les récepteurs NTS1, soit le SR48692 ($K_i = 7.4$ nM).

Les récepteurs NTS1 sont localisés en très grand nombre dans la substance noire et l'aire tegmentaire ventral (Kitabgi et al., 1987). Les récepteurs NTS1 sont également présents dans des régions riches en terminaisons dopaminergiques, soit le caudé-putamen, le noyau accumbens et le cortex cingulaire. Les récepteurs NTS1 sont en faible densité, voir absent, dans d'autres régions corticales, dont les cortex préfrontal, frontopariétal, pariétal et temporal. Les récepteurs NTS1 se retrouvent modérément dans le noyau du raphé dorsal et l'hypothalamus. La distribution des récepteurs NTS1 chevauche assez fidèlement les régions où la neurotensine est exprimée, ce qui n'est pas toujours le cas pour les autres types de récepteur de la neurotensine. L'activité des récepteurs NTS1 dépend donc principalement de la neurotensine, contrairement à ces autres récepteurs dont l'activité peut être régulée par d'autres ligands.

2.2.2. Les récepteurs de la neurotensine de type 2

Des études ont démontré que la neurotensine se liait à deux sites distincts, un avec une forte affinité et l'autre avec une plus faible affinité. Celui à forte affinité fut identifié en premier comme le récepteur NTS1. Le second à plus faible affinité se distinguait pour son affinité avec

une molécule ayant une structure très différente de la neurotensine, soit l'antihistaminique lévocabastine (Schotte et al., 1986, Kitabgi et al., 1987). Ce récepteur (NTS2) fut cloné pour la première fois chez le rat par Chalon et al. (1996) et plus tard chez l'humain par Vita et al. (1998). Le récepteur NTS2 est composé de 416 acides aminés chez le rat et de 420 acides aminés chez l'humain. Il est similaire entre les deux espèces, soit en étant identique à 79 % (Vita et al., 1998). Les récepteurs NTS2 sont partiellement identiques aux récepteurs NTS1, en étant identique à 38 % chez l'humain et 43 % chez le rat. Les récepteurs NTS2 font partie de la famille des récepteurs à sept passages transmembranaires couplés à une protéine G. Il n'est pas encore bien défini avec quel type de protéine G les récepteurs NTS2 interagissent (Pélatrat, 2006). La neurotensine est un agoniste des récepteurs NTS2 (Gendron et al. 2004) et possède une bonne affinité pour ceux-ci [$K_D = 3,7$ nM et $2,6$ nM pour le rat et l'humain, respectivement; Chalon et al. (1996), Vita et al. (1998)], mais est tout de même plus faible que celle pour les récepteurs NTS1 [$K_D = 0,16$ nM et $0,56$ nM pour le rat et l'humain, respectivement; Tanaka et al. (1990), Vita et al. (1993)].

Les récepteurs NTS2 sont présents dans diverses aires corticales, incluant les cortex pariétal, temporal, occipital et insulaire (Asselin et al., 2001, Sarret et al., 2003b). Également, les récepteurs NTS2 sont présents dans des régions contenant des terminaisons dopaminergiques, dont le noyau accumbens, le caudé-putamen, le septum latéral, le tubercule olfactif, l'amygdale et le cortex cingulaire. Les récepteurs NTS2 sont présents au niveau des régions des neurones dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale et de la substance noire. De plus, ils sont denses dans d'autres régions, telles que l'hippocampe, le noyau du raphé dorsal, le cervelet, l'hypothalamus et le thalamus. Il est à noter que les récepteurs NTS2 sont présents dans des régions où la neurotensine ne l'est pas, dont l'hippocampe et le cervelet (Sarret et al., 2003b, Jennes et al., 1982). L'activité des récepteurs NTS2 peut donc dépendre d'autres ligands. Les récepteurs NTS2 modulent les effets de la neurotensine, tels que la nociception (Dobner 2006). Ils sont d'ailleurs exprimés dans des régions du tronc cérébral connues pour être impliquées dans cette fonction, dont la substance grise périaqueducale.

2.2.3. Les récepteurs de la neurotensine de type 3 et 4

Chez la souris, Mazella et al. (1988) ont isolé un récepteur ayant une grande affinité pour la neurotensine autre que les récepteurs NTS1 et NTS2. Ce récepteur fut cloné plus tard par Mazella et al. (1998) chez l'humain et s'avère être un récepteur déjà connu, soit le gp95/sortiline. Ce récepteur sera ici référé comme le récepteur NTS3. Ce récepteur est composé de 833 acides aminés chez l'humain (Mazella et al., 1998) et semble être une séquence hautement conservée, puisque les 748 acides aminés de la terminaison COOH sont à 92 % identiques chez le rat (Morris et al., 1998). Le dernier récepteur connu de la neurotensine, NTS4, s'avérait également être un récepteur déjà connu, soit le récepteur de la sortiline sorLA. Comme tous les autres récepteurs de la neurotensine, le récepteur NTS4 est très similaire entre le rat et l'humain (Hermans-Borgmeyer et al., 1997). La structure des récepteurs NTS3 et NTS4 est très différente de celle des récepteurs NTS1 et NTS2. Ils sont composés d'un seul passage transmembranaire et ne sont pas couplés à une protéine G. Également, les récepteurs NTS3 et NTS4 sont fortement présents au niveau de l'appareil de Golgi et plus faiblement présents au niveau de la membrane plasmique (Sarret et al., 2003a, Jacobsen et al., 2001). La neurotensine possède une bonne affinité pour les récepteurs NTS3 et NTS4 [$K_D = 0,7$ nM et 30 nM, respectivement; Morris et al. (1998), Jacobsen et al. (2001)].

La localisation des récepteurs NTS3 est très vaste dans le cerveau du rat, incluant le septum latéral, le noyau du lit de la strie terminale, plusieurs régions du tronc cérébral, l'hypothalamus, le thalamus, l'amygdale et plusieurs régions corticales (Sarret et al., 2003a). Le récepteur NTS4 est également exprimé dans de nombreuses régions cérébrales, dont le cervelet, le caudé-putamen, le cortex cérébral, l'hippocampe, le noyau rouge et le plexus choroïde (Motoi et al., 1999). Les récepteurs NTS3 et NTS4 peuvent donc être localisés dans des régions où la neurotensine est très peu présente, voir absente. Ces régions incluent la corne d'Ammon (CA) de l'hippocampe et certaines régions du cervelet (Sarret et al., 2003a). L'activité des récepteurs NTS3 et NTS4 peut donc être indépendante de la neurotensine, tout comme les récepteurs NTS2.

3. INTERACTION ENTRE LES SYSTÈMES DOPAMINERGIQUE ET NEUROTENSINERGIQUE

3.1. LES EFFETS DE LA NEUROTENSINE SUR LES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES

La neurotensine oppose la dopamine et représente donc un neuromodulateur important du système dopaminergique (Binder et al., 2001). Cette fonction de la neurotensine réside en grande partie dans sa capacité à moduler l'activité des récepteurs de type D₂ et non D₁. Dans ce chapitre, il sera question de détailler les mécanismes sous-tendant les fonctions modulatrices de la neurotensine et de son récepteur NTS1 sur les récepteurs de type D₂. L'absence d'effet concret de la neurotensine sur les récepteurs de type D₁ sera également abordée.

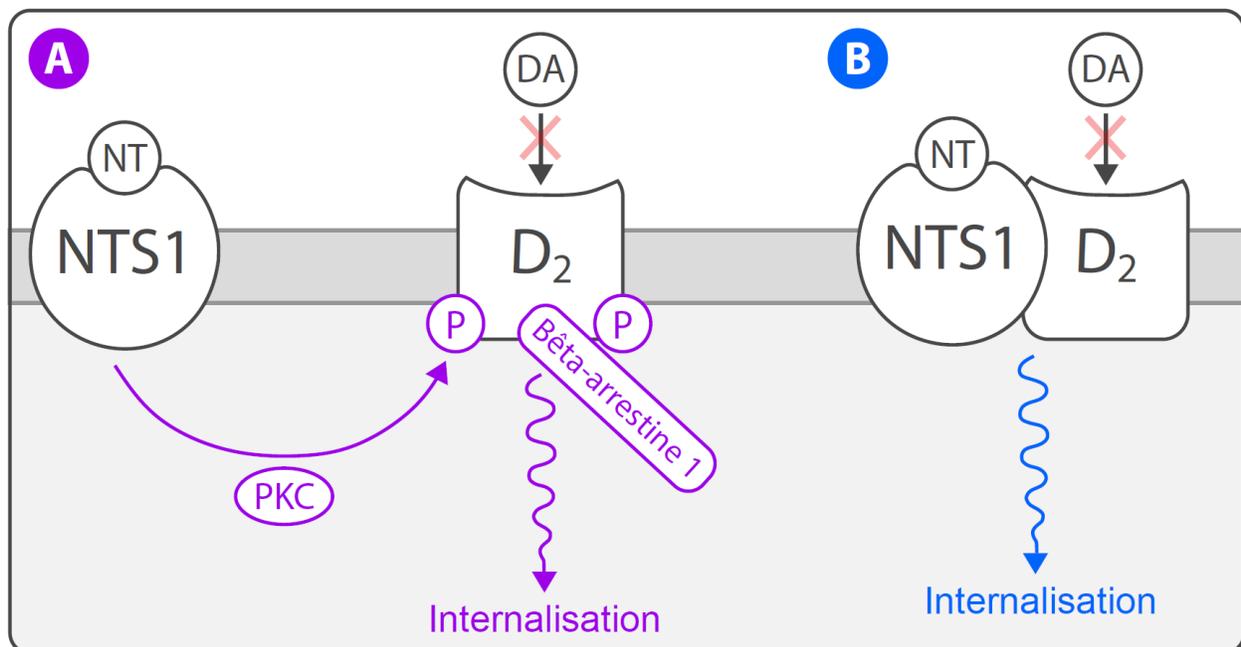


Figure 3. Modulation de l'activité des récepteurs de type D₂ par la neurotensine (NT) et le récepteur NTS1. (A) Les récepteurs NTS1 induisent la phosphorylation des récepteurs de type D₂ par la protéine kinase C (PKC). Cette phosphorylation a pour conséquence de diminuer l'activité du récepteur de type D₂ et de favoriser le recrutement de la bêta-arrestine 1. La bêta-arrestine 1 empêche l'activation des protéines G (i.e. aucune conversion de GDP à GTP possible) et accroît la probabilité que le récepteur soit internalisé (Gainetdinov et al., 2004). (B) La formation d'hétéromère D₂-NTS1 aurait pour conséquence de diminuer l'affinité de la dopamine pour les récepteurs de type D₂ et d'augmenter leur internalisation.

3.1.1. Effets sur les récepteurs dopaminergiques de type 2

La neurotensine inhibe la fonction des récepteurs de type D₂. Les premières évidences de cet effet inhibiteur furent démontrées par la diminution de l'affinité des récepteurs de type D₂ induite par la neurotensine, autant chez le rat (Agnati et al., 1983, Li et al., 1995) que chez l'humain (von Euler et al., 1990). La diminution de l'affinité des récepteurs de type D₂ est spécifique aux agonistes et non aux antagonistes (von Euler, 1991, Koschatzky et al., 2011). Cet effet de la neurotensine dépend du récepteur NTS1, qui peut induire la désensibilisation hétérologue et l'internalisation des récepteurs de type D₂, via leur phosphorylation par la protéine kinase C, qui favorise le recrutement de la β -arrestine 1 [voir **Figure 3A** à la page 16; Thibault et al. (2011)]. La β -arrestine 1 empêche l'activation des protéines G et favorise l'internalisation des récepteurs (Gainetdinov et al., 2004). L'isoforme court des récepteurs de type D₂, D_{2s}, semble plus sensible à l'internalisation (Thibault et al., 2011).

Un autre mécanisme potentiel qui pourrait sous-tendre la désensibilisation et l'internalisation des récepteurs de type D₂ impliquerait que les récepteurs de type D₂ et NTS1 forment des hétéromères [voir **Figure 3B** à la page 16; Ferraro et al. (2014)]. Ils pourraient ainsi être co-internalisés. L'existence d'hétéromère NTS1-D₂ a été démontrée *in vitro*, avec le récepteur D₂, autant avec l'isoforme D_{2s} que D_{2L}, par transfert d'énergie de résonance de bioluminescence [BRET; Borroto-Escuela et al. (2013)]. L'existence d'hétéromère NTS1-D₂ a également été démontrée spécifiquement avec l'isoforme D_{2L} *in vitro* par immunoprécipitation (Koschatzky et al., 2011). Dans cette étude, l'immunoprécipitation des récepteurs D_{2L} révélait également la présence des récepteurs NTS1, détectables grâce à un marquage fluorescent. La désensibilisation des récepteurs de type D₂ par la formation d'hétéromère D₂-NTS1 reste hypothétique, puisque seule la formation d'hétéromère a été démontrée *in vitro*, mais non les conséquences de cette formation.

3.1.2. Effets sur les récepteurs dopaminergiques de type 1

Les effets de la neurotensine sur les récepteurs de type D₁ sont méconnus. La neurotensine n'altère pas l'affinité de ces récepteurs (von Euler, 1991). Elle semble toutefois indirectement favoriser l'activité des récepteurs de type D₁ et l'activation des voies de

signalisation de ce récepteur, via une cascade d'effet impliquant les récepteurs glutamatergiques acide N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozol-4-propionate (AMPA) et la relâche de dopamine (Matsuyama et al., 2002). Également, la transcription des récepteurs de type D₁ est altérée dans un modèle de souris dont le gène de la neurotensine (Chastain et al., 2015) ou des récepteurs NTS1 ou NTS2 (Liang et al., 2010) est complètement aboli. Ces modèles ne sont toutefois pas spécifiques, à partir desquels il est difficile d'isoler une interaction claire entre le récepteur de type D₁ et les récepteurs neurotensinergiques. Bref, à ma connaissance, aucune étude ne met en évidence un effet direct et spécifique de la neurotensine sur les récepteurs de type D₁, comme il a été démontré avec les récepteurs de type D₂.

3.2. LES EFFETS DE LA NEUROTENSINE DANS LE SYSTÈME DOPAMINERGIQUE

En opposant la dopamine, la neurotensine a des effets divers sur le système dopaminergique. Dans ce chapitre, il sera mis en évidence que la neurotensine peut avoir des effets opposés, en ayant des effets pro- et anti-dopaminergiques. Ces effets peuvent coexister dans une même région. Il est à noter que la neurotensine peut également avoir des effets sur le système dopaminergique qui sont indépendants d'une interaction avec les récepteurs de type D₂. Cependant, ceux qui en dépendent sont les plus importants.

3.2.1. Effets dans le noyau accumbens

Dans le noyau accumbens, les récepteurs NTS1 sont localisés sur des terminaisons axonales (Boudin et al., 1996) qui sont glutamatergiques et dopaminergiques (Pickel et al., 2001), ainsi que sur les corps cellulaire et les dendrites des neurones épineux moyens (Pickel et al., 2001, Boudin et al., 1996). Le *core* du noyau accumbens (soit la partie dorsale adjacente au caudé-putamen) comporte un plus grand nombre de récepteurs NTS1 situés sur les axones larges et terminaux, ainsi que sur les dendrites, comparativement à la sous-région du *shell* [partie ventrale du noyau accumbens, adjacente au septum latéral et au tubercule olfactif; Pickel et al. (2001)]. La neurotensine libérée dans le noyau accumbens provient entre autre de l'aire tegmentaire ventrale, des noyaux de la ligne médiane et de la substance noire (Kalivas and Miller, 1984, Seroogy et al., 1987).

L'effet de la neurotensine dans le noyau accumbens le plus rapporté est anti-dopaminergique. En effet, la neurotensine injectée dans le noyau accumbens peut diminuer l'hyperlocomotion induite par l'amphétamine (Ervin et al., 1981, Robledo et al., 1993, Feifel et al., 1997a), la cocaïne (Robledo et al., 1993), l'injection de dopamine dans le noyau accumbens (Kalivas et al., 1984) et l'injection de neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale [voir prochain sous-chapitre; Kalivas et al. (1982)]. Cet effet de la neurotensine sur l'hyperlocomotion induite par l'amphétamine est modulé par les récepteurs NTS1 (Steinberg et al., 1994). La neurotensine ne diminue pas l'hyperlocomotion en modulant la relâche de dopamine. En effet, elle peut diminuer l'hyperlocomotion induite par des injections de dopamine directement dans le noyau accumbens (Kalivas et al., 1984). De plus, injectée dans l'aire tegmentaire ventrale, la neurotensine augmente la locomotion spontanée et le métabolisme de la dopamine dans le noyau accumbens (Kalivas et al., 1984). La neurotensine injectée dans le noyau accumbens diminue l'hyperlocomotion induite par une injection de neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale (Kalivas et al., 1982). Malgré cette inhibition, la neurotensine injectée dans le noyau accumbens n'altère pas la hausse du métabolisme de la dopamine qu'elle induit lorsqu'elle est injectée dans l'aire tegmentaire ventrale. L'effet anti-dopaminergique de la neurotensine s'explique alors par son action sur les neurones épineux moyens [voir **Figure 4B** à la page 20; Ferraro et al. (2007)]. Sur ces neurones, la neurotensine prévient l'inhibition exercée par les récepteurs de type D₂ somato-dendritiques et favorise la relâche locale de GABA (Li et al., 1995, Tanganelli et al., 1994). La neurotensine peut également favoriser l'activation des neurones épineux moyens en inhibant l'activité des récepteurs de type D₂ sur les terminaisons glutamatergiques (en vert sur la **Figure 4C** à la page 20). Il est intéressant de noter que la neurotensine peut également augmenter les taux extra-cellulaires de glutamate dans le caudé-putamen (Ferraro et al., 1998). Un tel effet pourrait également être possible dans le noyau accumbens, permettant de favoriser l'activation des neurones épineux moyen.

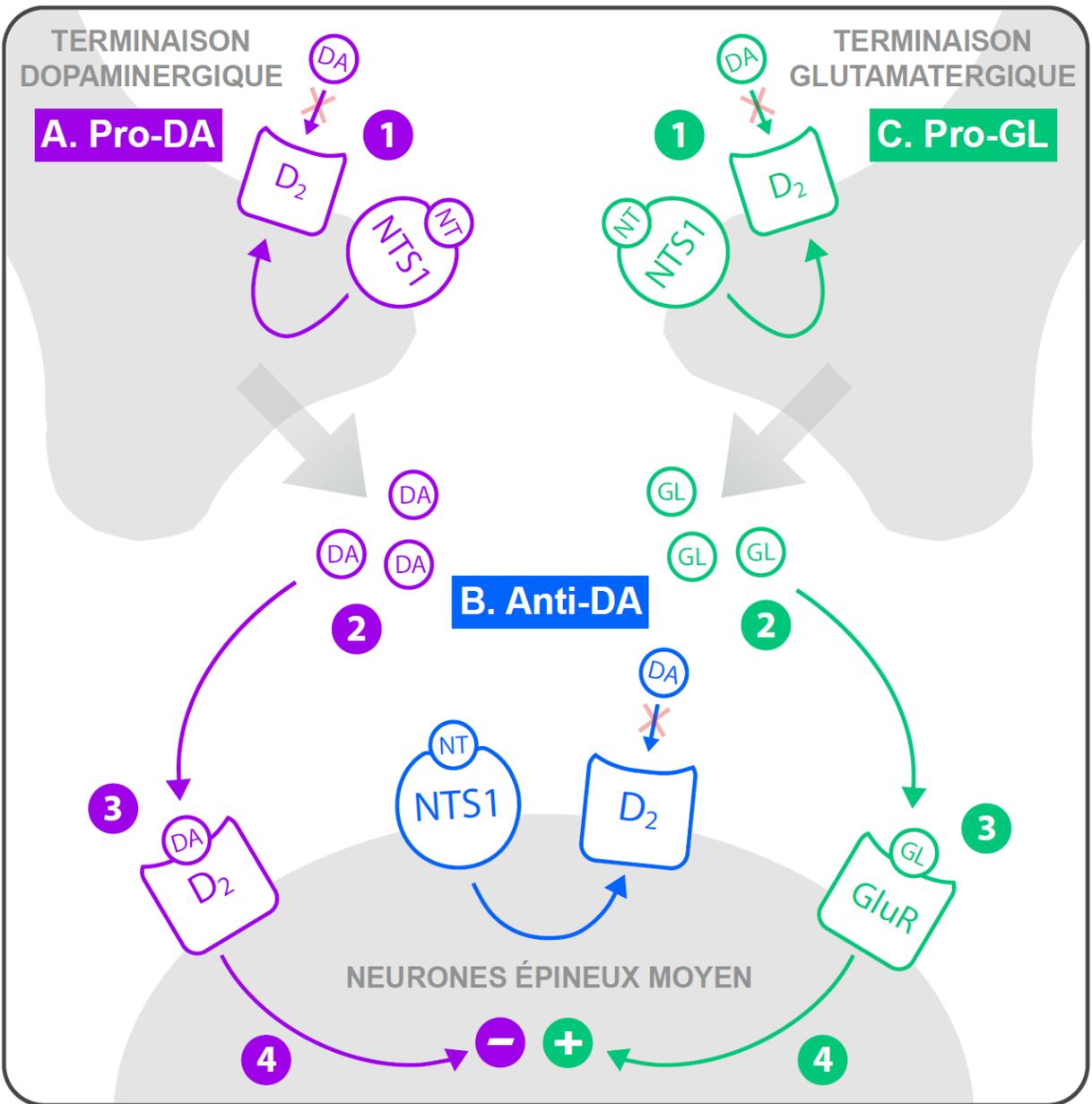


Figure 4. Effet de la neurotensine (NT) dans le striatum. Les interactions entre la neurotensine et la dopamine (DA) sont similaires entre le noyau accumbens (striatum ventral) et le caudé-putamen (striatum dorsal). Dans ces deux régions, la neurotensine a des effets pro-dopaminergiques (mauve) et anti-dopaminergiques (bleu). Ces derniers sont renforcés par les effets pro-glutamatergiques (vert) de la neurotensine. **(A) Les effets pro-dopaminergiques** de la neurotensine impliquent (1) une inhibition des autorécepteurs D₂ sur les terminaisons dopaminergiques, (2) une augmentation de la relâche de dopamine, (3) une activation des récepteurs de type D₂ post-synaptiques et (4) une inhibition des neurones épineux moyens par les récepteurs de type D₂. **(B) Les effets anti-dopaminergiques** de la neurotensine dépendent de l'inhibition des récepteurs de type D₂ localisés sur les neurones épineux moyens. **(C) Les effets pro-glutamatergiques** de la neurotensine consistent en (1) une inhibition des récepteurs de type D₂ sur les terminaisons glutamatergiques, (2) qui permet d'augmenter la relâche de glutamate (GL) et (3) celui-ci se lie à ces récepteurs (GluR) sur les neurones épineux moyens et (4) active ces derniers. Adaptée de Ferraro et al. (2007).

La neurotensine peut également avoir un effet pro-dopaminergique dans le noyau accumbens, un effet moins rapporté. En effet, elle a la capacité d'augmenter la relâche de dopamine dans cette région en inhibant l'activité des autorécepteurs D₂ (Fawaz et al., 2009), ce qui serait modulé par les récepteurs NTS1 localisés sur les terminaisons dopaminergiques (voir **Figure 4A** à la page 20). Des injections de neurotensine dans le noyau accumbens peuvent potentialiser la stéréotypie induite par une injection systémique d'apomorphine (Blumstein et al., 1987). Également, la neurotensine injectée dans le noyau accumbens potentialise la perturbation induite par l'apomorphine ou l'amphétamine de l'inhibition par une pré-impulsion [*pre-pulse inhibition*; Feifel et al. (1997b)]. Ce test est en effet perturbé par une hausse de l'activité de la dopamine dans le noyau accumbens (Swerdlow et al., 1986). Donc, dans le noyau accumbens, la neurotensine a deux fonctions qui s'opposent, soit anti- et pro-dopaminergique.

3.2.2. Effets dans le caudé-putamen

Dans le caudé putamen, les récepteurs NTS1 sont principalement localisés sur les terminaisons dopaminergiques, et en plus petite proportion sur les dendrites et corps cellulaire des neurones épineux moyens (Schotte and Leysen, 1989, Boudin et al., 1996, Nicot et al., 1994). La neurotensine dans cette région a un rôle pro- et anti-dopaminergique. Lorsqu'elle est injectée en unilatéral dans le caudé-putamen, elle augmente les mouvements rotationnels vers le côté controlatéral à l'injection, en activant les récepteurs NTS1 (Gully et al., 1993, Poncelet et al., 1994). Lorsque l'activité dopaminergique est plus forte dans un des deux hémisphères, les animaux tournent vers le côté où l'activité est plus faible (Christie and Crow, 1971), suggérant que la neurotensine injectée dans le caudé-putamen a un effet pro-dopaminergique au site d'injection. Ceci serait sous-tendu par sa capacité à augmenter la relâche de dopamine via l'activation des récepteurs NTS1 (Ferraro et al., 1997, Diaz-Cabiale et al., 2002). Également, la neurotensine augmente les taux extra-cellulaires de glutamate [Ferraro et al. (1998); **Figure 4B** à la page 20]. La neurotensine a d'ailleurs la capacité d'augmenter les courants excitateurs post-synaptiques (EPSC) médiés par le glutamate des neurones dopaminergiques et non-dopaminergiques de l'aire tegmentaire ventrale (Bose et al., 2015). Un tel effet semble être possible également dans le caudé-putamen. Sa capacité à inhiber les récepteurs de type D₂ post-synaptiques et à favoriser les EPSCs expliquerait donc que la neurotensine peut activer les

neurones épineux moyens, tel que démontré par une augmentation des taux extra-cellulaires de GABA dans le caudé-putamen et le pallidum ventral (Ferraro et al., 1997). La neurotensine peut donc avoir des effets opposés dans le caudé-putamen, tout comme dans le noyau accumbens. Il est toutefois possible que les effets pro-dopaminergiques de la neurotensine soient plus importants, puisque les récepteurs NTS1 sont majoritairement localisés sur les terminaisons dopaminergiques (Schotte and Leysen, 1989, Boudin et al., 1996, Nicot et al., 1994).

3.2.3. Effets dans le mésencéphale

Les récepteurs NTS1 sont exprimés sur 80 à 90 % des neurones dopaminergiques dans l'aire tegmentaire ventrale et 95 à 100 % des neurones dopaminergiques dans la substance noire (Fassio et al., 2000, Szigethy and Beaudet, 1989). Les récepteurs NTS1 sont également présents sur les neurones dopaminergiques du noyau interfasciculaire (Szigethy and Beaudet, 1989), qui fait partie des noyaux de la ligne médiane. La neurotensine libérée dans l'aire tegmentaire ventrale provient principalement de l'hypothalamus latéral, mais également du raphé dorsal, du septum latéral, du noyau accumbens, du tubercule olfactif, de l'amygdale et des noyaux du lit de la strie terminale (Morin and Beaudet, 1998, Geisler and Zahm, 2006). Des projections neurotensinergiques locales sont également présentes. Dans la substance noire, les projections neurotensinergiques proviennent de l'amygdale et du caudé-putamen (St-Gelais et al., 2006, Brog and Zahm, 1996).

La neurotensine exerce un effet pro-dopaminergique dans l'aire tegmentaire ventrale. Injectée directement dans cette région, elle augmente la locomotion spontanée (Kalivas et al., 1982, Feifel and Reza, 1999), induit des mouvements rotationnels lorsqu'injecté en unilatéral (Steinberg et al., 1994), augmente l'auto-stimulation du faisceau du prosencéphale médian (de Witte et al., 1992) et induit une préférence de place conditionnée (Glimcher et al., 1984). Les deux derniers effets de la neurotensine suggèrent qu'elle agit sur le système de récompense. Cette hypothèse est renforcée avec la démonstration que des animaux sont motivés à s'auto-administrer de la neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale (Glimcher et al., 1987). De plus, la neurotensine de l'aire tegmentaire ventrale est également impliquée dans la sensibilisation aux effets de l'amphétamine (Panayi et al., 2005). L'effet renforçant de la neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale et sa capacité à moduler l'activité du circuit mésocorticolimbique

(faisant partie du système de récompense) lui confère un rôle potentiel dans la toxicomanie (St-Gelais et al., 2006). Peu est connu sur les effets de la neurotensine injectée dans la substance noire, mais elle ne semble pas altérer la locomotion spontanée (Stoessl et al., 1995).

Dans l'aire tegmentaire ventrale et la substance noire, les effets « psychostimulants » de la neurotensine dépendent de sa capacité à diminuer l'inhibition de la décharge des neurones dopaminergiques induite par une activation des récepteurs de type D₂ somato-dendritiques (Werkman et al., 2000, Jomphe et al., 2006, Shi and Bunney, 1990). Cet effet de la neurotensine est modulé par les récepteurs NTS1, qui activent des voies de signalisation intra-cellulaires dépendantes de la protéine kinase C et de la mobilisation de calcium intra-cellulaire (Jomphe et al., 2006). Le recrutement de la bêta-arrestine 1 pourrait être également nécessaire (Thibault et al., 2011), mais n'a pas été démontré dans ces régions du cerveau. Également, la neurotensine diminue le courant potassique entrant induit par l'activation des récepteurs de type D₂ (Farkas et al., 1997). La neurotensine à elle-seule peut également augmenter l'activité des neurones dopaminergiques (Seutin et al., 1989, Werkman et al., 2000), via l'activation des récepteurs NTS1 (St-Gelais et al., 2004). De plus, la neurotensine peut favoriser l'activer des neurones dopaminergiques en interagissant avec le système glutamatergique, tel que démontré avec une augmentation des ESPCs dans l'aire tegmentaire ventrale (Bose et al., 2015). Des injections de neurotensine dans l'aire tegmentaire ventrale augmentent le métabolisme de la dopamine et sa concentration extra-cellulaire dans le noyau accumbens (Rivest et al., 1991, Kalivas et al., 1983, Kalivas and Duffy, 1990, Laitinen et al., 1990, Steinberg et al., 1994, Cador et al., 1989), alors que des injections dans la substance noire augmentent plutôt le métabolisme de la dopamine dans le caudé-putamen (Rivest et al., 1991). En somme, la neurotensine injectée dans l'aire tegmentaire ventrale a un effet renforçant et augmente la locomotion spontanée. Ceci est soutenu par une plus grande décharge des neurones dopaminergiques et donc d'une libération accrue de dopamine dans le noyau accumbens. La neurotensine augmente également la décharge des neurones dopaminergiques de la substance noire et la libération de dopamine dans le caudé-putamen. Les conséquences de ces effets sur le comportement restent toutefois méconnues.

3.3. ALTÉRATION DE L'EXPRESSION DE LA NEUROTENSINE PAR LES RÉCEPTEURS DOPAMINERGIQUES

Comme il a été décrit dans le Chapitre 1.2.2, les récepteurs de type D₁ et D₂ sont couplés à des protéines G_s et G_i, respectivement (Missale et al., 1998). Les récepteurs de type D₂ ont donc une activité inhibitrice et ont la capacité de diminuer l'expression de la neurotensine. Au contraire, les récepteurs de type D₁ semblent promouvoir l'expression de la neurotensine. Dans ce chapitre, ces effets seront mis en évidence avec des études où l'expression de la neurotensine a été analysée suite à l'activation ou l'inhibition des récepteurs dopaminergiques.

3.3.1. Modulation par les récepteurs dopaminergiques de type 2

Ce sous-chapitre se concentre sur les effets aigus des antagonistes D₂ sur l'expression de la neurotensine dans le striatum (résumé dans le **Tableau I** à la page 24). Les résultats rapportés dans le tableau ont été obtenus avec des antipsychotiques de 1^{re} génération (i.e. antagoniste D₂)

Tableau I. Les effets d'un traitement aigu aux antagonistes D₂ (e.g. antipsychotique) sur la neurotensine et les récepteurs NTS1 dans le striatum

Régions cérébrales	Mesures	Effet	Références
Noyau accumbens	Densité de l'ARNm de la proneurotensine	↑ dans le shell	Merchant et al., 1992, Éthier et al., 2004
	Concentration tissulaire de neurotensine	↑	Govoni 1980, Kinkead et al., 2000, Myers et al., 1992, Wagstaff et al., 1996, Huang and Hanson, 1997, Frey et al., 1987
	Densité des récepteurs NTS1	Inchangée	Holtom et al., 2000
Caudé-putamen	Densité de l'ARNm de la proneurotensine	↑ en dorsal	Merchant et al., 1992, Beaudry et al., 2000
	Concentration tissulaire de neurotensine	↑	Govoni et al., 1980, Kinkead et al., 2000, Steven et al., 1994, Myers et al., 1992, Wagstaff et al., 1996, Frey et al., 1987
	Densité des récepteurs NTS1	Inchangée	Holtom et al., 2000

et non de la 2^e. Ceux de la 2^e génération ont été exclus, puisqu'ils ont une forte affinité pour les récepteurs de la 5-hydroxytryptamine (5-HT; voir Chapitre 4.2 à la page 27). Les antagonistes D₂ lèveraient l'inhibition exercée par les récepteurs de type D₂ sur la transcription de la neurotensine, avec des mécanismes qui dépendent des facteurs de transcription CREB (*cAMP-response element binding protein*), *c-fos* et *Nur77* (Merchant et al., 1992a, Beaudry et al., 2000). Donc, un traitement aigu aux antagonistes D₂ évoque une augmentation de la concentration protéique de neurotensine dans le noyau accumbens et le caudé-putamen (Govoni et al., 1980, Kinkead et al., 2000, Myers et al., 1992, Wagstaff et al., 1996, Huang and Hanson, 1997). La densité de l'ARNm de la proneurotensine est également augmentée dans le *shell* du noyau accumbens et le caudé-putamen dorsal (Merchant et al., 1992b, Beaudry et al., 2000). Tous ces résultats suggèrent que l'activation aiguë des récepteurs de type D₂ peut inhiber l'expression de la neurotensine. En parallèle, la densité des récepteurs NTS1 ne semble pas être altérée par un traitement aigu aux antagonistes D₂ (Holtom et al., 2000). Les effets d'un traitement chronique aux antagonistes D₂ sur l'expression de la neurotensine seront décrits dans le Chapitre 5 (à la page 37).

3.3.2. Modulation par les récepteurs dopaminergiques de type 1

Les récepteurs de type D₁ semblent favoriser l'expression de la neurotensine. Un traitement aigu aux agonistes D₁ n'altère pas de façon significative l'expression de la neurotensine, où seuls des changements ont été rapportés dans une région restreinte du caudé-putamen (Hanson and Keefe, 1999) ou avec une dose très élevée d'agoniste (Taylor et al., 1991). Un traitement chronique aux agonistes D₁ apporte des changements plus importants dans l'expression de la neurotensine, en augmentant sa concentration tissulaire (Singh et al., 1992) et sa transcription (Hanson and Keefe, 1999) dans le noyau accumbens et le caudé-putamen. Un agoniste D₁ aurait donc des effets similaires à un antagoniste D₂, puisque les deux augmentent l'expression de la neurotensine dans le striatum.

Les effets des récepteurs de type D₁ sur l'expression de la neurotensine peuvent être également mis en évidence avec une co-administration chronique de psychostimulant et d'antagoniste D₁. Les antagonistes D₁ seuls ne semblent pas produire d'effet significatif sur l'expression de la neurotensine, puisque plusieurs études rapportent des effets négatifs dans le

striatum et la substance noire, suite à un traitement aigu ou chronique (Singh et al., 1992, Alburges and Hanson, 1999, Letter et al., 1987, Jonhson et al., 1990, Augood et al., 1991, Gruber et al., 2002). Les psychostimulants administrés chroniquement augmentent l'expression de la neurotensine dans plusieurs régions, telles que le striatum (Letter et al., 1987, Alburges and Hanson, 1999, German et al., 2014, Johnson et al., 1991, Gruber et al., 2002), la substance noire (Castel et al., 1993, Letter et al., 1987, Alburges and Hanson, 1999, German et al., 2014, Johnson et al., 1991) et le globus pallidus (German et al., 2014). Dans ces mêmes études, il a été démontré que l'augmentation de la régulation de la neurotensine peut être diminuée, voir abolie, par une co-administration avec un antagoniste D₁. L'augmentation de l'expression de la neurotensine par un traitement chronique aux psychostimulants pourrait donc être en partie médiée par les récepteurs de type D₁. Les mécanismes sous-tendant la modulation de l'expression de la neurotensine par les récepteurs de type D₁ restent méconnus. Ils pourraient toutefois impliquer les facteurs de transcriptions CREB, *c-fos* et *Nur77* (connus pour être impliqués dans la modulation de l'expression de la neurotensine par les récepteurs de type D₂), puisque l'activité de ces facteurs est favorisée par l'activation des récepteurs de type D₁ (Cole et al., 1992, Das et al., 1997, Cadet et al., 2010).

Toutefois, d'autres facteurs pourraient être impliqués. En effet, les récepteurs de type D₁ produisent des effets robustes sur l'expression de la neurotensine seulement dans des conditions particulières, soit avec une administration chronique d'agoniste D₁ ou une co-administration chronique de psychostimulant avec des antagonistes D₁. Au contraire, une simple administration aiguë d'antagonistes D₂ suffit pour produire des effets robustes sur l'expression de la neurotensine. Les récepteurs de type D₁ pourraient donc dépendre de facteurs supplémentaires pour moduler l'expression de la neurotensine, qui sont non-nécessaires aux récepteurs de type D₂.

4. LA SCHIZOPHRÉNIE

4.1. LES SYMPTÔMES DE LA SCHIZOPHRÉNIE

La schizophrénie est une maladie psychiatrique affectant environ 1 % de la population (Perala et al., 2007), qui se manifeste majoritairement entre l'âge de 15 et 25 ans pour les hommes et entre 20 et 29 ans pour les femmes (Hafner et al., 1993, Loranger, 1984). Elle est caractérisée par une multitude de symptômes divisés en quatre catégories, soit les symptômes positifs, négatifs, cognitifs et affectifs (Crow, 1980, van Os and Kapur, 2009). Les symptômes positifs comprennent la psychose, les hallucinations, la désorganisation de la pensée, l'hostilité et une grande suspicion (Kay et al., 1987). Les symptômes négatifs sont caractérisés par un grand repli de la personne, qui est asociale, très peu motivée, ne manifestant pas d'émotions ni d'expressions (affect plat), communiquant peu et de façon brève (alogie), ne comprenant pas les concepts plus abstraits et ne ressentant pas de plaisir [anhédonie; Andreasen (1982), Kay et al., 1987, Carbon and Correll (2014)]. Les symptômes cognitifs de la schizophrénie incluent des déficits dans la mémoire de travail, la résolution de problème, la cognition sociale, l'apprentissage et l'attention (Simpson et al., 2010, Carbon and Correll, 2014). Finalement, les symptômes affectifs incluent l'anxiété, la dépression et les envies suicidaires (Morissette and Stahl, 2011). Tous les symptômes de la schizophrénie s'expriment d'une intensité différente d'un individu à un autre, et rend cette psychopathologie fortement complexe et hétérogène. Il est donc un défi de comprendre son origine et de la traiter.

4.2. LE TRAITEMENT DES SYMPTÔMES DE LA SCHIZOPHRÉNIE

À ce jour, il n'est pas possible de traiter la schizophrénie et seule l'expression de certains symptômes peut être diminuée grâce aux médicaments antipsychotiques. Le premier antipsychotique développé fut la chlorpromazine (Ban, 2007). Elle fut testée pour la première fois chez un patient schizophrène en 1952 en début d'année, et commercialisée vers la fin de la même année. Depuis, plusieurs antipsychotiques ont été commercialisés et présentent tous un profil pharmacologique similaire. En effet, les effets thérapeutiques des antipsychotiques dépendent de leur capacité à diminuer la transmission dopaminergique dans le striatum, via une

interaction avec les récepteurs de type D₂ (Ginovart and Kapur, 2012). Malgré leurs similitudes, des différences subsistent, ce qui permet leur classement en deux catégories, soit les antipsychotiques de 1^{re} génération (typiques) et de 2^e génération (atypique). Les antipsychotiques de ces deux classes de médicaments diffèrent dans leur affinité pour les récepteurs dopaminergiques et 5-HT, leur efficacité à traiter certains types de symptômes, et dans le risque qu'ils induisent des effets extrapyramidaux.

4.2.1. Les antipsychotiques typiques

La classe des antipsychotiques typiques inclut entre autre la chlorpromazine, l'halopéridol, le fluphenazine et le remoxipride. Les antipsychotiques typiques sont des antagonistes des récepteurs de type D₂ (Carlsson and Lindqvist, 1963, van Rossum, 1966, Seeman et al., 1976, Creese et al., 1976). Une forte corrélation existe entre l'affinité pour les récepteurs de type D₂ et les doses des traitements antipsychotiques typiques qui sont cliniquement efficaces [l'analyse inclut également l'antipsychotique atypique clozapine; Seeman et al. (1976), Creese et al. (1976)]. Ces études mettent donc en évidence que l'efficacité thérapeutique des antipsychotiques typiques repose de leur action sur les récepteurs de type D₂. Avec une meilleure connaissance des différents sous-types de récepteurs de type D₂, il fut établi que seule l'affinité pour les récepteurs D₂, et non D₃ et D₄, corrèle positivement avec des doses qui sont cliniquement efficaces (Richtand et al., 2007). Les antipsychotiques typiques sont associés à un plus grande risque de développer des effets extrapyramidaux. Ces derniers affectent la motricité et se manifestent soit à court ou à long terme durant un traitement antipsychotique (Muench and Hamer, 2010). À court terme, un traitement antipsychotique typique peut induire le syndrome pseudo-parkinsonien (rigidité et tremblement), l'akathisie (agitation) et les réactions dystoniques [spasticité; Muench and Hamer, (2010)]. À long terme, les patients peuvent souffrir de dyskinésie tardive, qui est caractérisée par des mouvements et des contractions musculaires involontaires, surtout au niveau de la bouche et des yeux (Simpson et al., 1979, Muench and Hamer, 2010). Malgré l'arrêt du traitement, la dyskinésie tardive peut perdurer et être irréversible. Le risque de développer des effets extrapyramidaux est directement lié au degré d'affinité pour les récepteurs de type D₂. En effet, les antipsychotiques typiques ayant une plus faible affinité pour les récepteurs de type D₂, tels que la chlorpromazine, induisent en plus faible proportion des effets extrapyramidaux que ceux ayant une plus forte

affinité, tels que l'halopéridol (Leucht et al., 2003; Muench and Hamer, 2010). Toutefois, il est possible de réduire les risques d'effets extrapyramidaux avec des doses adéquates d'antipsychotique, permettant un taux d'occupation des récepteurs de type D₂ du striatum se situant entre 65 et 80% (Farde et al., 1992, Kapur et al., 2000). Au-dessus de 80 %, les risques d'induire des effets extrapyramidaux sont accrus. L'occupation des récepteurs doit donc être plus faible, mais doit être au minimum de 65% pour obtenir des effets thérapeutiques.

4.2.2. Les antipsychotiques atypiques

Les antipsychotiques atypiques incluent la clozapine, l'olanzapine, la quétiapine et le sertindole. Les antipsychotiques atypiques se dissocient rapidement des récepteurs de type D₂ et permettraient de ne pas interférer de façon aussi importante sur la transmission dopaminergique, comme les antipsychotiques typiques le font (Kapur and Seeman, 2001). Les antipsychotiques atypiques sont associés à un risque moins élevé d'effets extrapyramidaux, mais certains présentent des risques similaires aux antipsychotiques typiques à forte affinité pour les récepteurs de type D₂ (Leucht et al., 2009) ou d'autres sont similaires aux antipsychotiques typiques à faible affinité (Leucht et al., 2003, Muench and Hamer, 2010). Les antipsychotiques atypiques ne sont donc pas toujours plus avantageux comparativement aux antipsychotiques typiques en ce qui attrait aux effets extrapyramidaux, et doivent être considérés au cas par cas (Leucht et al., 2009). Ils présentent également leurs propres effets secondaires, surtout d'ordre métabolique, tels que la prise de poids et la hausse du taux de lipides dans le sang (Muench and Hamer, 2010). Une autre propriété propre aux antipsychotiques atypiques est leur grande affinité pour les récepteurs 5-HT de type 2A (5-HT_{2A}). L'importance de l'interaction avec ce sous-type de récepteur reste néanmoins nébuleuse, puisqu'elle ne semble pas altérer les risques de développer des effets extrapyramidaux et n'est pas clairement liée à l'efficacité thérapeutique (Seeman, 2002, Kapur and Seeman, 2001). Les différents antipsychotiques atypiques ont une efficacité divergente pour l'amélioration des symptômes positifs et négatifs, alors que certains se montrent efficaces pour l'un de ces symptômes ou les deux (Leucht et al., 2009, Carbon and Correll, 2014). De façon générale, ils sont plus efficaces que les antipsychotiques typiques dans l'atténuation des symptômes négatifs (Leucht et al., 2009). Certains antipsychotiques atypiques, tels que l'aripiprazole, peuvent améliorer les symptômes affectifs. Finalement,

l'antipsychotique atypique clozapine a la particularité d'être efficace chez des patients qui ne répondent pas aux autres antipsychotiques (Kane et al., 1988).

4.3. LA THÉORIE NEURODÉVELOPPEMENTALE DE LA SCHIZOPHRÉNIE

La schizophrénie est une neuropathologie complexe qui impliquerait plusieurs systèmes de neurotransmetteurs et de multiples régions cérébrales. Ce dérèglement diffus dans le système nerveux central pourrait s'expliquer par des troubles neurodéveloppementaux, qui pourraient survenir dès la période pré-natale (Fatemi and Folsom, 2009, Lewis and Levitt, 2002, Rapoport et al., 2005, Keshavan and Hogarty, 1999). Une interaction complexe entre des facteurs environnementaux et génétiques ferait en sorte que le cerveau se développe de façon anormale et rend un individu plus vulnérable à développer la schizophrénie. Les facteurs environnementaux ne se limiteraient pas à la grossesse mais également durant la vie de l'individu. Ainsi, une cumulation d'anormalités au cours de la vie de l'individu pourrait ou non devenir suffisante pour favoriser l'émergence des premiers symptômes de la schizophrénie. À partir de cette période où les symptômes apparaissent, les processus neurodéveloppementaux menant à la schizophrénie seraient relativement complétés. Dans ce chapitre, il sera question de décrire les anormalités présentes dans la structure du système nerveux central de personnes souffrant de schizophrénie, ainsi que les facteurs environnementaux et génétiques qui pourraient contribuer à la psychopathologie. Aucun de ces aspects à eux-seuls ne suffit pour induire la schizophrénie, en plus de ne pas être nécessairement exclusif à la schizophrénie.

4.3.1. La structure anormale du système nerveux central

La schizophrénie est liée à des anormalités structurelles du système nerveux central, qui pourraient être dues à des troubles neurodéveloppementaux. Ces anormalités peuvent être entre autre démontrées en mesurant le volume de diverses structures du cerveau. Par exemple, les ventricules peuvent être élargis (Lawrie et al., 1998, Shenton et al., 2001, Rapoport et al., 2005, Harrison, 1999, Fatemi and Folsom, 2009). Également, les ganglions de la base, le thalamus, l'amygdale et l'hippocampe peuvent également avoir un volume altéré. Ces anormalités ne sont pas présentes de façon systématique et donc non communes à toutes les personnes souffrant de schizophrénie.

Il fut également démontré que les neurones présentent des anomalies dans leur morphologie. Des anomalies ont été rapportées dans de nombreuses régions cérébrales, mais de celles-ci, le cortex préfrontal dorsolatéral et l'hippocampe présentent les changements les plus robustes (Harrison, 1999). Par exemple, la taille du corps cellulaire des neurones de l'hippocampe est réduite (Harrison, 1999), suggérant que leur activité et leur connectivité est de moindre importance (Weinberger, 1999). Un nombre réduit d'interneurones, une activité réduite des neurones GABAergiques et des anomalies des protéines synaptiques font également partie des altérations observées dans l'hippocampe de personnes schizophrènes (Heckers and Konradi, 2002). Dans le cortex préfrontal dorsolatéral, les neurones présentent également une taille réduite, que ce soit leur corps cellulaire, leurs arbres dendritique ou axonal (Harrison, 1999). Les connexions sont également moins importantes et les couches II et III sont plus minces. Il est à noter toutefois qu'il est difficile d'établir si ces modifications sont les conséquences exclusives du développement anormal du système nerveux ou dues à d'autres facteurs, tels que l'âge (Harrison, 1999).

Finalement, certains circuits neuronaux semblent anormaux chez des personnes souffrant de schizophrénie. Les stimuli sont intégrés par des aires unimodales et transmodales du cortex, qui vont converger par la suite dans des réseaux supérieurs, soit les aires multimodales (Mesulam, 1998). Les aires multimodales comprennent entre autre le cortex préfrontal. Ces aires, et non celles qui sont unimodales ou transmodales, sont moins bien organisées chez des personnes souffrant de schizophrénie (Bassett et al., 2008). En effet, en plus d'avoir des connexions moins efficaces, ces circuits présentent une hiérarchie et des connexions anormales (i.e. connexion à des sites différents de ceux de personnes n'ayant pas de trouble neurologique). De telles modifications suggèrent un déficit sévère et précoce qui pourrait survenir durant le développement du système nerveux central.

4.3.2. Les facteurs génétiques et environnementaux

La cumulation et l'interaction complexe entre divers facteurs environnementaux et génétiques pourraient contribuer au développement de la schizophrénie (Lewis et al., 2002). La contribution de facteurs génétiques est mise en évidence par le fait qu'un jumeau monozygotique (i.e. ayant le même ADN) d'une personne souffrant de schizophrénie a 50 % de

risque de souffrir de schizophrénie également, qu'ils aient grandi dans des milieux différents ou non (Gottesman, 1991, Meyer and Quenzer 2005). Les facteurs génétiques sont donc critiques, même s'ils ne sont pas suffisants. Les gènes mutés qui pourraient contribuer au développement de la schizophrénie incluent la dysbindine, la neuréguline-1, le régulateur de signalisation de protéine 4 et la catéchol-O-méthyltransférase (Owen et al., 2005, Fatemi and Folsom, 2009, Rapoport et al., 2005, Harrison and Owen, 2003). La mutation de l'un ou de plusieurs de ces gènes n'est présente que dans une partie des personnes souffrant de schizophrénie et leur impact réel sur la maladie n'a pas été prouvé (Rapoport et al., 2005). Toutefois, les gènes mutés sont connus pour avoir divers rôles, dont réguler la transmission glutamatergique modulée par les récepteurs NMDA, le développement du système nerveux et la plasticité synaptique (Harrison and Owen, 2003). Ces mutations pourraient donc être en cause dans les troubles développementaux pouvant mener à la schizophrénie.

En plus de facteurs génétiques, des facteurs environnementaux peuvent favoriser le développement de la schizophrénie. L'influence de certains facteurs environnementaux semble particulièrement critique durant la grossesse et à l'accouchement. Ces facteurs comprennent des complications au moment de l'accouchement, tels que de l'asphyxie ou une césarienne d'urgence, ou durant la grossesse, tels que des infections virales, de la pré-éclampsie ou de la malnutrition (Rapoport et al., 2005, Lewis and Levitt, 2002, Fatemi and Folsom, 2009, Maki et al., 2005). Des facteurs environnementaux peuvent également influencer durant l'enfance et l'adolescence, dont la consommation de cannabis et l'abus physique ou sexuel (Maki et al., 2005, Read et al., 2005). Une certaine prudence doit être de mise pour établir des liens entre ces facteurs et la schizophrénie, puisqu'ils pourraient être biaisés. Par exemple, des complications durant la grossesse ou l'accouchement peuvent être le résultat d'une multitude de facteurs, dont l'un d'eux serait réellement attribuable à la schizophrénie, et non la complication comme telle (Rapoport et al., 2005).

4.4. LES SYSTÈMES DE NEUROTRANSMETTEURS ALTÉRÉS DANS LA SCHIZOPHRÉNIE

La schizophrénie est une maladie psychiatrique complexe qui est caractérisée par de nombreux dérèglements qui affectent plusieurs régions cérébrales. De plus, plusieurs systèmes de neurotransmetteurs se voient altérés dans la schizophrénie. De ceux-ci figurent les systèmes dopaminergique, glutamatergique, sérotoninergique (5-HT), GABAergique, cholinergique (Quenzer and Meyer, 2005) et potentiellement neurotensinergique (Caceda et al., 2007, St-Gelais et al., 2006). Dans ce chapitre, il sera question tout d'abord de décrire les altérations du système dopaminergique, qui suscitent une grande attention depuis plusieurs décennies, puis des systèmes glutamatergique et neurotensinergique.

4.4.1. Le système dopaminergique

Le système dopaminergique reçoit une attention particulière depuis plusieurs décennies dans la recherche sur la schizophrénie. Cette attention découle principalement du fait que les antipsychotiques agissent sur le système dopaminergique (Carlsson and Lindqvist, 1963). Van Rossum (1966) fut le premier à émettre l'hypothèse que la schizophrénie est caractérisée par une hyperactivité du système dopaminergique. Cette hypothèse découlait entre autre du fait que les antipsychotiques avaient des effets «anti-amphétamine» et que l'amphétamine stimulait le système dopaminergique. La théorie dopaminergique de Van Rossum est passée d'une hyperactivité dopaminergique généralisée à une théorie plus nuancée par Davis et al. (1991). En effet, Davis et al. (1991) stipulait que l'activité du système dopaminergique est déséquilibrée, puisque l'activité dopaminergique du circuit mésocortical est trop faible et aurait pour conséquence d'engendrer une activité dopaminergique trop forte dans le circuit mésolimbique. Ce déséquilibre serait à l'origine de la coexistence des symptômes positifs et négatifs, qui sont régulés par l'hyperactivité du circuit mésolimbique et l'hypoactivité du circuit mésocortical, respectivement. Davis et al. (1991) proposent également que le système dopaminergique ne serait pas le seul système altéré dans la schizophrénie. De nombreuses études ont depuis soutenus le déséquilibre dans le système dopaminergique, sans qu'un ordre précis ne soit toutefois démontré [hyperactivité engendre hypoactivité ou hypoactivité engendre hyperactivité; Howes and Kapur (2009)]. En plus des symptômes négatifs, l'hypoactivité du

circuit mésocortical serait impliquée dans les symptômes cognitifs de la schizophrénie (Abi-Dargham, 2004). De ce fait, le déficit de mémoire de travail, un des symptômes cognitifs de la schizophrénie, corrèle positivement avec une hausse de la densité des récepteurs de type D₁ dans le cortex préfrontal dorsolatéral. Les récepteurs de type D₁ ont une activité stimulatrice (Missale et al., 1998), qui pourrait compenser pour une hypoactivité dopaminergique du circuit mésocortical (Abi-Dargham, 2004). Les mécanismes qui semblent sous-tendre ce déséquilibre impliquent entre autre une libération de dopamine accrue dans le striatum, sans changement significatif de la densité des récepteurs dopaminergiques de type D₂ [observation chez des individus schizophrènes naïfs ou en arrêt de traitement; Abi-Dargham (2004), Howes and Kapur (2009)]. L'hyperactivité dopaminergique du striatum serait principalement impliquée dans la psychose (Howes and Kapur, 2009). En somme, la théorie dopaminergique était à l'origine une théorie mettant le système dopaminergique à l'origine et au centre de la schizophrénie. Son implication est indéniable, mais la littérature met en évidence que la schizophrénie est définie par des altérations plus vastes, touchant plusieurs systèmes de neurotransmetteurs.

4.4.2. Le système glutamatergique

Le glutamate est un neurotransmetteur largement répandu dans le cerveau. Les neurones pyramidaux du cortex projettent principalement du glutamate dans de nombreuses régions sous-corticales (Meyer and Quenzer, 2005). Il est donc impliqué dans de nombreuses fonctions et représente donc une cible de recherche intéressante pour la schizophrénie. Le récepteur glutamatergique NMDA serait hypoactif dans la schizophrénie. Des antagonistes NMDA produisent des effets très similaires aux symptômes de la schizophrénie, dont la psychose, la pensée désorganisée et l'affect plat (Moghaddam and Javitt, 2012, Laruelle et al., 2005, Krystal et al., 2003, Stone et al., 2007). En clinique, il fut démontré que des individus schizophrènes sont sensibles aux antagonistes NMDA, en plus d'avoir une amélioration de leurs symptômes lorsque des agonistes NMDA sont co-administrés avec des antipsychotiques (Laruelle et al., 2005). Ceci suggère donc qu'une hypoactivité des récepteurs NMDA pourrait sous-tendre les symptômes de la schizophrénie. La théorie sur l'hypoactivité des récepteurs NMDA pourrait être en lien avec d'autres théories sur la schizophrénie. Par exemple, les systèmes glutamatergique et dopaminergique interagissent étroitement ensemble. De ce fait, le déséquilibre potentiel du système dopaminergique, caractérisé par l'hypoactivité du circuit

mésocortical et l'hyperactivité du circuit mésolimbique, pourrait être sous-tendu par l'hypoactivité des récepteurs NMDA (Laruelle et al., 2005). Également, les gènes mutés qui pourraient contribuer au développement de la schizophrénie, incluant la dysbindine et la neuréguline (voir Chapitre 4.3.2 à la page 31), sont impliqués dans le développement du système nerveux et interagissent avec le système glutamatergique (Stone et al., 2007, Harrison and Owen, 2003). Des altérations du système glutamatergique pourraient donc faire partie des troubles développementaux de la schizophrénie.

4.4.3. Le système neurotensinergique

Comme il a été décrit dans le Chapitre 3, les systèmes neurotensinergique et dopaminergique interagissent étroitement ensemble. La neurotensine peut alors avoir un rôle potentiel dans diverses pathologies dopamino-dépendantes, dont la schizophrénie. Les connaissances sur de possibles altérations du système neurotensinergique dans la schizophrénie restent toutefois limitées. Par exemple, le taux de neurotensine dans le liquide cébrospinal est diminué dans une sous-population d'individus schizophrènes (Caceda et al., 2007). Ces taux corrélerent avec l'efficacité thérapeutique du traitement antipsychotique et la sévérité de la maladie. Toutefois, ces résultats manquent de précision et se limitent à une sous-population (St-Gelais et al., 2006). Il est important toutefois de noter qu'il est complexe d'étudier le système neurotensinergique chez l'humain (St-Gelais et al., 2006, Caceda et al., 2007). En effet, il n'existe pas d'outil permettant de faire des mesures *in vivo*, empêchant ainsi de prendre des mesures telles que l'occupation des récepteurs de la neurotensine.

Le lien potentiel du système neurotensinergique et la schizophrénie est surtout mis en évidence avec le rôle de la neurotensine dans les effets thérapeutiques des antipsychotiques. Le striatum est important dans ces effets des antipsychotiques (Ginovart and Kapur, 2012). L'expression de la neurotensine est augmentée dans le noyau accumbens (striatum ventral) suite à un traitement antipsychotique aigu (voir concentration tissulaire et densité de l'ARNm de la proneurotensine dans **Tableau I** à la page 24). Dans cette même région, la fonction la plus rapportée de la neurotensine est anti-dopaminergique (voir Chapitre 3.2.1 à la page 18) et a donc des propriétés antipsychotiques (Ervin et al., 1981, Feifel et al., 1997a). Ces résultats suggèrent que la neurotensine du noyau accumbens pourrait moduler les effets thérapeutiques des

antipsychotiques. Toutefois, il est difficile d'établir si le rôle de la neurotensine dans les effets thérapeutiques des traitements antipsychotiques est lié à une altération du système neurotensinergique chez les schizophrènes ou pas.

5. PROBLÉMATIQUES ET HYPOTHÈSE DE L'ÉTUDE PRÉSENTE

L'effet thérapeutique des antipsychotiques repose sur leur capacité à diminuer la transmission dopaminergique dans le striatum, en interagissant avec les récepteurs de type D₂ (Ginovart and Kapur, 2012). Paradoxalement, une exposition chronique aux antipsychotiques peut faire en sorte que le système dopaminergique s'adapte et devient hypersensible. En pré-clinique, cette hypersensibilisation du système dopaminergique se traduit en une sensibilité aux effets d'agonistes dopaminergiques, tels que les effets psychomoteurs de l'amphétamine (Vonvoigtlander et al., 1975, Smith and Davis, 1975, Carvalho et al., 2009, Samaha et al., 2007), la cocaïne (Fukushiro et al., 2008), la méthamphétamine (Mantano et al., 1981) et l'apomorphine (Smith and Davis, 1975, Montano et al., 1982, Carvalho et al., 2009). En pré-clinique, les antipsychotiques atypiques semblent moins enclins à sensibiliser le système dopaminergique (Samaha et al., 2007, Bedard et al., 2013).

La sensibilisation dopaminergique se manifeste également en clinique et peut avoir diverses conséquences. Elle pourrait augmenter les risques de rechute de psychose lorsque les taux d'antipsychotique dans le cerveau sont bas juste avant la prise d'une nouvelle dose d'antipsychotique, ou après l'arrêt du traitement (Chouinard et al., 1978, Chouinard and Jones, 1980). La sensibilisation dopaminergique semble également être liée à la dyskinésie tardive (Chouinard et al., 1978, Chouinard and Jones, 1980, Fallon and Dursun, 2011). En pré-clinique, la sensibilisation dopaminergique corrèle avec une perte de l'efficacité thérapeutique du traitement antipsychotique (Samaha et al., 2007). En clinique, une tolérance peut s'installer après un traitement à long terme aux antipsychotiques, et pourrait potentiellement être liée à la sensibilisation dopaminergique (Chouinard and Jones, 1980, Fallon et al., 2012, Suzuki et al., 2015). La sensibilisation dopaminergique pourrait également altérer le système de récompense, tel que démontré dans des études pré-cliniques (Bedard et al., 2011, El Hage et al., 2015). L'altération du système de récompense pourrait avoir pour conséquence de rendre les individus schizophrènes traités chroniquement aux antipsychotiques plus vulnérables à consommer des drogues et à souffrir de toxicomanie (Samaha, 2014). Cet effet des antipsychotiques pourrait donc expliquer en partie la plus haute prévalence de toxicomanie chez les schizophrènes par rapport à la population générale [$\sim 40\%$ d'abus de drogue chez les schizophrènes (Kavanagh et al., 2002, Swartz et al., 2006) contre $\sim 10\%$ dans la population générale (Veldhuizen et al.,

2007)]. L'abus de drogue chez des personnes souffrant de schizophrénie peut exacerber leurs symptômes, par exemple, en augmentant les risques de rechute de psychose (Dixon, 1999). Toutes les conséquences potentielles de la sensibilisation dopaminergique sont importantes et compromettent un traitement adéquat des symptômes de la schizophrénie et la qualité de vie à long terme. Une meilleure connaissance de la sensibilisation dopaminergique permettra donc de développer des antipsychotiques ayant une meilleure efficacité à long terme.

La sensibilisation dopaminergique ne semble pas dépendre de changement dans la disponibilité de dopamine en pré-synaptique. En effet, les taux extra-cellulaires de dopamine dans le striatum ne sont pas altérés suite à une injection d'amphétamine (Samaha et al., 2007, Ichikawa and Meltzer, 1992). De plus, la densité des transporteurs de la dopamine est inchangée (Ase et al., 1999). La densité des récepteurs de type D₁ ne semble également pas altérée par un traitement antipsychotique, tel que démontré en pré-clinique (MacKenzie and Zigmond, 1985, Huang et al., 1997, Marin and Chase, 1993) et en clinique (Kestler et al., 2001). Toutefois, un traitement antipsychotique peut augmenter la densité des récepteurs de type D₂, tel que démontré en pré-clinique (Burt et al., 1977, Wilmot and Szczepanik, 1989, See et al., 1990, Huang et al., 1997, Merchant et al., 1994, Mackenzie and Zigmond et al., 1985) et clinique (Kestler et al., 2001). L'augmentation de la densité des récepteurs de type D₂ dans le striatum corrèle avec la sensibilisation dopaminergique (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008). De plus, une augmentation du nombre de récepteur de type D₂ en haute affinité pour la dopamine (D₂^{HIGH}) est également associée à la sensibilisation dopaminergique (Seeman et al., 2005, Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008, Muller and Seeman, 1977). La sensibilisation dopaminergique corrèle avec une potentialisation de l'augmentation de la transcription de l'ARNm de *c-fos* et de *Nur77* dans le striatum dorsal (caudé-putamen) induite par l'amphétamine (Bedard et al., 2011, Bedard et al., 2013). La sensibilisation dopaminergique serait donc liée à une forte signalisation intra-cellulaire médiée par les récepteurs de type D₂ post-synaptiques du striatum (Samaha, 2014). Toutefois, des altérations dans le nombre et l'activité des récepteurs de type D₂ ne semblent pas exclusives aux traitements antipsychotiques sensibilisant le système dopaminergique. En effet, un traitement antipsychotique ne sensibilisant pas le système dopaminergique peut également augmenter dans une moindre mesure la densité des récepteurs D₂^{HIGH} (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008) et de l'ARNm de *c-fos* induite par

l'amphétamine (Bedard et al., 2013). Des altérations du système dopaminergique ne seraient donc pas suffisantes et ne représentent pas un marqueur fiable de la sensibilisation dopaminergique induite par un traitement antipsychotique. D'autres systèmes régulant l'activité de la dopamine pourraient être alors impliqués.

La neurotensine module l'activité du système dopaminergique (Binder et al., 2001). Dans le noyau accumbens, la neurotensine peut avoir des effets anti- et pro-dopaminergiques (voir **Figure 4** à la page 20). L'interaction entre la neurotensine et la dopamine est bidirectionnelle, puisque les antipsychotiques régulent également l'expression de la neurotensine dans le noyau accumbens. Dans cette région, la concentration tissulaire de neurotensine augmente suite à un traitement aux antipsychotiques, soit aigu (résumé dans le **Tableau I** à la page 24) ou chronique (See et al., 1995, Kinkead et al., 2000, Govoni, 1980, Goedert et al., 1984, Kilts et al., 1988, Myers et al., 1992, Frey et al., 1987, Bissette et al., 1988). Un traitement aigu (Merchant et al., 1992b) ou chronique (Merchant et al., 1994) aux antipsychotiques augmente également la densité de l'ARNm de la proneurotensine dans le *shell* du noyau accumbens. La modulation de l'expression de la neurotensine dans le noyau accumbens semble spécifique aux antipsychotiques, alors que de tels changements ne sont pas observés avec des traitements aigu ou chronique avec d'autres classes de médicaments, tels que les antidépresseurs et les benzodiazépines (Myers et al., 1992, Frey et al., 1987).

Donc, la neurotensine du noyau accumbens module l'activité de la dopamine et les antipsychotiques modulent l'expression de la neurotensine dans cette même région. De ce fait, nous avons l'hypothèse suivante :

La neurotensine du noyau accumbens module l'expression de la sensibilisation dopaminergique induite par un traitement antipsychotique.

Si cette hypothèse est confirmée, nous nous attendons donc à ce que l'expression de la sensibilisation dopaminergique soit 1) altérée en manipulant l'activité de la neurotensine dans le noyau accumbens et 2) associée à des changements dans l'expression de l'ARNm de la proneurotensine et/ou la densité des récepteurs NTS1 dans le noyau accumbens. Pour vérifier notre hypothèse, deux modèles de traitement antipsychotiques ont été employés, soit un induisant de la sensibilisation dopaminergique et l'autre pas. Dans ces deux modèles, les

animaux reçoivent le même antipsychotique (halopéridol) avec des doses cliniquement pertinentes, mais administré de façon différente. L'halopéridol est soit administré de façon intermittente (par injections sous-cutanées quotidiennes) ou continue (par mini-pompe osmotique implantée en sous-cutanée). Une administration continue d'antipsychotique est plus susceptible d'induire de la sensibilisation dopaminergique qu'une administration intermittente (Samaha et al., 2007, Bedard et al., 2011, Ericson et al., 1996). Ainsi, ces deux modèles permettront de délimiter les effets qui sont dus à une simple exposition chronique aux antipsychotiques, de ceux spécifiques à un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique. Il est important de noter également que l'ensemble des expériences de l'étude présente ont été effectuées après l'arrêt du traitement antipsychotique. Cette période a été choisie puisqu'elle représente le moment où l'expression de la sensibilisation dopaminergique évoquée par les antipsychotiques est à son plus fort (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008, Chouinard et al., 1978, Chouinard et al., 1980). Finalement, les effets comportementaux de la neurotensine ont été évalués avec la neurotensine 1-13 (le peptide complet), et également avec un fragment du neuropeptide (neurotensine 8-13) qui a la capacité de lier le récepteur NTS1. La neurotensine 8-13 est moins utilisée, mais, en comparaison à la neurotensine 1-13, présente une plus grande affinité pour les récepteurs NTS1 (Tanaka et al., 1990) et est plus efficace pour augmenter le K_D des récepteurs de type D₂ (Li et al., 1995).

Article

ANTIPSYCHOTIC-EVOKED DOPAMINE SUPERSENSITIVITY IS LINKED TO ALTERED NEUROTENSIN FUNCTION IN THE NUCLEUS ACCUMBENS

Alice Servonnet¹, Claude Bouchard¹, Anne-Marie Bédard², Daniel Lévesque^{3,4}, Pierre-Paul Rompré^{1,5} and Anne-Noël Samaha^{2,4}

¹Department of Neuroscience, Faculty of Medicine, Université de Montréal, ²Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, ³Faculty of Pharmacy, Université de Montréal, ⁴CNS Research Group, Faculty of Medicine, Université de Montréal, ⁵FRQ-S Research Group in Behavioral Neurobiology, Concordia University, Montreal, Qc, Canada.

Corresponding Author:

Anne-Noël Samaha, PhD
Department of Pharmacology
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-ville
Montréal, Québec
H3C 3J7
Canada
Tel: 514 343 6111 x. 32788
Fax: 514 343 2291

CONTRIBUTION DES CO-AUTEURS

En tant que premier auteure de cet article, j'ai effectué l'ensemble des expériences, ainsi que collecté et analysé l'ensemble des données. J'ai rédigé l'article avec mes directeurs, Dre Anne-Noël Samaha et Dr Pierre-Paul Rompré. Par ailleurs, mes directeurs m'ont supervisé pour toutes les expériences, dont ils ont majoritairement conçu les protocoles. J'ai été supervisée par le Dr Daniel Lévesque pour l'expérience d'hybridation *in situ* et le test de liaison. Anne-Marie Bédard a d'ailleurs contribué techniquement à la préparation des cerveaux pour ces expériences. Claude Bouchard a contribué techniquement pour la dernière étude comportementale.

ACCORD DES CO-AUTEURS

L'accord des co-auteurs a été obtenu pour intégrer le manuscrit de l'article intitulé «Antipsychotic-evoked dopamine supersensitivity is linked to altered neurotensin function in the nucleus accumbens», qui sera soumis dans le journal *Neuropharmacology*, dans le mémoire présent.

HIGHLIGHTS

- Antipsychotic treatment can induce dopamine (DA) supersensitivity
- The neuropeptide neurotensin modulates DA function
- Antipsychotic-evoked DA supersensitivity alters neurotensin function in the accumbens
- This might regulate the expression of antipsychotic-evoked DA supersensitivity

ABSTRACT

Chronic exposure to antipsychotic medications can evoke dopamine supersensitivity, leading to increased sensitivity to the behavioural effects of dopamine stimulation. The neurobiological mechanisms of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity are not known. The neuropeptide neurotensin modulates dopamine function, and chronic antipsychotic treatment increases neurotensin levels in the nucleus accumbens. In this area, neurotensin can have either anti- or pro-dopaminergic effects. NTS1 receptors modulate both effects. We hypothesized that neurotensin in the nucleus accumbens influences the expression of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity. Thus, we injected neurotensin 1-13 into the nucleus accumbens and measured the effects on amphetamine-induced locomotion (measured as localized movement and cage crossings), in control rats and in antipsychotic-treated rats. Consistent with the literature, intra-accumbens injection of neurotensin 1-13 decreased amphetamine-induced locomotion in control rats. Neurotensin 1-13 still had this effect following antipsychotic treatment that does not lead to dopamine supersensitivity. However, an antipsychotic treatment evoking dopamine supersensitivity changes neurotensin 1-13 effects. Indeed, neurotensin 1-13 failed to decrease localized movement, but seems effective to decrease cage crossings. This effect was however delayed compared to the remaining groups. This unusual pattern of neurotensin 1-13 effects occurred in spite of normal accumbal NTS1 receptor levels. Also, chronic antipsychotic exposure, whether it induces dopamine supersensitivity or not, increases the expression of proneurotensin mRNA in the nucleus accumbens core. In the caudate-putamen, an antipsychotic treatment not evoking dopaminergic supersensitivity up-regulates NTS1 receptor levels, whereas an antipsychotic treatment evoking dopamine

supersensitivity increases proneurotensin mRNA expression. In conclusion, accumbal neurotensin influences the expression of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity.

KEY WORDS

Antipsychotic, dopamine supersensitivity, neurotensin, nucleus accumbens, schizophrenia.

1. INTRODUCTION

Antipsychotic medications are widely used to treat the symptoms of schizophrenia. These medications exert their therapeutic effects by interacting with dopamine D₂ receptors and decreasing striatal dopaminergic transmission. However, long-term exposure to antipsychotic drugs evokes compensatory neuroadaptations leading to supersensitivity to dopamine agonist stimulation. In patients with schizophrenia, this is linked to an increased risk of relapse to psychosis (Chouinard et al., 1978) and antipsychotic treatment failure or resistance (Fallon et al., 2012, Suzuki et al., 2015). In laboratory animals, antipsychotic-induced dopamine supersensitivity is linked to an augmented psychomotor response to dopaminergic agonists including amphetamine (Vonvoigtlander et al., 1975, Smith and Davis, 1975, Carvalho et al., 2009, Samaha et al., 2007), cocaine (Fukushiro et al., 2008) and apomorphine (Smith and Davis, 1975, Carvalho et al., 2009, Vonvoigtlander et al., 1975), decreased efficacy in models of antipsychotic-like effects (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008), and a potentiation of amphetamine-induced responding for reward cues (Bedard et al., 2011, El Hage et al., 2015).

Investigations of the neurobiological basis of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity have greatly focussed on the dopamine system, but this work has not revealed any reliable markers. There appear to be no significant changes in the availability of either presynaptic dopamine (Samaha et al., 2007, Ichikawa and Meltzer, 1992) or dopamine transporters (Ase et al., 1999). Chronic antipsychotic treatment also does not produce consistent changes in D1 receptor levels (MacKenzie and Zigmond, 1985, Huang et al., 1997, Marin and Chase, 1993). In contrast, dopamine supersensitivity has been associated with an increased

number of striatal D₂ receptors and D₂ receptors in a high affinity state for dopamine [D₂^{HIGH}; (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008, Muller and Seeman, 1977)]. However, these D₂-related changes can also be induced to a lesser extent by an antipsychotic treatment not evoking dopamine supersensitivity (Samaha et al., 2008). Because antipsychotic-induced dopamine supersensitivity does not appear to be linked to consistent neuroadaptations within the dopamine system, one possibility is that changes in neurobiological systems that modulate dopamine function are involved.

Neurotensin is a neurotransmitter and neuropeptide that closely interacts with the dopamine system (Binder et al., 2001). In the striatum and the ventral tegmental area, neurotensin can oppose the actions of dopamine through interactions with D₂ receptors. For instance, neurotensin can decrease the affinity of D₂ receptors for dopamine agonists (Agnati et al., 1983, Li et al., 1995, von Euler et al., 1990). At the behavioural level, microinjection of neurotensin into the nucleus accumbens decreases the hyperlocomotion induced by a systemic injection of amphetamine (Ervin et al., 1981), cocaine (Robledo et al., 1993) or by local application of dopamine (Kalivas et al., 1984). These anti-dopaminergic effects require activation of NTS1 receptors (Steinberg et al., 1994). The anti-dopaminergic effects of neurotensin could be potentiated by its ability to induce glutamate excitatory post-synaptic currents, as observed on dopaminergic and non-dopaminergic neurons of the ventral tegmental area (Bose et al., 2015). In parallel, neurotensin can also have pro-dopaminergic effects. By acting at NTS1 receptors located on dopaminergic terminals (Pickel et al., 2001), neurotensin can promote dopamine release in the nucleus accumbens by inhibiting local D₂ autoreceptor activity (Fawaz et al., 2009). Microinjection of neurotensin in the nucleus accumbens can also promote dopamine-mediated behaviours including apomorphine-induced stereotypy (Blumstein et al., 1987) and amphetamine or apomorphine-induced disruption of prepulse inhibition (Feifel et al., 1997b).

Antipsychotic drugs modulate the expression of neurotensin. Both acute and chronic antipsychotic administration elevate neurotensin tissue levels in the nucleus accumbens (Govoni et al., 1980, Kinkead et al., 2000, Bissette et al., 1988, See et al., 1995). Antipsychotic treatment also promotes transcription of the neurotensin precursor, proneurotensin, in the nucleus

accumbens shell and the dorsolateral caudate-putamen (Merchant et al., 1992, Merchant et al., 1994a).

Thus, neurotensin in the nucleus accumbens regulates dopamine function and antipsychotic treatment upregulates neurotensin levels. As such, we hypothesized that the actions of neurotensin in the nucleus accumbens regulate the expression of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity. If this hypothesis is true, then 1) modulating the activity of neurotensin in the nucleus accumbens should alter the expression of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity, and 2) dopamine supersensitivity should be linked to changes in proneurotensin mRNA and/or NTS1 receptor levels in the nucleus accumbens. An important issue to address is whether any results obtained in the present study are linked to antipsychotic-induced dopamine supersensitivity per se versus mere exposure to antipsychotic medication. To address this, we compared two modes of antipsychotic treatment; continuous (via subcutaneous osmotic minipump) versus intermittent (via daily subcutaneous injection). When clinically meaningful doses are tested, only continuous antipsychotic treatment produces dopamine supersensitivity (Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011, Ericson et al., 1996). Finally, the behavioural effects of neurotensin has been evaluated with the full peptide (neurotensin 1-13) and a fragment of the peptide (neurotensin 8-13). Compared to neurotensin 1-13, neurotensin 8-13 has a greater affinity for NTS1 receptors (Tanaka et al., 1990) and is more efficient to increase D_2 receptors K_D (Li et al., 1995).

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Animals

Subjects were male Sprague-Dawley rats (Charles River Laboratories, Montreal, Qc, Canada) housed on a reverse 12 hours light/dark cycle (lights off at 8:30 am). Rats in Experiment 1 (n = 24), 2 (n = 24) and 3 (n = 27) weighed 250-275 g at arrival and were housed one per cage. For Experiment 4, fifty rats weighing 200-225 g at arrival were housed two per cage. Behavioural testing took place during the dark phase of the rats' rest/activity cycle. Food and water were available ad libitum throughout the experiment. All reasonable efforts were made to

minimize animal suffering and the number of animals used. The Université de Montréal's animal care committee approved all experimental procedures.

2.2. Drugs

Haloperidol (Sandoz, Boucherville, Canada) was dissolved in sterile water containing 0.5% glacial acetic acid (pH adjusted to 5 with NaOH) for administration via subcutaneous osmotic minipump (Alzet model 2ML2, 17-18 day drug delivery; Durect Corporation, Cupertino, California). This drug delivery protocol maintains striatal D₂ receptor occupancy over time (Kapur et al., 2003, Samaha et al., 2007). For subcutaneous injection, haloperidol was dissolved in 20 mM phosphate buffered saline (PBS), to avoid skin irritation that could develop over the 16-17 days of treatment (see below). Importantly, using either PBS (Samaha et al., 2008) or a glacial acetic acid/water solution (Li et al., 2007) does not alter haloperidol's behavioural effects. Dextroamphetamine sulfate (Sigma-Aldrich, Dorset, UK), neurotensin 1-13 and neurotensin 8-13 (Bachem, Torrance, CA, USA) were dissolved in 0.9 % sterile saline. Amphetamine (1.5 mg/kg) and haloperidol were injected subcutaneously in a volume of 1 ml/kg. Neurotensin was microinjected into the nucleus accumbens in a volume of 0.5 µl/hemisphere.

2.3. Antipsychotic Treatment

2.3.1. Doses and Modes of administration

We wished to study antipsychotic-induced dopamine supersensitivity using clinically relevant doses. Positron-emission tomography (PET) studies in humans suggest that doses of typical antipsychotics that produce therapeutic benefits without increasing the risk of extrapyramidal side effects occupy between 65 and 80 % of striatal D₂ receptors (Farde et al., 1992, Kapur et al., 2000). Similarly, studies in rats show that doses of antipsychotic that disrupt conditioned avoidance responding (a well-validated index of antipsychotic-like efficacy in animals) without inducing extrapyramidal side effects also occupy between 65 and 80 % of striatal D₂ receptors (Wadenberg et al., 2000). In regard of kinetics over time, several days after an acute antipsychotic administration, striatal D₂ receptor occupancy remains high in humans (Farde et al., 1989). Thus, standard antipsychotic treatment regimens in the clinic, which involve

daily intake of medication, would produce continuously high levels of D₂ occupancy. To model this in rats, antipsychotic drugs can be administered through a subcutaneous osmotic minipump, as this produces continuously high levels of D₂ occupancy for the duration of treatment, as shown with 0.5 mg/kg/day haloperidol (Kapur et al., 2003, Samaha et al., 2007). In contrast, subcutaneous injections of antipsychotic in rats produce transiently high occupancy, which falls well below the therapeutic range 24 hours after injection, as shown with daily injection of 0.05 mg/kg haloperidol (Kapur et al., 2003). Using clinically meaningful and equivalent doses, we (Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011) and others (Ericson et al., 1996) have shown that continuous antipsychotic treatment via minipump produces dopamine supersensitivity, as demonstrated with a higher locomotor response to amphetamine. In parallel, intermittent treatment via daily subcutaneous injection does not induce dopamine supersensitivity and so does not elevate amphetamine induced-locomotion.

To meaningfully compare the continuous (minipump) versus intermittent (subcutaneous injection) conditions, we used doses that achieved dose/peak D₂ occupancy constant under the two conditions. Administration of 0.5 mg/kg/day haloperidol via minipump achieves clinically relevant levels of D₂ occupancy [73 % ± 14 SD; unpublished observations. See also (Kapur et al., 2003, Samaha et al., 2007)]. However, given through subcutaneous injection, this same dose produces >80% D₂ occupancy (Wadenberg et al., 2001) and evokes catalepsy (Natesan et al., 2006). When injected subcutaneously, 0.05 mg/kg haloperidol is sufficient to evoke clinically representative levels of occupancy in the absence of catalepsy [74% ± 7 SD, 2 h post injection, (Kapur et al., 2003)].

2.3.2. Surgery and injections

Under isoflurane (2 %) anesthesia, continuous-haloperidol (CONT-HAL) rats were implanted with osmotic minipumps set to lie in between the scapulae, as described in Samaha et al. (2007). Control and intermittent-haloperidol (INT-HAL) animals received a sham surgery consisting of an incision that was closed with wound clips. Locomotor response to amphetamine does not differ between animals receiving either sham surgery (Samaha et al., 2008) or implanted with a s.c. minipump containing sterile water/0.5% glacial acetic acid (Samaha et al., 2007). Note also that behavioral testing took place after minipump removal. Starting on the day

following minipump implantation, INT-HAL animals were injected daily with haloperidol for 16-17 days, whereas control and CONT-HAL rats received PBS. Seventeen or 18 days after surgery, minipumps were removed. Control and INT-HAL rats received a second sham surgery. Note that surgery duration is a little longer when minipump are implanted or removed compared to rats receiving sham surgery (~1 minute more) but does not differ greatly and moreover, anesthetic dose is low.

2.4. Experiment 1: Effects of neurotensin 1-13 microinjection into the nucleus accumbens on amphetamine-induced locomotion in rats previously given continuous antipsychotic treatment

Here we tested the hypothesis that increasing the activation of neurotensin receptors in the nucleus accumbens influences the expression of antipsychotic-induced dopamine supersensitivity. To this end, we microinjected neurotensin 1-13 into the nucleus accumbens of control rats and of rats given CONT-HAL treatment immediately before measuring the locomotor response to systemic amphetamine.

2.4.1. Implantation of intracerebral cannulae

Fig. 1A illustrates the timeline of experimental events. Approximately one week after arrival to the animal colony, rats weighing approximately 325-350 g were anesthetised with isoflurane (5 % for induction and 2-3 % for maintenance) and placed in a stereotaxic apparatus. Animals received 15 mg/kg carprofen (s.c.) and 90 mg/kg penicillin (i.m.) at the beginning of the surgery. The skull surface was exposed and guide cannulae (22 GA - model C313G; HRS Scientific, Montreal, Qc, Canada) were implanted 2 mm above the nucleus accumbens core of each hemisphere, at the following coordinates; A/P, +2.0 mm, M/L, \pm 2.6 mm, both from Bregma, and D/V -5.3 mm from the skull surface, with a M/L angle of 10°. Four stainless steel screws were anchored into the skull and the cannulae were secured in place with dental cement. Cannulae were sealed with obturators (model C313DC; HRS Scientific) that lay flush with the guide cannulae. Subcutaneous minipumps were implanted during the same surgery.

2.4.2. Brain microinfusions and locomotor activity tests

Intra-cerebral injections were performed with injectors (28GA - model C313I) cut to protrude 2 mm beyond the tip of the guide cannula. Injections were administered over 60 seconds using a microsyringue pump (HARVARD PHD 2000, HARVARD Apparatus, Saint-Laurent, QC, Canada). Injectors were left in place for another 60 seconds to let the solution diffuse. Two days after antipsychotic treatment cessation (i.e. minipump removal), rats were brought to the locomotor activity testing room and were injected with saline into the nucleus accumbens to habituate them to the procedure. No behaviour was recorded. The next day, animals received intra-accumbens neurotensin 1-13 (6 nmol/0.05 μ L/side) or saline immediately followed by a s.c. injection of either amphetamine or saline. Locomotor activity was then recorded for 2 hours in clear Plexiglas cages (27 \times 48 \times 20 cm) equipped with a row of 6 infrared photocell beams placed 3 cm above the floor of the cage. Photocell beam interruptions were detected and recorded by a computer. Two indices of psychomotor activity were recorded; 'Localized beam Breaks' (each interruption of each photocell beam) and 'Cage crossing' (each crossing of the full cage length). All animals received all treatment combinations, in counterbalanced order. Each treatment combination was administered every other day except when animals received intra-accumbens saline and s.c. saline. In this case, the next testing session took place on the following day.

2.4.3. Histology

Rats were exposed to 5% isoflurane for 30-60 seconds and decapitated with a guillotine. Brains were rapidly extracted and immediately frozen in isopentane (-40 $^{\circ}$ C) and stored at -20 $^{\circ}$ C. Brains were sectioned into 30- μ m thick coronal slices using a cryostat set at -20 $^{\circ}$ C. Data from animals with injection sites outside of the nucleus accumbens core were excluded from analysis. The Paxinos and Watson (1986) rat brain atlas was used to identify brain regions.

2.5. Experiment 2: Effects of neurotensin 8-13 microinjection into the nucleus accumbens on amphetamine-induced locomotion in rats previously given continuous antipsychotic treatment

The objective here was to evaluate if neurotensin 8-13 reproduced the results obtained with neurotensin 1-13 in Experiment 1. Procedures were the same as those in Experiment 1,

except that animals received neurotensin 8-13 (6 nmol/0.05 μ L/side) and guide cannulae coordinates were modified to target slightly more anterior aspects of the nucleus accumbens, as follows: A/P, +2.1 mm, M/L, \pm 2.6 mm, both from Bregma, and D/V - 5.0 mm from the skull surface, with a M/L angle of 10°.

2.6. Experiment 3: Effects of neurotensin 1-13 microinjection into the nucleus accumbens on amphetamine-induced locomotion in rats previously given continuous or intermittent antipsychotic treatment

Experiment 1 showed that in animals that were exposed to haloperidol and that have developed dopamine supersensitivity, the ability of neurotensin in the nucleus accumbens to suppress amphetamine-induced locomotion is disrupted. Here, using a new cohort of rats, we sought to determine whether altered neurotensin function was specifically linked to dopamine supersensitivity or whether it was a consequence of mere antipsychotic exposure. Thus, we compared the mode of antipsychotic treatment used in Experiment 1 that produces dopamine supersensitivity (continuous exposure) to another mode that does not (intermittent exposure) (Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011, Ericson et al., 1996). Doing so, procedures were the same as those in Experiment 1 except that we added an additional cell; a group of rats that received haloperidol intermittently via daily s.c. injection.

2.7. Experiment 4: Effects of continuous versus intermittent antipsychotic treatment on NTS1 receptor and proneurotensin mRNA levels in the striatum

Here we tested the hypothesis that antipsychotic treatment leading to dopamine supersensitivity alters the levels of NTS1 receptors and proneurotensin mRNA in the nucleus accumbens. Thus, we compared NTS1 receptor density and proneurotensin mRNA levels in control rats, INT-HAL rats and CONT-HAL rats. We also extended our analysis to the dorsal striatum (caudate-putamen).

2.7.1. Brain preparation

Fig. 1B illustrates the timeline of experimental events. Nine to 10 days after antipsychotic treatment cessation, CONT-HAL and INT-HAL rats, as well as control rats received a subcutaneous injection of either amphetamine or saline 1 hour prior to decapitation. Brains were extracted, immediately frozen in isopentane (-40°C) and stored at -80°C . Brains were sectioned into 12- μm thick coronal slices using a cryostat. Brain slices were mounted on microscope slides and stored at -80°C until processing.

2.7.2. *NTS1 receptor levels*

Receptor binding procedures were based on Radja et al. (2006). NTS1 receptors were labelled using [^{125}I]Tyr3-Neurotensin (specific activity: 2200 Ci/mmol; Perkin Elmer). Brain slices were pre-incubated in 50 mM Tris-HCl buffer containing 0.2 % BSA and 5 mM MgCl_2 (pH adjusted to 7.4 with HCl) for 30 minutes at room temperature. Brain slices were then incubated in the pre-incubation buffer containing 0.3 nM [^{125}I]Tyr3-Neurotensin, 1 μM levocabastine and 1 μM 1-10 phenanthroline for 1 hour at room temperature. Non-specific binding was assessed with binding buffer containing 10 μM neurotensin. Brain slices were then washed twice with 40 mM Tris-HCl (pH 7.4) at 4°C for 2 minutes and once with distilled water at 4°C for 10 seconds. Brain slices dried overnight at room temperature and were apposed to a BiomaxMR film (Kodak; VWR, Town of Mount-Royal, QC, Canada) for 4 days.

2.7.3. *In situ hybridization of proneurotensin mRNA*

In situ hybridization procedures were based on those described in Bedard et al. (2011). A complementary mRNA (cRNA) probe for proneurotensin mRNA (amino acids 57-170) was subcloned into PGEM-4Z plasmid and linearized with BamHI. The cRNA probe was then synthesized using [^{35}S]UTP (specific activity: 1250 Ci/mmol; Perkin Elmer, Woodbridge, ON, Canada), polymerase T7 and a Promega riboprobe kit. Following in situ hybridization processing, brain slices were placed against BiomaxMR film for 4 days.

2.7.4. *Analysis of autoradiograms*

An experimenter blind to experimental condition quantified NTS1 receptor and proneurotensin mRNA levels. Optical densities were measured using Image J software (NIH, Bethesda, MD, USA) and translated in $\mu\text{Ci/g}$ using a [^{14}C] radioactivity standard (ARC 146A;

American Radiolabeled Chemicals, St-Louis, MI, USA). Background values were obtained from the corpus callosum of each brain section and were subtracted from analysis. Analysis of autoradiograms showed that non-specific binding of [125I]Tyr3-Neurotensin was very low (0.04-0.05 $\mu\text{Ci}/\text{gram}$ of tissue) and thus it was not subtracted from analysis. The caudate-putamen was divided into dorsomedial, dorsolateral, ventromedial and ventrolateral quadrants and analysed between + 1.6 and 0.0 mm relative to Bregma. The shell and core of the nucleus accumbens were analysed between + 2.0 and + 0.8 mm relative to Bregma. Regions were identified based on Paxinos and Watson (1986) atlas.

2.8. Statistics

Mixed-model ANOVA was used to analyse the influence of treatment condition on both locomotor activity (Time \times Treatment condition, where ‘Time’ is a within-subjects variable and ‘Treatment condition’ is a between-subjects variable or Time \times Group, where ‘Time’ is a within-subjects variable and ‘Group’ is a between-subjects variable) and proneurotensin mRNA and NTS1 receptor levels (Rostro-Caudal Position \times Group, where ‘Rostro-Caudal Position’ is a within-subjects variable and ‘Group’ is a between-subjects variable). Bonferroni post-tests were performed when an interaction was significant. All results are mean \pm SEM.

3. RESULTS

3.1. Experiments 1 to 3: Expression of dopamine supersensitivity

In Experiments 1 to 3, locomotor activity was recorded for 2 hours. However, treatment effects on locomotion were seen only during the first hour of each test. Thus, only data in the first hour is shown in the figures and analysed here. In Experiments 1 to 3, all groups showed a significant Treatment condition \times Time interaction (minutes 0 to 60; Fig. 2A; $F(33, 506) = 10.54$; Fig. 2B; $F(33, 506) = 3.90$; Fig. 2D; $F(33, 418) = 5.50$; Fig. 2E; $F(33, 418) = 1.55$; Fig. 3A; $F(51, 612) = 4.84$; Fig. 3B; $F(33, 396) = 3.24$; Fig. 3D; $F(51, 884) = 5.38$; Fig. 3E; $F(33, 572) = 4.38$; Fig. 4A; $F(33, 352) = 9.957$; Fig. 4B; $F(33, 352) = 8.829$; Fig. 4D; $F(33, 396) = 11.92$; Fig. 4E; $F(33, 396) = 8.374$; Fig. 4G; $F(33, 297) = 3.131$; Fig. 4H; $F(33, 308) = 3.364$;

all P 's < 0.05). In all groups from Experiments 1 to 3, a subcutaneous injection of amphetamine evoked greater locomotion compared to saline (main effect of Treatment condition on minutes 0 to 60; SAL i.c./SAL s.c. versus SAL i.c./AMPH s.c.; Fig. 2A; $F(1, 24) = 53.06$; Fig. 2B; $F(1, 24) = 25.11$; Fig. 2D; $F(1, 20) = 114.2$; Fig. 2E; $F(1, 20) = 58.68$; Fig. 3A; $F(1, 18) = 101.7$; Fig. 3B; $F(1, 18) = 28.67$; Fig. 3D; $F(1, 26) = 128.0$; Fig. 3E; $F(1, 26) = 67.29$; Fig. 4A; $F(1, 16) = 42.35$; Fig. 4B; $F(1, 16) = 41.17$; Fig. 4D; $F(1, 18) = 35.16$; Fig. 4E; $F(1, 18) = 27.14$; Fig. 4G; $F(1, 14) = 54.14$; Fig. 4H; $F(1, 14) = 36.33$; all P 's < 0.0001). In addition, amphetamine-induced locomotion was greater in CONT-HAL rats compared to control rats in Experiments 1 and 2 (SAL i.c./AMPH s.c. in CONT-HAL rats versus in control rats; main effect of Group on minutes 0 to 30; Fig. 2A versus 2D; $F(1, 22) = 5.84$; Fig. 2B versus 2E; $F(1, 22) = 6.46$; all P 's < 0.05 ; main effect of Group on minutes 0 to 60; Fig. 3A versus 3D; $F(1, 22) = 7.49$; Fig. 3B versus 3E; $F(1, 22) = 5.95$; all P 's < 0.05). In Experiment 3, there was a Group x Time interaction on minutes 0 to 60 (SAL i.c./AMPH s.c. in control rats, INT-HAL rats and CONT-HAL rats, Fig. 4A, 4D and 4G, $F(22, 264) = 1.73$, Fig. 4B, 4E and 4H, $F(22, 264) = 1.92$, all P 's < 0.05). Furthermore, CONT-HAL rats showed a greater locomotor activity induced by amphetamine compared to control rats (Group x Time interaction on minutes 0 to 60; Fig. 4A versus 4G; $F(11, 265) = 3.07$; Fig. 4B versus 4H; $F(11, 165) = 3.17$; all P 's < 0.001). Bonferroni post-tests revealed no effect of Group at each time point (all P 's > 0.05) but there was an effect of Time (Fig. 4A versus 4G; $F(11, 15) = 1.92$; Fig. 4B versus 4H; $F(11, 18) = 2.68$; all P 's < 0.05). Thus, CONT-HAL rats developed dopamine supersensitivity in Experiments 1 to 3. In Experiment 3, amphetamine-induced locomotion in INT-HAL rats was not statistically different from either control rats or CONT-HAL rats (all P 's > 0.05).

3.2. Experiment 1: Effects of neurotensin 1-13 microinjection into the nucleus accumbens on amphetamine-induced locomotion in rats previously given continuous antipsychotic treatment

In control rats, there was an effect of Time (Fig. 2A; $F(11, 23) = 9.04$; Fig. 2B; $F(11, 23) = 3.285$; all P 's < 0.001). Furthermore, there was a main effect of Treatment condition in the first 30 minutes (SAL i.c./AMPH s.c. versus NT 1-13 i.c./AMPH s.c.; main effect of Treatment condition; Fig. 2A; minutes 0 to 30; $F(1, 23) = 5.06$; Fig. 2B; minutes 0 to 60; $F(1,$

23) = 4.32; all P 's < 0.05). Neurotensin 1-13 also decreased saline-induced localized beam breaks (Treatment condition x Time interaction; minutes 0 to 60; Fig. 2A; $F(11, 253) = 4.037$; $p < 0.0001$) but not cage crossings ($p > 0.05$). Further analysis of this interaction revealed that there was an effect of Time (Fig. 2A; $F(11, 23) = 33.46$; $p < 0.0001$) and Bonferroni post-tests indicated an effect of Treatment condition at minute 30 ($p < 0.05$). In contrast, in CONT-HAL rats, neurotensin 1-13 had no effect on either amphetamine-induced or saline-induced locomotion (Fig. 2D and 2E; all P 's > 0.05). Thus, prior exposure to CONT-HAL abolished the ability of neurotensin 1-13 to attenuate amphetamine-induced and baseline levels of locomotion. No other comparisons were significant.

3.3. Experiment 2: Effects of neurotensin 8-13 microinjection into the nucleus accumbens on amphetamine-induced locomotion in rats previously given continuous antipsychotic treatment

Neurotensin 8-13 had no effect on amphetamine-induced locomotion, in either group (all P 's > 0.05). Neurotensin 8-13 did however slightly attenuate saline-induced localized beam breaks in CONT-HAL rats (Fig. 3D; Treatment condition x Time interaction on minutes 0 to 60; SAL i.c./SAL s.c. versus NT 8-13 i.c./SAL s.c.; $F(17, 442) = 2.07$; $p = 0.007$). Further analysis of this interaction indicated that there was an effect of Time ($F(17, 26) = 17.68$; $p < 0.0001$) but Bonferroni post-tests revealed no effect of Treatment condition for each time point (all P 's > 0.05). No other comparisons were significant.

3.4. Experiment 3: Effects of neurotensin 1-13 microinjection into the nucleus accumbens on amphetamine-induced locomotion in rats previously given continuous or intermittent antipsychotic treatment

In this cohort of rats, neurotensin 1-13 decreased saline-evoked locomotion only in the INT-HAL group (Treatment condition x Time interaction on minutes 0 to 60; SAL i.c./SAL s.c. versus NT 1-13 i.c./SAL s.c.; Fig. 4D; $F(11, 198) = 2.248$; Fig. 4E; $F(11, 198) = 2.141$; all P 's < 0.05). Furthermore, there is a significant effect of Time (Fig. 4D $F(11, 18) = 31.02$; Fig. 4E; $F(11, 20) = 47.11$; all P 's < 0.0001). Also, Bonferroni post-tests revealed a significant effect of

Treatment condition on localized beam breaks at minute 25 ($p < 0.05$). No other comparisons were significant. In both control rats and INT-HAL rats, neurotensin 1-13 decreased amphetamine-induced locomotion, as measured both by localized beam breaks and cage crossings (Treatment condition x Time interaction on minutes 0 to 60; SAL i.c./AMPH s.c. versus NT 1-13 i.c./AMPH s.c.; Fig. 4A; $F(11, 176) = 1.98$; Fig. 4B; $F(11, 176) = 1.97$; Fig. 4D; $F(11, 198) = 2.26$; Fig. 4E; $F(11, 198) = 2.81$; all P 's < 0.05). Further analysis of these interactions revealed an effect of Time (Fig 4A; $F(11, 16) = 12.68$; Fig 4B; $F(11, 18) = 11.89$; Fig. 4D; $F(11, 18) = 11.33$; Fig. 4E; $F(11, 20) = 7.61$; all P 's < 0.0001), whereas Bonferroni post-tests revealed no effect of Treatment condition at each time point (all P 's > 0.05). In CONT-HAL rats, neurotensin 1-13 had no significant effect on amphetamine-induced localized beam breaks ($p > 0.05$) but decreased amphetamine-induced cage crossings (Treatment condition x Time interaction on minutes 0 to 60; SAL i.c./AMPH s.c. versus NT 1-13 i.c./AMPH s.c.; Fig. 4H; $F(11, 198) = 2.24$; $p = 0.014$). Furthermore, there was a significant effect of Time (Fig. 4H; $F(11, 18) = 2.22$) and, as revealed by Bonferroni post-tests, there was no effect of Treatment condition at each time point (all P 's > 0.05). In addition, the effects of neurotensin 1-13 on amphetamine-induced locomotion was delayed in time in CONT-HAL rats relative to both other groups (Group x Time interaction effect, minutes 0 to 60; NT 1-13 i.c./AMPH s.c. of Fig. 4B, 4E and 4H; $F(22, 264) = 8.27$, $p < 0.0001$). There was an effect of Time (Fig. 4B, 4E and 4H; $F(11, 28) = 6.113$; $p < 0.0001$), whereas Bonferroni post-tests revealed no effect of Group at each time point (all P 's > 0.05). Specifically, in both control and INT-HAL rats, neurotensin 1-13 attenuated amphetamine-induced cage crossings only in the first 30 minutes. In contrast, in CONT-HAL rats, neurotensin 1-13 attenuated amphetamine-induced cage crossings from the 30th minute on. Thus, while neurotensin 1-13 disrupts amphetamine-induced locomotion in all experimental groups, the time course of this effect is different in CONT-HAL rats. No other comparisons were statistically significant.

3.5. Experiment 4: Effects of continuous versus intermittent antipsychotic treatment on NTS1 receptors and proneurotensin mRNA levels in the striatum

Prior to sacrifice, one half of the animals in each experimental group received a subcutaneous injection of saline and the other half received amphetamine. There was no main

effect of amphetamine on NTS1 receptor levels in any brain region analysed, in any group (data not shown; all P 's > 0.05). Thus, rats that had received saline or amphetamine were pooled in each group. There was a significant Group x Rostro-Caudal position interaction in the ventromedial and ventrolateral quadrants of the caudate-putamen (position + 1.6 to 0.0 mm relative to Bregma, Fig. 5C, $F(8, 144) = 2.79$, Fig. 5D, $F(8, 144) = 2.37$, all P 's < 0.05), but not in the remaining subregions analyzed. These regions were not further analyzed. CONT-HAL rats had similar levels of NTS1 receptors in the ventral caudate-putamen relative to control rats (Fig. 5A-D; all P 's > 0.05). INT-HAL rats had increased NTS1 receptor levels in the ventromedial and ventrolateral aspects of the caudate-putamen compared to control rats (main effect of Group between + 1.6 and 0.0 mm relative to Bregma; Fig. 5C; $F(1, 24) = 4.87$; Fig. 5D; $F(1, 24) = 4.41$; all P 's < 0.05). No other comparisons were statistically significant.

In regard of proneurotensin mRNA levels, there was no main effect of amphetamine on proneurotensin mRNA density in any brain region analysed, in any group (data not shown; all P 's > 0.05). Thus, rats that had received saline or amphetamine prior to sacrifice were pooled in each group. There was a significant main effect of Group in all subregions analyzed (position + 1.6 to 0.0 mm relative to Bregma, Fig. 6A, $F(2, 45) = 0.55$, Fig. 6B, $F(2, 45) = 0.97$, Fig. 6D, $F(2, 45) = 6.41$, position + 2.0 to + 0.8 mm relative to Bregma, Fig. 6E, $F(2, 43) = 2.46$, all P 's < 0.05), except in the ventromedial quadrant of the caudate-putamen and the nucleus accumbens shell. These regions were not further analyzed. CONT-HAL rats had increased proneurotensin mRNA levels in the caudate-putamen compared to both control rats (main effect of Group between + 1.6 and 0.0 mm relative to Bregma; Fig. 6A; $F(1, 29) = 34.54$; Fig. 6B; $F(1, 29) = 27.92$; Fig. 6C; $F(1, 29) = 6.489$; Fig. 6D; $F(1, 29) = 24.29$; all P 's < 0.05) and INT-HAL rats (Fig. 6A; $F(1, 31) = 8.52$; Fig. 6B; $F(1, 31) = 20.44$; Fig. 6D; $F(1, 31) = 19.10$; all P 's < 0.05). Proneurotensin mRNA levels in the caudate-putamen were similar in INT-HAL rats and control rats (Fig. 6A-D; all P 's > 0.05). Both CONT-HAL rats and INT-HAL rats had elevated proneurotensin mRNA levels in the nucleus accumbens core compared to control rats (main effect of Group between + 1.6 and 0.0 mm relative to Bregma; Fig. 6E; CONT-HAL vs. control; $F(1, 28) = 10.19$, $p = 0.004$; INT-HAL vs. control; $F(1, 28) = 6.359$, $p = 0.018$). No other comparisons were statistically significant.

4. DISCUSSION

The present findings first replicate prior work showing that when clinically representative doses of antipsychotic are used, continuous exposure produces dopamine supersensitivity but intermittent exposure does not (Ericson et al., 1996, Bedard et al., 2011, Samaha et al., 2008). Beyond this, the results reveal two things. First, an antipsychotic treatment regimen that induces dopamine supersensitivity alters the function of neurotensin in the nucleus accumbens. Second, regardless of whether the treatment regimen produces dopamine supersensitivity or not, clinically meaningful doses of haloperidol alter proneurotensin mRNA expression and NTS1 receptor levels in the striatum.

4.1. Continuous exposure to antipsychotic produces dopamine supersensitivity, but intermittent exposure does not

A history of continuous exposure to haloperidol potentiated the psychomotor response to amphetamine, and this effect was not seen following a history of intermittent antipsychotic dosing. The two modes of treatment led to different outcomes in spite of the fact that achieved dose, peak levels of striatal D₂ occupancy, route and duration of treatment were the same under the two conditions. This is consistent with prior work showing that continuous, but not intermittent, antipsychotic treatment induces dopamine supersensitivity and that this is associated with decreased efficacy in animal models of antipsychotic-like effects (Samaha et al., 2008, Samaha et al., 2007) and increased amphetamine-induced pursuit of a conditioned reward (Bedard et al., 2011, Bedard et al., 2013).

Why do continuously high levels of antipsychotic promote dopamine supersensitivity, while a within-day rise and fall in antipsychotic drug levels does not? One possibility is that by continuously disrupting normal dopamine signalling, continuous antipsychotic treatment evokes compensatory changes that contribute to dopamine supersensitivity. As will be discussed next, compared to intermittent antipsychotic treatment, continuous treatment more readily evokes changes in the function of neurotensin, a neuropeptide that closely modulates dopamine function.

4.2. Dopamine supersensitivity is linked to changes in neurotensin function in the nucleus accumbens

Continuous antipsychotic treatment, which induces dopamine supersensitivity, altered neurotensin function in the nucleus accumbens. In a first experiment, injecting neurotensin 1-13 into the nucleus accumbens suppressed amphetamine-induced locomotion in control rats, as reported previously (Ervin et al., 1981, Robledo et al., 1993). The same manipulation had no effect in rats previously given continuous haloperidol treatment. A subsequent experiment (Experiment 3) yielded a different pattern of results. Neurotensin 1-13 attenuated the locomotor response to amphetamine in all experimental groups. However, the effect in rats pre-exposed to continuous haloperidol was qualitatively different from that observed in either control rats or in rats pre-exposed to intermittent haloperidol. First, in rats pre-exposed to continuous haloperidol, the effect of neurotensin 1-13 was delayed (appearing 20 min post-neurotensin) and longer-lasting compared to that observed in either of the two other groups. As shown previously (Robledo et al., 1993) and by us, neurotensin –13 effect was immediate in control rats and in rats pre-exposed to intermittent antipsychotic. Second, in those rats, neurotensin suppressed both measures of amphetamine-induced locomotor activity (localized beam breaks and full-cage crossings). In rats previously given continuous haloperidol treatment, neurotensin only significantly disrupted the ability of amphetamine to increase the frequency of full-cage crossings.

We do not know why Experiment 1 and 3 yielded different effects. However, across experimental groups, the cohort used in Experiment 3 had a greater locomotor response to amphetamine than the cohort used in Experiment 1. As such it is possible that, in CONT-HAL rats, neurotensin effects on the locomotor response to amphetamine are seen more readily when certain thresholds of amphetamine-mediated stimulation are attained. Another difference is that in Experiment 1, cannulae placement were slightly more caudal than in Experiment 3. D₂ receptor levels decrease at more caudal levels of the nucleus accumbens (Mansour et al., 1990). This rostro-caudal gradient might alter NTS1-D₂ receptor interactions. Note that, as will be

discussed below, we saw no significant changes in NTS1 receptor levels across the rostro-caudal axis of the nucleus accumbens.

Regardless of why Experiment 1 and 3 yielded different patterns of results, both indicate that animals pre-exposed to continuous antipsychotic treatment respond differently to injections of neurotensin in the nucleus accumbens. In other words, antipsychotic treatment leading to dopamine supersensitivity changes neurotensin function in this brain region. The question now is, what is the nature of these changes? As mentioned earlier, in the nucleus accumbens, neurotensin can have both anti-dopaminergic (Ervin et al., 1981, Robledo et al., 1993, Kalivas et al., 1984) and pro-dopaminergic (Fawaz et al., 2009, Blumstein et al., 1987) effects. One possibility is that continuous antipsychotic treatment enhances the anti-dopaminergic properties of neurotensin. However, the behavioural findings do not support this hypothesis. Following continuous antipsychotic treatment, neurotensin had no effect on amphetamine-induced locomotion in one experiment (Fig. 2), and a delayed effect in another experiment (Fig. 4).

It is also possible that continuous antipsychotic treatment enhances the pro-dopaminergic effects of neurotensin. If this is true, then injecting neurotensin into the accumbens should enhance the psychomotor response to amphetamine. We did not observe this directly. However, in an animal model of dopamine supersensitivity outside of the context of antipsychotics (amphetamine-induced sensitization), the psychomotor response to an acute injection of amphetamine involves an initial increase in locomotor activity, followed by a period of stereotypy (Leith and Kuczenski, 1982). It has been reported previously that microinjection of neurotensin in the nucleus accumbens can promote apomorphine-induced stereotypy (Blumstein et al., 1987). We did not formally measure amphetamine-induced stereotypy here. However, several observations suggest that following continuous antipsychotic treatment, the ability of neurotensin to enhance stimulant-induced stereotypy is augmented. First, stereotypy is a pattern of repetitive behaviours that lock the animal in place, preventing larger locomotor movements. Thus, stereotypy is particularly incompatible with full-cage crossings. Experiment 3 showed that in rats pre-exposed to continuous antipsychotic, injecting neurotensin into the nucleus accumbens markedly suppresses the frequency of full-cage crossings. Second, one of the authors of the present study (A. S.) observed the animals informally following amphetamine

injection. This author noted pronounced and persistent stereotypy exclusively in rats pre-exposed to continuous haloperidol (the dose of amphetamine used here does not generally produce stereotypy in control rats (Leith and Kuczenski, 1982). Work is underway in our laboratory to confirm these observations. Should continuous antipsychotic treatment enhance the pro-dopaminergic effects of amphetamine, this would obviously promote the expression of dopamine supersensitivity.

In contrast to the effects observed with neurotensin 1-13, neurotensin 8-13 had no effect on amphetamine-induced locomotion, in either antipsychotic-treated rats or control rats. To our knowledge, there are no published studies on how injecting neurotensin 8-13 into the nucleus accumbens might influence amphetamine-induced locomotion. Neurotensin 8-13 and neurotensin 1-13 both bind to NTS1 receptors (Tanaka et al., 1990) and decrease D₂ receptor affinity (Li et al., 1995). Both effects are greater with neurotensin 8-13 than neurotensin 1-13. However, there are also pharmacological differences between the two molecules. For instance, following intra-striatal injection, neurotensin 1-13 more effectively evokes local dopamine release than neurotensin 8-13 (Ferraro et al., 1997). This suggests that out of the two molecules, neurotensin 1-13 more effectively activates presynaptic neurotensin receptors on dopamine terminals (Ferraro et al., 1997). However, neurotensin 8-13 is also degraded more rapidly than neurotensin 1-13 (Checler et al., 1986). This could explain why neurotensin 8-13 had no effect on amphetamine-induced locomotion in the present study while neurotensin 1-13 did.

Injection of neurotensin into the nucleus accumbens had variable and inconsistent effects on saline-induced locomotion. In control rats, neurotensin 1-13 attenuated this behaviour in Experiment 1 but not in Experiment 2. In CONT-HAL rats neurotensin 1-13 had no effect on saline-induced locomotion, but neurotensin 8-13 slightly decreased this response. These results are not in line with previous studies showing that microinjection of neurotensin in the nucleus accumbens has no effect on spontaneous locomotion (Kalivas et al., 1982, Ervin et al., 1981, Feifel et al., 1997a). While this effect could represent an artefact, another possibility is that activation of neurotensin receptors in the nucleus accumbens influences the neural processes that regulate baseline locomotion. But if this is true, this influence must be rather weak and vulnerable to experimental parameters, because the behavioural effect varied greatly between

different cohorts of animals, and no effect was seen in previous studies (Kalivas et al., 1982, Ervin et al., 1981, Feifel et al., 1997a). To evaluate these two possibilities, future experiments can generate dose-response functions for the effect of intra-accumbens neurotensine on baseline locomotion.

4.3. Antipsychotic treatment changes the levels of NTS1 receptors and proneurotensin mRNA in the striatum

Antipsychotic-induced dopamine supersensitivity occurred in the absence of changes in the number of NTS1 receptors in either the nucleus accumbens or caudate-putamen. Our findings concord with work showing that CONT-HAL rats have no changes in neurotensin receptor binding in the nucleus accumbens (Kinkead et al., 2000). It remains possible that while total levels have not changed, the cellular distribution of NTS1 receptors in the nucleus accumbens has. NTS1 receptors are located on dopaminergic terminals (Pickel et al., 2001), and these receptors likely mediate the ability of neurotensin to enhance local dopamine release (Fawaz et al., 2009). NTS1 receptors are also located on glutamatergic terminals and on medium spiny neurons (Boudin et al., 1996, Pickel et al., 2001). At these sites, NTS1 receptors can modulate the activity of presynaptic (Ferraro et al., 2007) or postsynaptic (Tanganelli et al., 1994, Li et al., 1995) D₂ receptors. Finally, another possibility to explore is that antipsychotic-induced dopamine supersensitivity does not change the density of NTS1 receptors but their function. In the nucleus accumbens, NTS2 are found in very low levels and NTS3 receptors are absent (Sarret et al., 2003b, Sarret et al., 2003a). Thus we did not measure their levels here.

Chronic exposure to haloperidol increased proneurotensin mRNA expression in the nucleus accumbens core, whether the antipsychotic treatment regimen induces dopamine supersensitivity or not (i.e., CONT-HAL or INT-HAL). In contrast to previous work (Merchant et al., 1994a), we did not find up-regulation of proneurotensin mRNA expression in the nucleus accumbens shell of antipsychotic-treated rats. An important difference is that while Merchant et al (Merchant et al., 1994a) measured mRNA levels during treatment, we measured it after treatment cessation. In addition, Merchant et al. (1994a) did not analyze the nucleus accumbens core, and we are not aware of published studies that have done so after chronic antipsychotic

treatment. Neurotensin produced in the nucleus accumbens projects mainly to the ventral pallidum (Zahm and Heimer, 1990, Zahm and Heimer, 1988). As such, the increase in proneurotensin mRNA levels we report would not be expected to reflect a change in neurotensin levels in the nucleus accumbens itself.

In the caudate-putamen, haloperidol increased proneurotensin mRNA expression only following CONT-HAL. This effect could be linked to tardive dyskinesia, but it is unlikely to be linked to dopamine supersensitivity. Neurotensin produced in the caudate-putamen is released in the globus pallidus (Brog and Zahm, 1996), an area where NTS1 receptors promotes vacuous chewing movement [VCM; (McCormick and Stoessl, 2003)], a symptom linked to tardive dyskinesia. Continuous antipsychotic treatment can induce VCM in a sub-population of rats over time, but not with a 2-week regimen as used here (Turrone et al., 2003). Thus, the up-regulation of proneurotensin mRNA in the caudate-putamen found in the present study could be related to the initiation of VCM. Furthermore, our INT-HAL treatment does not produce VCM (Turrone et al., 2003) and did not alter the levels of proneurotensin mRNA expression in the caudate-putamen. In regard of the binding study, CONT-HAL did not alter the levels of NTS1 receptor in the caudate-putamen and replicate what has been previously reported (Kinkead et al., 2000). Only INT-HAL increased NTS1 receptor levels in the ventral caudate-putamen. Interestingly, NTS1 receptors in the ventrolateral caudate-putamen promotes VCM (Stoessl, 1995). Because INT-HAL treatment does not induce VCM, the up-regulation of NTS1 receptor levels could be related to a low NT transmission in the caudate-putamen.

Amphetamine did not alter proneurotensin mRNA expression or NTS1 receptor levels in the nucleus accumbens in any group or striatal subregion analyzed. Amphetamine injection was made one hour prior to brain extraction and might be too short to observe any significant effect. For example, previous studies on mice report an effect of an acute treatment of amphetamine on the levels of proneurotensin mRNA in the nucleus accumbens but not the caudate-putamen after 3 hours (Betancur et al., 2001). Also, acute methamphetamine treatment increases proneurotensin mRNA expression in the caudate-putamen of rats after 3 hours but not 1 hour (Merchant et al., 1994b). In the present study, the cohort for Experiment 4 was aimed to

study neuronal changes that require one hour of waiting in a previous study. So this duration was not meant specifically for the present study and should be longer for future investigations.

We did not measure neurotensin levels. However, we would predict an increase in the nucleus accumbens. When antipsychotic treatment is initiated, neurotensin levels in the nucleus accumbens increase rapidly and this increase persists during treatment (Govoni et al., 1980, Kinkead et al., 2000, Bissette et al., 1988, See et al., 1995). Dopaminergic supersensitivity following treatment cessation is more likely when higher doses of antipsychotics are given via subcutaneous minipump (Samaha et al., 2007). In this context, it is noteworthy that Radke et al. (1998) showed that such treatment regimens increase extra-cellular levels of neurotensin in the nucleus accumbens.

4.4. Limitations of the present study

We used neurologically intact rats to assess the effects of chronic antipsychotic treatment on neurotensin function in the nucleus accumbens. This allows us to establish causal links between antipsychotic exposure and neurotensin function in an otherwise unaltered brain. However, these links must now be investigated in animal models of schizophrenia-like symptoms. We assessed neurotensin function following antipsychotic treatment cessation, without the potentially confounding influence of lingering levels of antipsychotic in the system. Antipsychotic-induced dopamine supersensitivity can also be seen during ongoing treatment and undermine antipsychotic efficacy (Samaha et al., 2008, Samaha et al., 2007). We do not know how the functions of neurotensin in the nucleus accumbens might be altered during ongoing antipsychotic treatment. However, studying neurotensin function following antipsychotic treatment cessation is clinically relevant because frequent periods of medication cessation appear to be the norm in patients with schizophrenia (Masand et al., 2009). We used two modes of antipsychotic administration where the doses differed (0.5 mg/kg/day for CONT-HAL and 0.05 mg/kg for INT-HAL). Using 0.5 mg/kg for INT-HAL would have led to D₂ receptor occupancy greater than 80 % (Wadenberg et al., 2001) and induce catalepsy (Natesan et al., 2006). Thus, we used a lower dose for INT-HAL compared to CONT-HAL to have a clinically representative rate of occupancy that is similar across both modes of administration.

Finally, accumbal neurotensin function was evaluated with microinjections targeting mainly the nucleus accumbens core. Thus, we did not investigate the function of neurotensin in the nucleus accumbens shell. This is because the psychomotor activity induced by a systemic injection of amphetamine is mainly mediated by the core but not the shell sub-division of the nucleus accumbens (Boye et al., 2001).

5. Conclusions

Our results suggest that the activity of neurotensin in the nucleus accumbens can modulate the expression of dopaminergic supersensitivity-induced by chronic antipsychotic treatment. The pattern of behavioural effects induced by intra-accumbens injection of neurotensin 1-13 leads us to speculate that antipsychotic treatment leading to dopamine supersensitivity enhances the pro-dopaminergic effects of neurotensin in this brain region. However, the present study did not directly test this hypothesis and further investigations are needed. Neurotensin altered function is not underlie by any change of NTS1 receptor levels in the nucleus accumbens. Neither an antipsychotic treatment not inducing dopamine supersensitivity alters NTS1 receptor levels in the nucleus accumbens. Also, a chronic exposure to antipsychotic increases proneurotensin mRNA expression in the nucleus accumbens core, whether there is dopamine supersensitivity or not. As such, changes in neurotensin function in the nucleus accumbens could represent a marker of dopamine supersensitivity evoked by antipsychotic. In the caudate-putamen, an antipsychotic treatment evoking dopamine supersensitivity increases proneurotensin mRNA expression. Also, an antipsychotic treatment not evoking dopamine supersensitivity increases NTS1 receptor levels in the ventral caudate-putamen. Ultimately, understanding the mechanisms underlying dopaminergic supersensitivity could allow us to improve existing antipsychotic treatments and also conceive of new ones with better long term efficacy and fewer side effects.

ACKNOWLEDGMENT

We thank David Voyer for providing proneurotensin cRNA.

FUNDING AND DISCLOSURE

This research was supported by an operating grant from the National Science and Engineering Research Council of Canada (NSERC; Grant No. 355923) (<http://www.nserc-crsng.gc.ca>) and the Canadian Institutes of Health Research (CIHR; Grant No. 102572) and an infrastructure grant from the Canada Foundation for Innovation (<http://www.innovation.ca/en>) to ANS (Grant No. 24326). ANS holds a salary award (Grant No. 28988) from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec (<http://www.frsq.gouv.qc.ca/en/index.shtml>).

The authors declare no conflict of interest.

ABBREVIATIONS

NTS1 receptor; type 1 neurotensin receptor; CONT-HAL, continuous haloperidol administration; INT-HAL, intermittent haloperidol administration.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Experimental timeline. (A) In Experiments 1 to 3, we measured the effects of injecting neurotensin 1-13 or 8-13 into the nucleus accumbens (NAc) on amphetamine (AMPH)-induced locomotion, following CONT-HAL or INT-HAL treatment. (B) In Experiment 4, striatal levels of neurotensin receptor of type 1 (NTS1) and proneurotensin mRNA were measured 9 to 10 days following cessation of CONT-HAL or INT-HAL treatment. SAL, saline; i.c., intracerebral.

Fig. 2. Following continuous haloperidol treatment, the ability of an injection of neurotensin (NT) 1-13 in the nucleus accumbens core to suppress amphetamine (AMPH)-induced locomotion is lost. The effect of NT 1-13 microinjection in the nucleus accumbens on

AMPH-induced locomotion is shown on (A) and (B) for control rats and (D) and (E) for continuous-haloperidol rats. Panels (A) and (D) show the localized beam breaks, whereas (B) and (E) show cage crossings. Panels (C) and (F) show the estimated location of intracerebral injector tips for each group. * $p < 0.05$, SAL i.c./AMPH s.c. compared to NT 1-13 i.c./AMPH s.c.; # $p < 0.05$, SAL i.c./SAL s.c. compared to NT 1-13 i.c./SAL s.c. SAL, saline; i.c., intra-cerebral; s.c., subcutaneous. N's = 11-13/Treatment condition.

Fig. 3. Neurotensin (NT) 8-13 does not alter amphetamine (AMPH)-induced locomotion, in either control rats or in haloperidol-treated rats. The effect of NT 8-13 microinjection in the nucleus accumbens on AMPH-induced locomotion is shown on (A) and (B) for control rats and (D) and (E) for continuous-haloperidol rats. Panels (A) and (D) show the localized beam breaks, whereas (B) and (E) show cage crossings. Panels (C) and (F) show the estimated location of intracerebral injector tips for each group. * $p < 0.05$, SAL i.c./SAL s.c. compared to NT 1-13 i.c./SAL s.c. SAL, saline; i.c., intra-cerebral; s.c., subcutaneous. N's = 10-14/Treatment condition.

Fig. 4. Haloperidol treatment leading to dopaminergic supersensitivity alters the function of neurotensin (NT) in the nucleus accumbens core. The effect of NT 1-13 microinjection in the nucleus accumbens on amphetamine (AMPH)-induced locomotion is shown on (A) and (B) for control rats, (D) and (E) for intermittent-haloperidol rats and (G) and (H) for continuous-haloperidol rats. Panels (A), (D) and (G) show the localized beam breaks, whereas (B), (E) and (H) show cage crossings. Panels C, F and I show the estimated location of intracerebral injector tips for each group. * $p < 0.05$, SAL i.c./AMPH s.c. compared to NT 1-13 i.c./AMPH s.c.; # $p < 0.05$, NT 1-13 i.c./SAL s.c. compared to SAL i.c./SAL s.c. SAL, saline; i.c., intra-cerebral; s.c., subcutaneous. N's = 8-10/Treatment condition.

Fig. 5. The influence of haloperidol treatment on NTS1 receptor levels in the CPu (caudate-putamen) and the Nac (nucleus accumbens). Analysis were conducted in the caudate-putamen (CPu) divided in (A) dorsomedial (DM), (B) dorsolateral (DL), (C) ventromedial (VM) and (D) ventrolateral (VL) quadrants. The nucleus accumbens (NAc) (E)

core and (F) shell were analyzed separately. * $p < 0.05$, INT-HAL (intermittent-haloperidol) compared to controls. CONT-HAL, continuous-haloperidol; N's = 12-17/Group.

Fig. 6. Haloperidol treatment leading to dopaminergic supersensitivity increases proneurotensin mRNA levels in the striatum. Analysis were conducted in the caudate-putamen (CPu) divided in (A) dorsomedial (DM), (B) dorsolateral (DL), (C) ventromedial (VM) and (D) ventrolateral (VL) quadrants. The nucleus accumbens (NAc) (E) core and (F) shell were analyzed separately. * $p < 0.05$, CONT-HAL (continuous-haloperidol) compared to controls and INT-HAL (intermittent-haloperidol). # $p < 0.05$, controls compared to INT-HAL rats and CONT-HAL rats. N's = 15-17/Group.

REFERENCES

- AGNATI, L. F., FUXE, K., BENFENATI, F. & BATTISTINI, N. 1983. Neurotensin in vitro markedly reduces the affinity in subcortical limbic 3H-N-propylnorapomorphine binding sites. *Acta Physiol Scand*, 119, 459-61.
- ASE, A. R., AMDISS, F., HEBERT, C., HUANG, N., VAN GELDER, N. M. & READER, T. A. 1999. Effects of antipsychotic drugs on dopamine and serotonin contents and metabolites, dopamine and serotonin transporters, and serotonin1A receptors. *J Neural Transm*, 106, 75-105.
- BEDARD, A. M., MAHEUX, J., LEVESQUE, D. & SAMAHA, A. N. 2011. Continuous, but not intermittent, antipsychotic drug delivery intensifies the pursuit of reward cues. *Neuropsychopharmacology*, 36, 1248-59.
- BEDARD, A. M., MAHEUX, J., LEVESQUE, D. & SAMAHA, A. N. 2013. Prior haloperidol, but not olanzapine, exposure augments the pursuit of reward cues: implications for substance abuse in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 39, 692-702.
- BETANCUR, C., LEPEE-LORGEUX, I., CAZILLIS, M., ACCILI, D., FUCHS, S. & ROSTENE, W. 2001. Neurotensin gene expression and behavioral responses following administration of psychostimulants and antipsychotic drugs in dopamine D(3) receptor deficient mice. *Neuropsychopharmacology*, 24, 170-82.

- BINDER, E. B., KINKEAD, B., OWENS, M. J. & NEMEROFF, C. B. 2001. Neurotensin and dopamine interactions. *Pharmacol Rev*, 53, 453-86.
- BISSETTE, G., DAUER, W. T., KILTS, C. D., O'CONNOR, L. & NEMEROFF, C. B. 1988. The effect of the stereoisomers of butaclamol on neurotensin content in discrete regions of the rat brain. *Neuropsychopharmacology*, 1, 329-35.
- BLUMSTEIN, L. K., CRAWLEY, J. N., DAVIS, L. G. & BALDINO, F., JR. 1987. Neuropeptide modulation of apomorphine-induced stereotyped behavior. *Brain Res*, 404, 293-300.
- BOSE, P., ROMPRE, P. P. & WARREN, R. A. 2015. Neurotensin enhances glutamatergic EPSCs in VTA neurons by acting on different neurotensin receptors. *Peptides*, 73, 43-50.
- BOUDIN, H., PELAPRAT, D., ROSTENE, W. & BEAUDET, A. 1996. Cellular distribution of neurotensin receptors in rat brain: immunohistochemical study using an antipeptide antibody against the cloned high affinity receptor. *J Comp Neurol*, 373, 76-89.
- BOYE, S. M., GRANT, R. J. & CLARKE, P. B. 2001. Disruption of dopaminergic neurotransmission in nucleus accumbens core inhibits the locomotor stimulant effects of nicotine and D-amphetamine in rats. *Neuropharmacology*, 40, 792-805.
- BROG, J. S. & ZAHM, D. S. 1996. Morphologically distinct subpopulations of neurotensin-immunoreactive striatal neurons observed in rat following dopamine depletions and D2 receptor blockade project to the globus pallidus. *Neuroscience*, 74, 805-12.
- CARVALHO, R. C., FUKUSHIRO, D. F., HELFER, D. C., CALLEGARO-FILHO, D., TROMBIN, T. F., ZANLORENCI, L. H., SANDAY, L., SILVA, R. H. & FRUSSA-FILHO, R. 2009. Long-term haloperidol treatment (but not risperidone) enhances addiction-related behaviors in mice: role of dopamine D2 receptors. *Addict Biol*, 14, 283-93.
- CHECLER, F., MAZELLA, J., KITABGI, P. & VINCENT, J. P. 1986. High-affinity receptor sites and rapid proteolytic inactivation of neurotensin in primary cultured neurons. *J Neurochem*, 47, 1742-8.
- CHOUNARD, G., JONES, B. D. & ANNABLE, L. 1978. Neuroleptic-induced supersensitivity psychosis. *Am J Psychiatry*, 135, 1409-10.

- EL HAGE, C., BEDARD, A. M. & SAMAHA, A. N. 2015. Antipsychotic treatment leading to dopamine supersensitivity persistently alters nucleus accumbens function. *Neuropharmacology*.
- ERICSON, H., RADESATER, A. C., SERVIN, E., MAGNUSSON, O. & MOHRINGE, B. 1996. Effects of intermittent and continuous subchronic administration of raclopride on motor activity, dopamine turnover and receptor occupancy in the rat. *Pharmacol Toxicol*, 79, 277-86.
- ERVIN, G. N., BIRKEMO, L. S., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1981. Neurotensin blocks certain amphetamine-induced behaviours. *Nature*, 291, 73-6.
- FALLON, P., DURSUM, S. & DEAKIN, B. 2012. Drug-induced supersensitivity psychosis revisited: characteristics of relapse in treatment-compliant patients. *Ther Adv Psychopharmacol*, 2, 13-22.
- FARDE, L., NORDSTROM, A. L., WIESEL, F. A., PAULI, S., HALLDIN, C. & SEDVALL, G. 1992. Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psychiatry*, 49, 538-44.
- FARDE, L., WIESEL, F. A., NORDSTROM, A. L. & SEDVALL, G. 1989. D1- and D2-dopamine receptor occupancy during treatment with conventional and atypical neuroleptics. *Psychopharmacology (Berl)*, 99 Suppl, S28-31.
- FAWAZ, C. S., MARTEL, P., LEO, D. & TRUDEAU, L. E. 2009. Presynaptic action of neurotensin on dopamine release through inhibition of D(2) receptor function. *BMC Neurosci*, 10, 96.
- FEIFEL, D., MINOR, K. L., DULAWA, S. & SWERDLOW, N. R. 1997a. The effects of intra-accumbens neurotensin on sensorimotor gating. *Brain Res*, 760, 80-4.
- FEIFEL, D., REZA, T. L. & ROBECK, S. L. 1997b. Pro-dopamine effects of neurotensin on sensorimotor gating deficits. *Peptides*, 18, 1457-60.
- FERRARO, L., O'CONNOR, W. T., ANTONELLI, T., FUXE, K. & TANGANELLI, S. 1997. Differential effects of intrastriatal neurotensin(1-13) and neurotensin(8-13) on striatal dopamine and pallidal GABA release. A dual-probe microdialysis study in the awake rat. *Eur J Neurosci*, 9, 1838-46.

- FERRARO, L., TOMASINI, M. C., FUXE, K., AGNATI, L. F., MAZZA, R., TANGANELLI, S. & ANTONELLI, T. 2007. Mesolimbic dopamine and cortico-accumbens glutamate afferents as major targets for the regulation of the ventral striato-pallidal GABA pathways by neurotensin peptides. *Brain Res Rev*, 55, 144-54.
- FUKUSHIRO, D. F., CARVALHO RDE, C., RICARDO, V. P., ALVAREZ JDO, N., RIBEIRO, L. T. & FRUSSA-FILHO, R. 2008. Haloperidol (but not ziprasidone) withdrawal potentiates sensitization to the hyperlocomotor effect of cocaine in mice. *Brain Res Bull*, 77, 124-8.
- GOVONI, S., HONG, J. S., YANG, H. Y. & COSTA, E. 1980. Increase of neurotensin content elicited by neuroleptics in nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther*, 215, 413-7.
- HUANG, N., ASE, A. R., HEBERT, C., VAN GELDER, N. M. & READER, T. A. 1997. Effects of chronic neuroleptic treatments on dopamine D1 and D2 receptors: homogenate binding and autoradiographic studies. *Neurochem Int*, 30, 277-90.
- ICHIKAWA, J. & MELTZER, H. Y. 1992. The effect of chronic atypical antipsychotic drugs and haloperidol on amphetamine-induced dopamine release in vivo. *Brain Res*, 574, 98-104.
- KALIVAS, P. W., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1982. Neuroanatomical site specific modulation of spontaneous motor activity by neurotensin. *Eur J Pharmacol*, 78, 471-4.
- KALIVAS, P. W., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1984. Neurotensin microinjection into the nucleus accumbens antagonizes dopamine-induced increase in locomotion and rearing. *Neuroscience*, 11, 919-30.
- KAPUR, S., VANDERSPEK, S. C., BROWNLEE, B. A. & NOBREGA, J. N. 2003. Antipsychotic dosing in preclinical models is often unrepresentative of the clinical condition: a suggested solution based on in vivo occupancy. *J Pharmacol Exp Ther*, 305, 625-31.
- KAPUR, S., ZIPURSKY, R., JONES, C., REMINGTON, G. & HOULE, S. 2000. Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 157, 514-20.

- KINKEAD, B., SHAHID, S., OWENS, M. J. & NEMEROFF, C. B. 2000. Effects of acute and subchronic administration of typical and atypical antipsychotic drugs on the neurotensin system of the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther*, 295, 67-73.
- LEITH, N. J. & KUCZENSKI, R. 1982. Two dissociable components of behavioral sensitization following repeated amphetamine administration. *Psychopharmacology (Berl)*, 76, 310-5.
- LI, M., FLETCHER, P. J. & KAPUR, S. 2007. Time course of the antipsychotic effect and the underlying behavioral mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 32, 263-72.
- LI, X. M., FERRARO, L., TANGANELLI, S., O'CONNOR, W. T., HASSELROT, U., UNGERSTEDT, U. & FUXE, K. 1995. Neurotensin peptides antagonistically regulate postsynaptic dopamine D2 receptors in rat nucleus accumbens: a receptor binding and microdialysis study. *J Neural Transm Gen Sect*, 102, 125-37.
- MACKENZIE, R. G. & ZIGMOND, M. J. 1985. Chronic neuroleptic treatment increases D-2 but not D-1 receptors in rat striatum. *Eur J Pharmacol*, 113, 159-65.
- MANSOUR, A., MEADOR-WOODRUFF, J. H., BUNZOW, J. R., CIVELLI, O., AKIL, H. & WATSON, S. J. 1990. Localization of dopamine D2 receptor mRNA and D1 and D2 receptor binding in the rat brain and pituitary: an in situ hybridization-receptor autoradiographic analysis. *J Neurosci*, 10, 2587-600.
- MARIN, C. & CHASE, T. N. 1993. Dopamine D1 receptor stimulation but not dopamine D2 receptor stimulation attenuates haloperidol-induced behavioral supersensitivity and receptor up-regulation. *Eur J Pharmacol*, 231, 191-6.
- MASAND, P. S., ROCA, M., TURNER, M. S. & KANE, J. M. 2009. Partial adherence to antipsychotic medication impacts the course of illness in patients with schizophrenia: a review. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 11, 147-54.
- MCCORMICK, S. E. & STOESSL, A. J. 2003. Central administration of the neurotensin receptor antagonist SR48692 attenuates vacuous chewing movements in a rodent model of tardive dyskinesia. *Neuroscience*, 119, 547-55.
- MERCHANT, K. M., DOBIE, D. J., FILLOUX, F. M., TOTZKE, M., ARAVAGIRI, M. & DORSA, D. M. 1994a. Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurotensin and c-fos mRNA in rat neostriatal subregions. *J Pharmacol Exp Ther*, 271, 460-71.

- MERCHANT, K. M., DOBNER, P. R. & DORSA, D. M. 1992. Differential effects of haloperidol and clozapine on neurotensin gene transcription in rat neostriatum. *J Neurosci*, 12, 652-63.
- MERCHANT, K. M., HANSON, G. R. & DORSA, D. M. 1994b. Induction of neurotensin and c-fos mRNA in distinct subregions of rat neostriatum after acute methamphetamine: comparison with acute haloperidol effects. *J Pharmacol Exp Ther*, 269, 806-12.
- MULLER, P. & SEEMAN, P. 1977. Brain neurotransmitter receptors after long-term haloperidol: dopamine, acetylcholine, serotonin, alpha-noradrenergic and naloxone receptors. *Life Sci*, 21, 1751-8.
- NATESAN, S., RECKLESS, G. E., NOBREGA, J. N., FLETCHER, P. J. & KAPUR, S. 2006. Dissociation between in vivo occupancy and functional antagonism of dopamine D2 receptors: comparing aripiprazole to other antipsychotics in animal models. *Neuropsychopharmacology*, 31, 1854-63.
- PAXINOS, G. & WATSON, C. 1986. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Sydney ; Orlando, Academic Press.
- PICKEL, V. M., CHAN, J., DELLE DONNE, K. T., BOUDIN, H., PELAPRAT, D. & ROSTENE, W. 2001. High-affinity neurotensin receptors in the rat nucleus accumbens: subcellular targeting and relation to endogenous ligand. *J Comp Neurol*, 435, 142-55.
- RADJA, F., BAUCO, P. & ROMPRE, P. P. 2006. Effects of excitotoxic lesions of the medial prefrontal cortex on density of high affinity [125I-Tyr3]neurotensin binding sites within the ventral midbrain and striatum. *Eur J Pharmacol*, 539, 158-63.
- RADKE, J. M., OWENS, M. J., RITCHIE, J. C. & NEMEROFF, C. B. 1998. Atypical antipsychotic drugs selectively increase neurotensin efflux in dopamine terminal regions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 11462-4.
- ROBLEDO, P., MALDONADO, R. & KOOB, G. F. 1993. Neurotensin injected into the nucleus accumbens blocks the psychostimulant effects of cocaine but does not attenuate cocaine self-administration in the rat. *Brain Res*, 622, 105-12.
- SAMAHA, A. N., RECKLESS, G. E., SEEMAN, P., DIWAN, M., NOBREGA, J. N. & KAPUR, S. 2008. Less is more: antipsychotic drug effects are greater with transient rather than continuous delivery. *Biol Psychiatry*, 64, 145-52.

- SAMAHA, A. N., SEEMAN, P., STEWART, J., RAJABI, H. & KAPUR, S. 2007. "Breakthrough" dopamine supersensitivity during ongoing antipsychotic treatment leads to treatment failure over time. *J Neurosci*, 27, 2979-86.
- SARRET, P., KRZYWKOWSKI, P., SEGAL, L., NIELSEN, M. S., PETERSEN, C. M., MAZELLA, J., STROH, T. & BEAUDET, A. 2003a. Distribution of NTS3 receptor/sortilin mRNA and protein in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 461, 483-505.
- SARRET, P., PERRON, A., STROH, T. & BEAUDET, A. 2003b. Immunohistochemical distribution of NTS2 neurotensin receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 461, 520-38.
- SEE, R. E., LYNCH, A. M., ARAVAGIRI, M., NEMEROFF, C. B. & OWENS, M. J. 1995. Chronic haloperidol-induced changes in regional dopamine release and metabolism and neurotensin content in rats. *Brain Res*, 704, 202-9.
- SMITH, R. C. & DAVIS, J. M. 1975. Behavioral supersensitivity to apomorphine and amphetamine after chronic high dose haloperidol treatment. *Psychopharmacol Commun*, 1, 285-93.
- STEINBERG, R., BRUN, P., FOURNIER, M., SOUILHAC, J., RODIER, D., MONS, G., TERRANOVA, J. P., LE FUR, G. & SOUBRIE, P. 1994. SR 48692, a non-peptide neurotensin receptor antagonist differentially affects neurotensin-induced behaviour and changes in dopaminergic transmission. *Neuroscience*, 59, 921-9.
- STOESSL, A. J. 1995. Effects of neurotensin in a rodent model of tardive dyskinesia. *Neuropharmacology*, 34, 457-62.
- SUZUKI, T., KANAHARA, N., YAMANAKA, H., TAKASE, M., KIMURA, H., WATANABE, H. & IYO, M. 2015. Dopamine supersensitivity psychosis as a pivotal factor in treatment-resistant schizophrenia. *Psychiatry Res*, Epub.
- TANAKA, K., MASU, M. & NAKANISHI, S. 1990. Structure and functional expression of the cloned rat neurotensin receptor. *Neuron*, 4, 847-54.
- TANGANELLI, S., O'CONNOR, W. T., FERRARO, L., BIANCHI, C., BEANI, L., UNGERSTEDT, U. & FUXE, K. 1994. Facilitation of GABA release by neurotensin is associated with a reduction of dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience*, 60, 649-57.

- TURRONE, P., REMINGTON, G., KAPUR, S. & NOBREGA, J. N. 2003. Differential effects of within-day continuous vs. transient dopamine D2 receptor occupancy in the development of vacuous chewing movements (VCMs) in rats. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1433-9.
- VON EULER, G., MAILLEUX, P., VANDERHAEGHEN, J. J. & FUXE, K. 1990. Neurotensin reduces the affinity of dopamine D2 receptors in membranes from post mortem human caudate-putamen. *Neurosci Lett*, 109, 325-30.
- VONVOIGTLANDER, P. F., LOSEY, E. G. & TRIEZENBERG, H. J. 1975. Increased sensitivity to dopaminergic agents after chronic neuroleptic treatment. *J Pharmacol Exp Ther*, 193, 88-94.
- WADENBERG, M. L., KAPUR, S., SOLIMAN, A., JONES, C. & VACCARINO, F. 2000. Dopamine D2 receptor occupancy predicts catalepsy and the suppression of conditioned avoidance response behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 150, 422-9.
- WADENBERG, M. L., SOLIMAN, A., VANDERSPEK, S. C. & KAPUR, S. 2001. Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. *Neuropsychopharmacology*, 25, 633-41.
- ZAHM, D. S. & HEIMER, L. 1988. Ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat: I. Neurochemical compartmentation as reflected by the distributions of neurotensin and substance P immunoreactivity. *J Comp Neurol*, 272, 516-35.
- ZAHM, D. S. & HEIMER, L. 1990. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol*, 302, 437-46.

Fig. 1

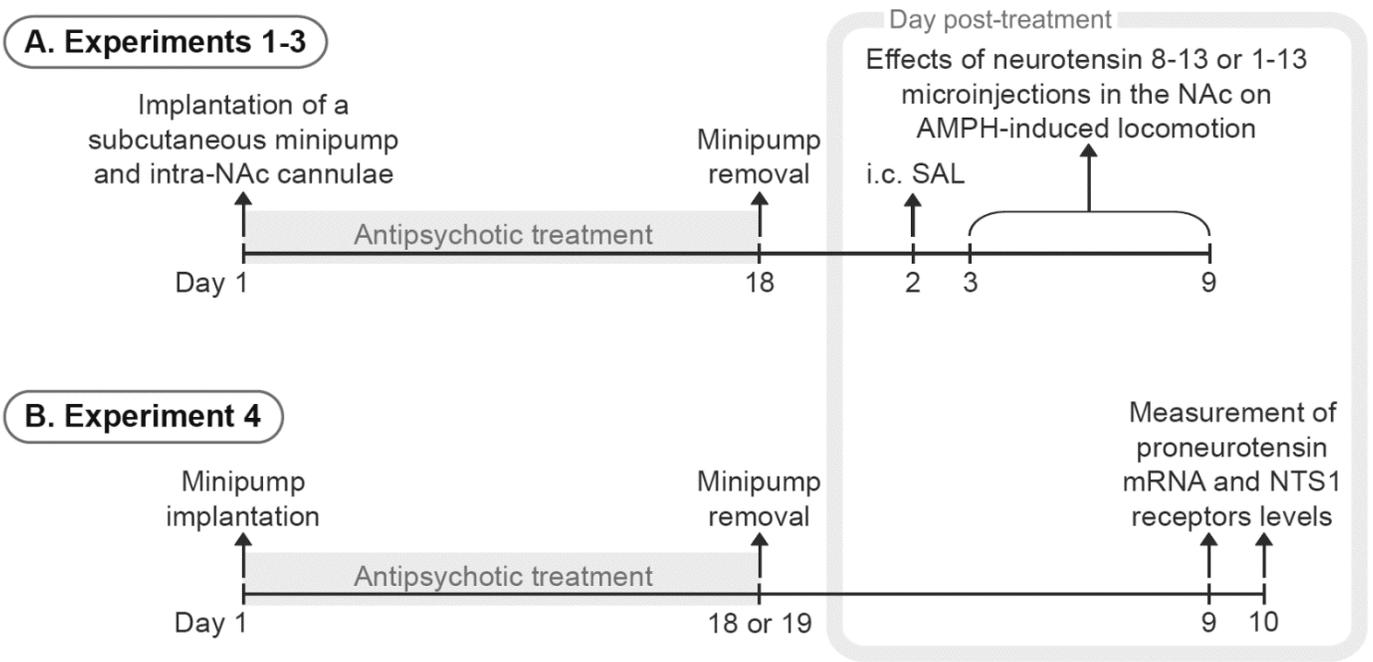


Fig. 2

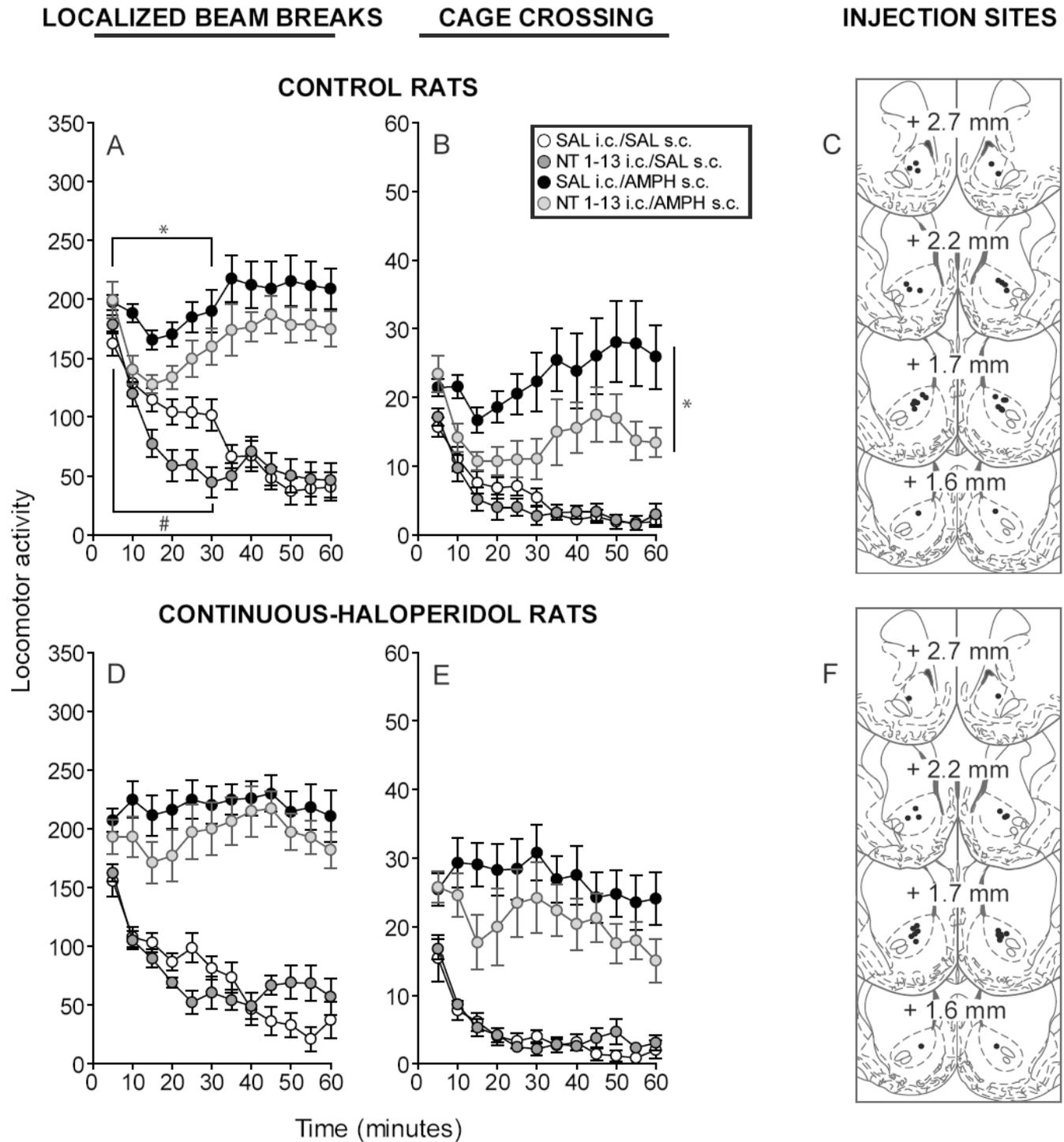


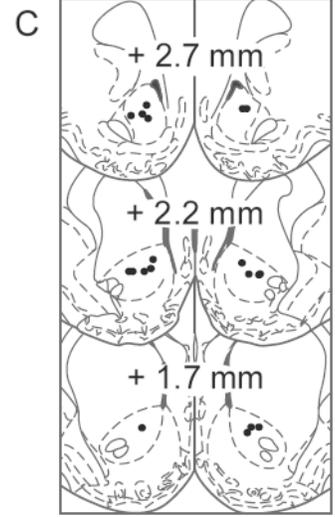
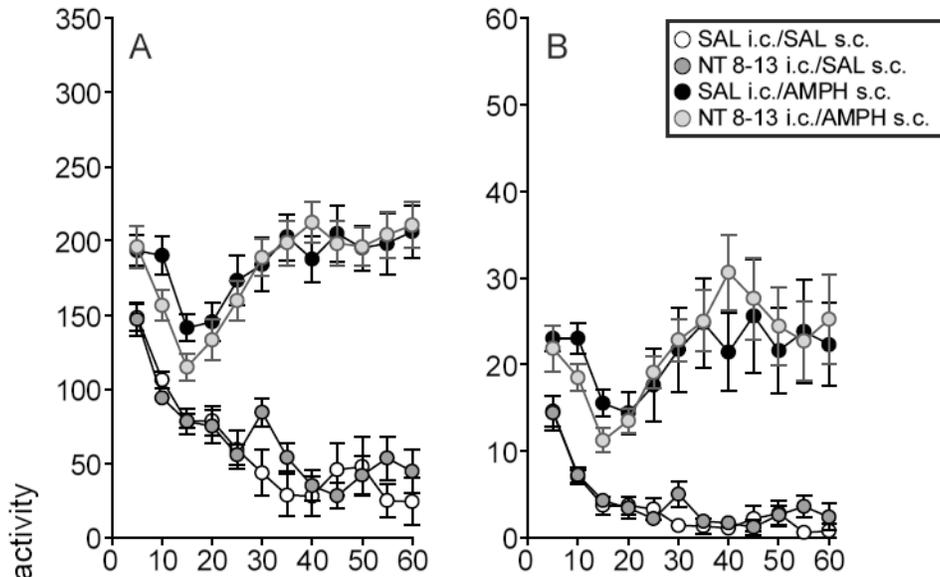
Fig. 3

LOCALIZED BEAM BREAKS

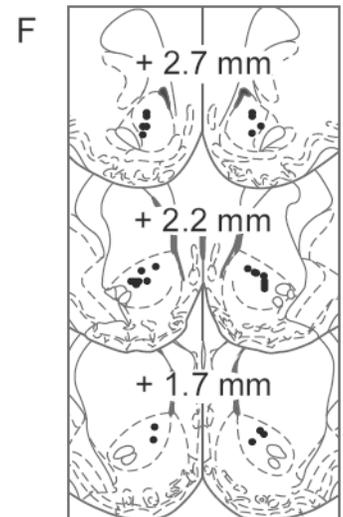
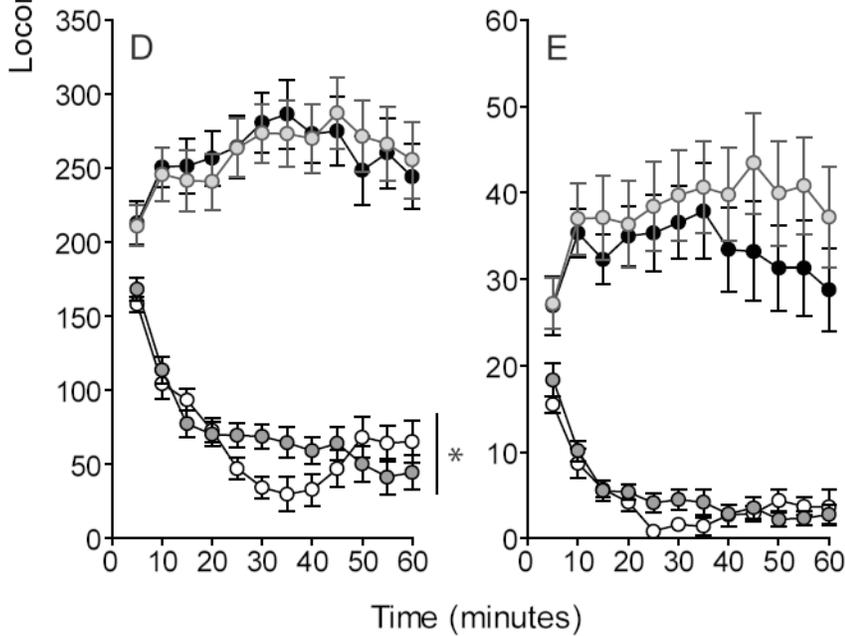
CAGE CROSSING

INJECTION SITES

CONTROL RATS



CONTINUOUS-HALOPERIDOL RATS



LOCALIZED BEAM BREAKS

CAGE CROSSING

INJECTION SITES

Fig. 4

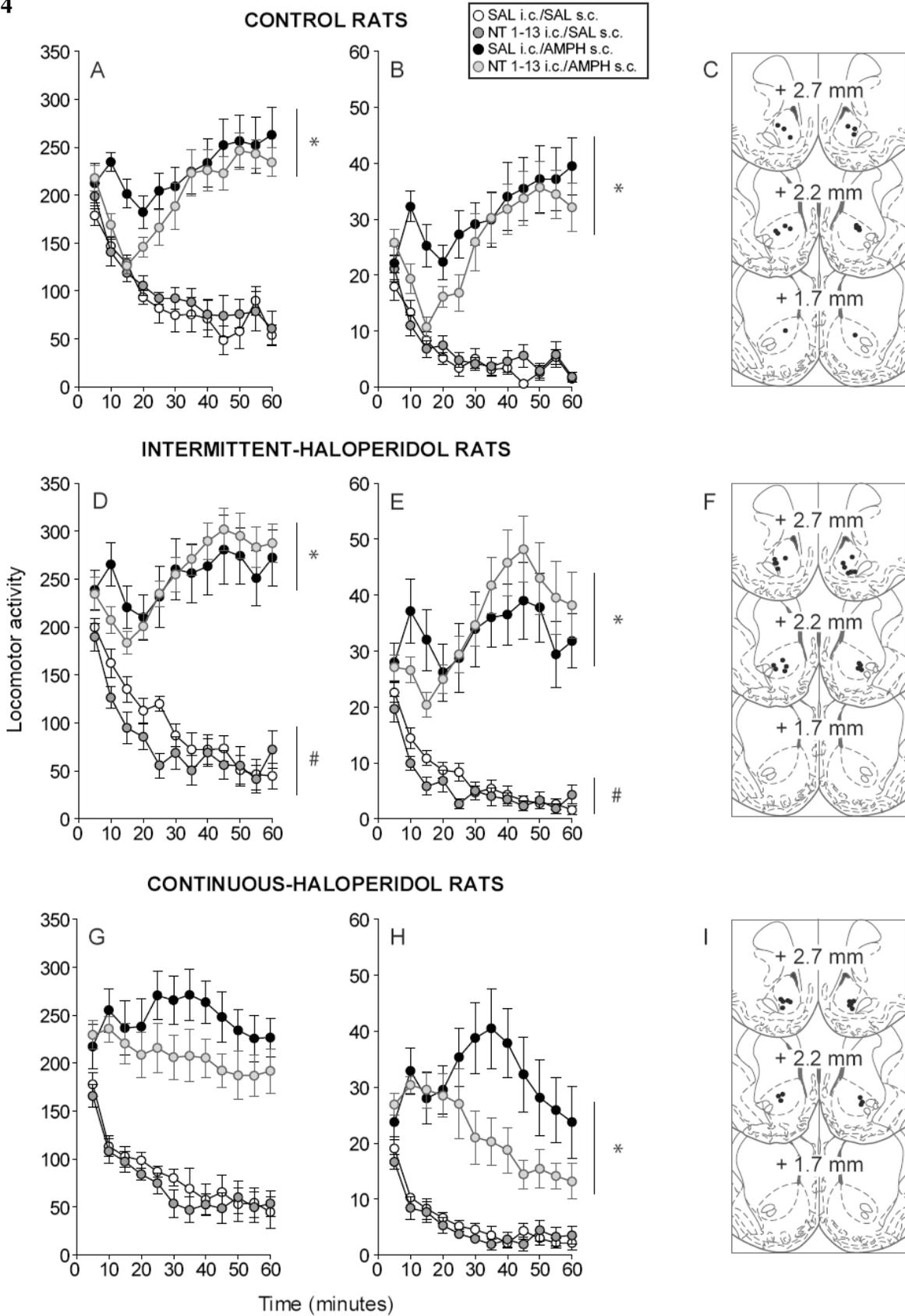


Fig. 5

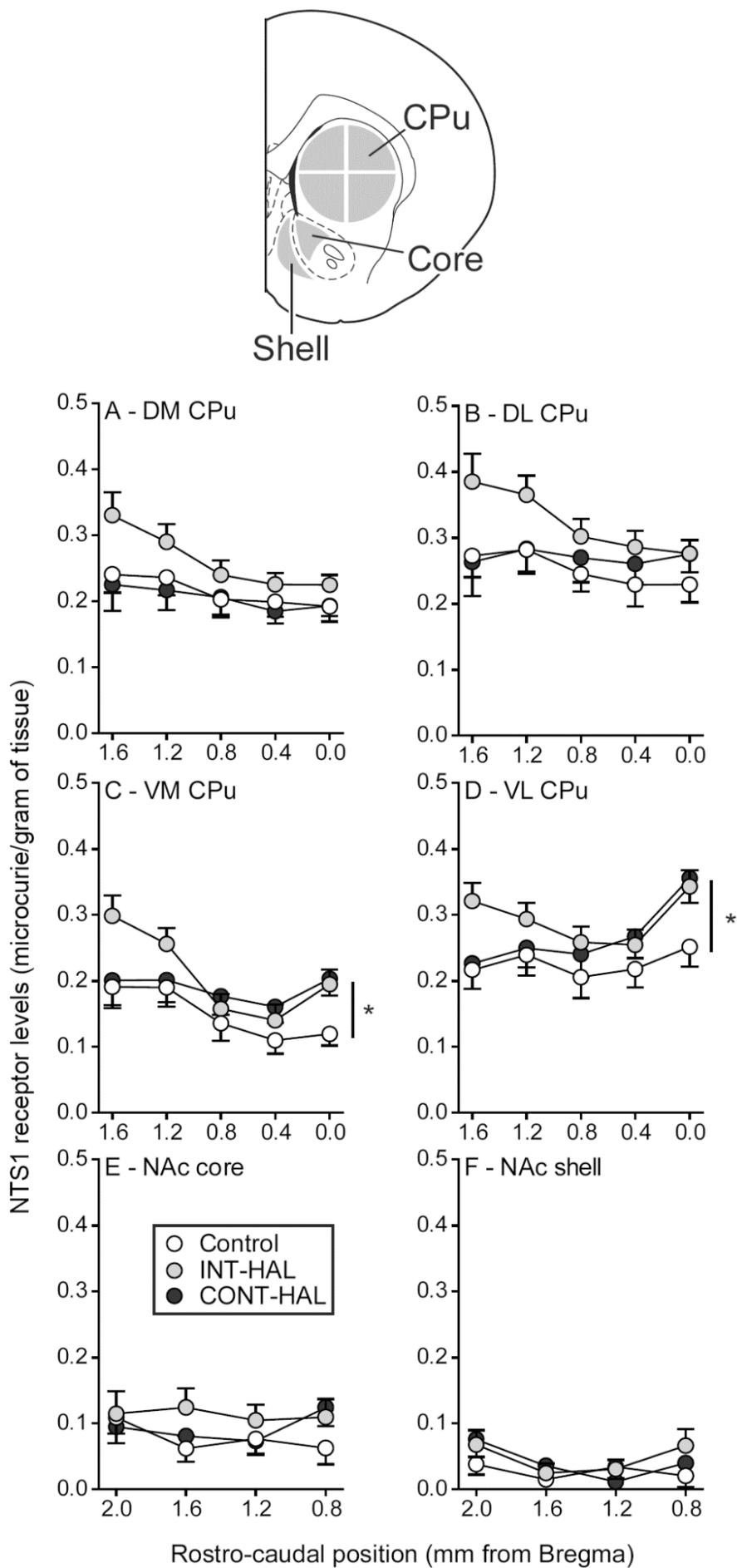
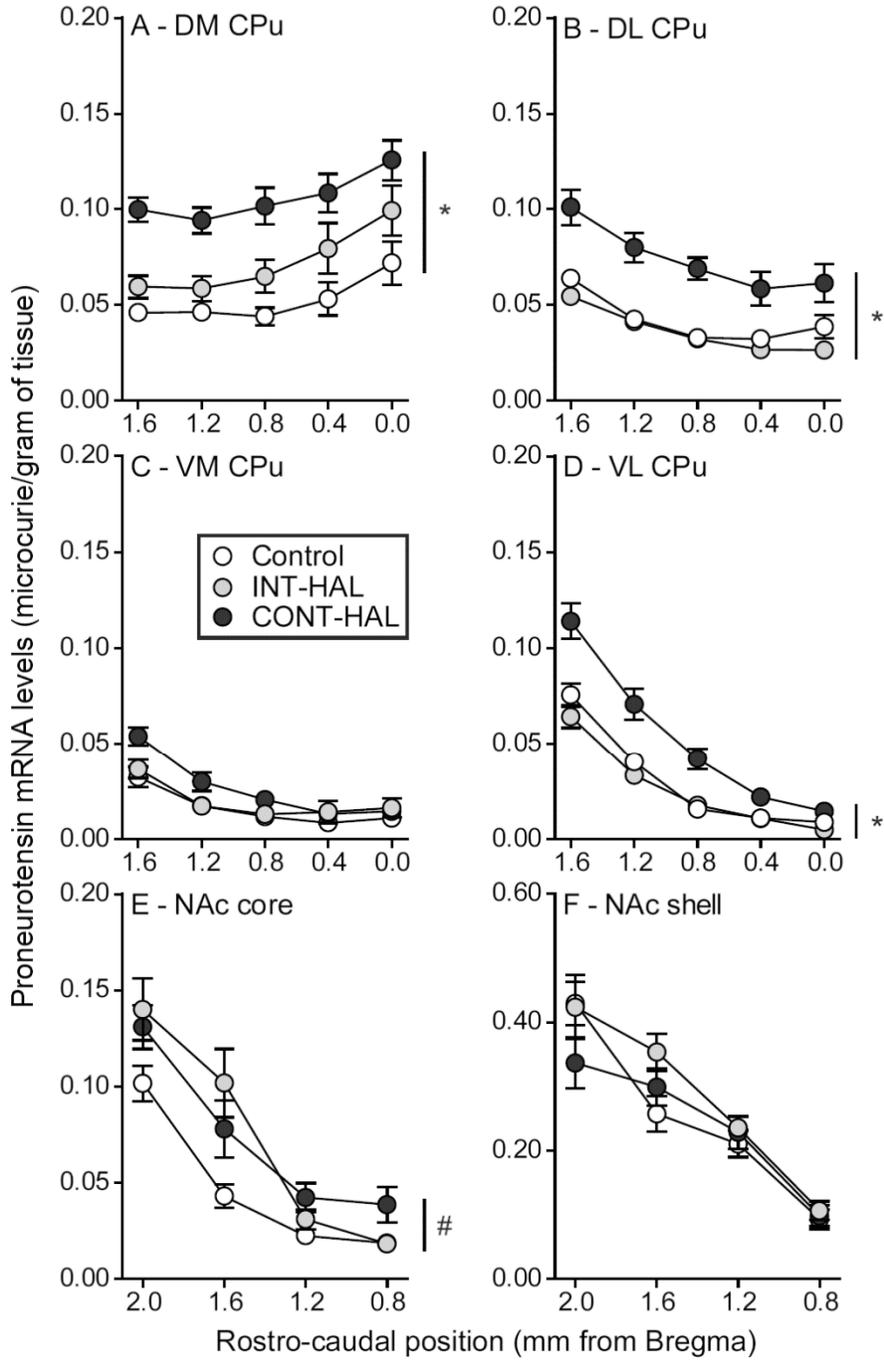
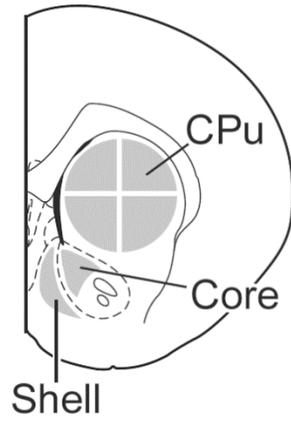


Fig. 6



Discussion

6. RÉSUMÉ DES RÉSULTATS

Dans l'étude présente, nous avons pour hypothèse que la neurotensine dans le noyau accumbens peut moduler l'expression de la sensibilisation dopaminergique induite par les antipsychotiques. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons employé deux modèles de traitement antipsychotique, où l'un sensibilise le système dopaminergique (i.e. administration continue) et l'autre non (i.e. administration intermittente). Ceci permet de dissocier les effets dus à une simple exposition chronique aux antipsychotiques à ceux dus à la sensibilisation dopaminergique. Les animaux traités continuellement, mais pas par intermittence, aux antipsychotiques ont développé de la sensibilisation dopaminergique. De plus, des microinjections de neurotensine dans le noyau accumbens ont diminué la locomotion induite par l'amphétamine chez les animaux témoins. Cet effet anti-dopaminergique de la neurotensine ne semble pas être altéré par une exposition intermittente aux antipsychotiques. Cependant, la sensibilisation dopaminergique évoquée par un traitement continu aux antipsychotiques semble être liée à une amplification des effets pro-dopaminergiques de la neurotensine. Cette altération ne dépend pas d'une altération de la densité des récepteurs NTS1 dans le noyau accumbens. Un traitement antipsychotique ne sensibilisant pas le système dopaminergique n'altère également pas la densité des récepteurs NTS1 dans le noyau accumbens. En parallèle, un traitement chronique aux antipsychotiques, qu'il sensibilise ou non le système dopaminergique, augmente l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le *core* du noyau accumbens, mais pas le *shell*. Ainsi, ni la densité des récepteurs NTS1 ni l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le noyau accumbens ne sont liées à la sensibilisation dopaminergique. Ensuite, les analyses ont été étendues jusqu'au caudé-putamen. Un traitement antipsychotique administré en continu augmente spécifiquement l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le caudé-putamen. Puis, un traitement ne sensibilisant pas le système dopaminergique augmente spécifiquement la densité des récepteurs NTS1 dans le caudé-putamen ventral. En somme, la neurotensine du noyau accumbens module l'expression de la sensibilisation dopaminergique évoquée par les antipsychotiques.

7. TRAITEMENTS ANTIPSYCHOTIQUES DE L'ÉTUDE PRÉSENTE

7.1. DESCRIPTION DES TRAITEMENTS

En clinique, les antipsychotiques typiques, tel que l'halopéridol qui a été utilisé dans l'étude présente, et certains antipsychotiques atypiques induisent des effets thérapeutiques lorsqu'ils occupent de 65 à 80% des récepteurs de type D₂ dans le striatum, sans qu'ils haussent les risques d'induire des effets extrapyramidaux (Farde et al., 1992, Kapur et al., 2000). Ici, deux modes de traitement antipsychotique furent employés (voir prochains paragraphes). Afin de pouvoir généraliser à l'humain, les doses employées dans les deux modes de traitement atteignent des taux d'occupation de 65 à 80% chez le rat. Par ailleurs, une dose d'antipsychotique induisant ces taux d'occupation chez le rat permet de diminuer la réponse lors du test d'évitement conditionné chez le rat [i.e. *conditioned avoidance response* (Wadenberg et al., 2000)], un test qui prédit l'effet thérapeutique d'un traitement antipsychotique en préclinique. Également, ces mêmes doses n'induisent pas de catalepsie chez le rat (Wadenberg et al., 2000), un symptôme associé aux effets extrapyramidaux.

En clinique, les antipsychotiques occupent une forte proportion des récepteurs de type D₂ du striatum sur quelques jours (Tauscher and Kapur, 2001), puisque le métabolisme de l'antipsychotique est lent. Par exemple, l'halopéridol a une demi-vie de 14 à 37 heures chez l'humain (Kudo and Ishizaki, 1999). Toutefois, chez le rongeur, une prise quotidienne d'antipsychotique, par exemple via des injections sous-cutanées quotidiennes, ne permet pas de maintenir des taux d'occupation constants à travers le temps, dû au métabolisme très rapide de l'antipsychotique. Par exemple, l'halopéridol a une demi-vie d'environ 90 minutes chez le rat (Cheng and Paalzow, 1992). Afin d'avoir un traitement antipsychotique chez le rat qui reproduit fidèlement le taux d'occupation constamment élevé en clinique, un des groupes expérimentaux de l'étude présente a reçu l'halopéridol par mini-pompe osmotique implantée en sous-cutanée. Avec une dose appropriée d'antipsychotique, la mini-pompe permet d'obtenir une occupation constante de 65 à 80 % des récepteurs de type D₂ du striatum sur plusieurs jours [Kapur et al. (2003), Samaha et al. (2007); voir **Figure 5A** à la page 86]. Ce mode de traitement sensibilise le système dopaminergique (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011, Bedard et al., 2013, El Hage et al., 2015, Ericson et al., 1996).

Un enjeu important de l'étude présente est de déterminer les effets spécifiques de la sensibilisation dopaminergique induite par un traitement aux antipsychotiques. Il est donc capital de délimiter les effets qui sont dus à une simple exposition chronique aux antipsychotiques, de ceux qui sont spécifiquement dus à la sensibilisation dopaminergique. Donc, pour répondre adéquatement à cette question, un groupe additionnel d'animaux a reçu l'halopéridol par injections sous-cutanées quotidiennes. Comme il fut mentionné plus tôt, ce mode de traitement ne permet pas de maintenir des taux d'occupation continuellement adéquats, dû au métabolisme rapide de l'antipsychotique chez le rongeur. Ainsi, 24 heures après la dernière injection, l'halopéridol n'occupe plus qu'environ 19 % des récepteurs de type D₂ (Kapur et al., 2003). Donc, administré une fois par jour, l'halopéridol atteint un taux se situant entre 65 à 80% par intermittence (voir **Figure 5B** à la page 86). Ce traitement n'induit pas de sensibilisation dopaminergique (Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011, Ericson et al., 1996). Il est important de noter que les deux modèles de traitement antipsychotique utilisés dans l'étude

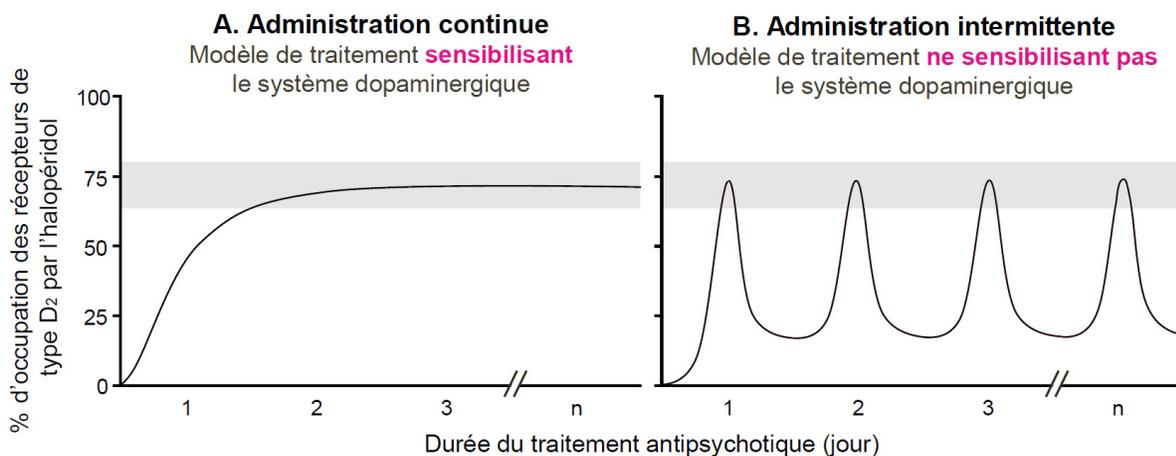


Figure 5. Représentation schématique de l'occupation des récepteurs de type D₂ par les deux modes de traitement antipsychotique utilisés dans l'étude présente. 65 à 80 % d'occupation des récepteurs de type D₂ (encadré plein gris) du striatum est nécessaire pour que l'halopéridol ait des effets thérapeutiques, sans que les risques d'effets extrapyramidaux ne soient accrus. (A) L'administration d'halopéridol via une mini-pompe osmotique implantée en sous-cutanée permet d'atteindre ces niveaux de façon continue chez le rat. Ce mode d'administration modélise plus fidèlement l'occupation des récepteurs de type D₂ par les antipsychotiques chez l'humain. L'administration continue sensibilise le système dopaminergique. (B) Chez le rat, l'administration d'halopéridol via des injections sous-cutanée quotidiennes permet d'atteindre ces taux d'occupation seulement de façon intermittente. L'administration intermittente ne sensibilise pas le système dopaminergique. Schéma basé sur Kapur et al. (2003).

présente génèrent des taux d'occupation des récepteurs de type D₂ équivalents, sont administrés par la même voie (sous-cutanée) et ont la même durée.

7.2. SENSIBILISATION DOPAMINERGIQUE : RÉSULTATS

Tel qu'attesté avec la réponse locomotrice à l'amphétamine, le traitement continu mais non intermittent aux antipsychotiques a sensibilisé le système dopaminergique, comme il fut déjà démontré (Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011, Ericson et al., 1996). Les deux modèles de traitement favorisent une adaptation du système dopaminergique. Pour le traitement continu, l'adaptation est une sensibilisation minant les effets du traitement (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008), alors qu'au contraire, le traitement intermittent induit des adaptations favorisant les effets thérapeutiques (Samaha et al., 2008). Les différences considérables de l'adaptation du système dopaminergique induites par les modes intermittent ou continu corrélerent avec des changements de la fonction de la neurotensine. En effet, dans l'étude présente, un traitement continu mais non intermittent à l'halopéridol altère la fonction de la neurotensine dans le noyau accumbens. La sensibilisation dopaminergique serait donc associée à des changements dans la modulation du système dopaminergique.

8. LA FONCTION DE LA NEUROTENSINE DANS LE NOYAU ACCUMBENS

8.1. RAPPEL DE SA FONCTION

La neurotensine a des effets anti- et pro-dopaminergiques qui s'opposent dans le noyau accumbens et qui dépendent principalement de l'inhibition des récepteurs de type D₂ par les récepteurs NTS1 (décrit dans la **Figure 4** à la page 20 et Chapitre 3.2.1 à la page 18). Brièvement, la fonction anti-dopaminergique de la neurotensine dépend de sa capacité à promouvoir l'activité des neurones épineux moyens, en prévenant leur inhibition par les récepteurs de type D₂. Également, la neurotensine pourrait augmenter la transmission glutamatergique en inhibant les récepteurs de type D₂ localisés sur les terminaisons glutamatergiques. Grâce au glutamate, la neurotensine pourrait alors indirectement activer les neurones épineux moyens, ce qui potentialiserait les effets anti-dopaminergiques du neuropeptide. En ce qui attrait à ces effets pro-dopaminergiques, la neurotensine favorise la libération de dopamine en inhibant les autorécepteurs D₂ localisés sur les terminaisons dopaminergiques.

8.2. LES RÉSULTATS DE L'ÉTUDE PRÉSENTE

L'effet de microinjections de neurotensine dans le noyau accumbens sur la locomotion induite par l'amphétamine a permis d'évaluer la fonction du neuropeptide. Ces microinjections de neurotensine ont été effectuées spécifiquement dans la sous-région du *core* du noyau accumbens, où la régulation des effets psychomoteurs de l'amphétamine est particulièrement importante, contrairement au *shell* (Boye et al., 2000). Il est important de noter que les résultats décrits dans ce chapitre ont été obtenus avec la neurotensine 1-13, puisque la neurotensine 8-13 a été inefficace pour produire des effets comportementaux.

8.2.1. La fonction de la neurotensine dans le noyau accumbens chez des animaux non-sensibilisés

La neurotensine injectée dans le noyau accumbens diminue la locomotion induite par l'amphétamine (Ervin et al., 1981, Feifel et al., 1997a, Robledo et al., 1993). Dans l'étude présente, cet effet anti-dopaminergique de la neurotensine a été reproduit chez les rats témoins, ainsi que chez les rats n'ayant pas développé de sensibilisation dopaminergique suite à une exposition chronique aux antipsychotiques (i.e. halopéridol intermittent). Donc, une simple exposition chronique aux antipsychotiques n'a pas d'effet sur la fonction de la neurotensine du noyau accumbens. L'effet de la neurotensine est immédiat et court. Seul Robledo et al. (1993) ont présenté le décours temporel de l'effet de la neurotensine sur la locomotion induite par l'amphétamine. L'effet est également immédiat, mais est de plus longue durée. La localisation des sites d'injection de la neurotensine dans le noyau accumbens de l'étude de Robledo et al. (1993) n'a pas été clairement indiquée, mais semble plus ventrale que le *core* du noyau accumbens, la région ciblée ici. Avec des injections intra-cérébrales plus ventrales, Robledo et al. (1993) semble avoir ciblé à la fois le *core* et le *shell* du noyau accumbens. La neurotensine aurait des effets anti-dopaminergiques plus importants dans le *core* du noyau accumbens que le *shell* (Stowe et al., 2005), ce qui pourrait favoriser une régulation plus stricte de son activité dans le *core*. Lorsqu'elle est injectée spécifiquement dans le *core*, la neurotensine pourrait avoir un effet court qui s'explique par un rétrocontrôle négatif plus important que si elle est injectée à la fois dans le *shell* et le *core*. Ce rétrocontrôle négatif consiste principalement en une désensibilisation et une internalisation des récepteurs NTS1 (Souaze and Forgez, 2006). Il est important de noter également que la neurotensine a une demi-vie d'environ 15 minutes (Checler et al., 1986), ce qui peut également expliquer la courte durée de son effet.

8.2.2. La fonction de la neurotensine dans le noyau accumbens chez des animaux dont le système dopaminergique est sensibilisé par un traitement antipsychotique

Malgré des divergences entre les expériences 1 et 3, la sensibilisation dopaminergique évoquée par un traitement antipsychotique semble être associée à une potentialisation de la fonction pro-dopaminergique de la neurotensine dans le noyau accumbens. Si cette hypothèse est vraie, la neurotensine aurait donc la capacité d'exacerber les effets psychomoteurs de

l'amphétamine, permettant l'induction de stéréotypie. En effet, la locomotion induite par un psychostimulant est évoquée à plus faibles doses, alors que la stéréotypie nécessite de plus grandes doses pour être exprimée (Kuczenski and Segal, 1999). Des animaux sensibles aux effets des psychostimulants peuvent donc être en stéréotypie avec des doses plus faibles qui évoqueraient normalement de l'hyperlocomotion chez des animaux non-sensibles. La stéréotypie est caractérisée par des mouvements répétitifs de reniflement et de mâchouillage, ainsi que des mouvements répétitifs de la tête et des membres (Meyer and Quenzer, 2005). Ces mouvements fortement répétitifs font en sorte que l'animal effectue moins de déplacements. Dans l'expérience 3, la neurotensine diminue grandement la locomotion induite par l'amphétamine. Toutefois, la neurotensine diminue seulement les allées dans la cage (i.e. *cage crossing*), sans modifier significativement les mouvements locaux (i.e. *localized beam breaks*). Ceci pourrait signifier que la neurotensine favorise l'induction de stéréotypie. De façon intéressante, la neurotensine injectée dans le noyau accumbens peut augmenter la stéréotypie induite par une injection systémique d'apomorphine (Blumstein et al., 1987). Elle a donc la capacité de moduler cet effet des psychostimulants. Également, la stéréotypie induite par une injection systémique d'amphétamine est en partie associée à une hausse de la transmission dopaminergique dans le noyau accumbens (Kuczenski and Segal, 1999), ce que la neurotensine peut potentialiser (Fawaz et al., 2009). Des investigations supplémentaires sont toutefois nécessaires, puisque la stéréotypie a été démontrée de façon indirecte. Dans l'expérience 1, la neurotensine ne semble pas avoir d'effet sur la locomotion induite par l'amphétamine. Cette absence d'effet pourrait signifier que la potentialisation de la fonction pro-dopaminergique de la neurotensine est suffisante pour contrer sa fonction anti-dopaminergique, mais insuffisante pour exacerber les effets psychomoteurs de l'amphétamine, comme il a été observé dans l'expérience 3. En somme, la potentialisation des effets pro-dopaminergiques de la neurotensine du noyau accumbens ferait partie des mécanismes sous-tendant l'expression de la sensibilisation dopaminergique évoquée par un traitement antipsychotique.

Alors que la neurotensine a un effet immédiat chez les animaux témoins et ceux ayant été traités par intermittence aux antipsychotiques, son effet ne peut être observé qu'à partir de 30 minutes après le début de la session de test chez les animaux traités de façon continue aux antipsychotiques. Lorsqu'une forte dose de psychostimulant est administrée, les animaux

expriment de la stéréotypie suivie par une période de locomotion post-stéréotypie (Leith and Kuczenski, 1982, Kuczenski and Segal, 1999). Au contraire, des animaux sensibles aux effets psychomoteurs de l'amphétamine, suite à des injections répétées du psychostimulant, présentent une augmentation de l'activité locomotrice, suivie d'une période intense de stéréotypie (Leith and Kuczenski, 1982). Cette séquence qui est inversée ressemble à celle obtenue dans l'étude présente et pourrait donc s'appliquer également à des animaux sensibilisés par un traitement antipsychotique.

8.3. COMMENT UN TRAITEMENT ANTIPSYCHOTIQUE PEUT-IL ALTÉRER LA FONCTION DE LA NEUROTENSINE DANS LE NOYAU ACCUMBENS ?

Normalement, la neurotensine injectée dans le noyau accumbens a la capacité de diminuer la locomotion induite par l'amphétamine. Étant donné que la neurotensine a des effets qui s'opposent dans le noyau accumbens (i.e. anti- versus pro-dopaminergiques), ces effets anti-dopaminergiques dominent dans la régulation des effets psychomoteurs de l'amphétamine. Suite à un traitement antipsychotique qui sensibilise le système dopaminergique, les effets pro-dopaminergiques de la neurotensine deviendraient dominants, et permettraient de diminuer l'effet anti-dopaminergique de la neurotensine, et même d'exacerber l'expression de la sensibilisation dopaminergique. Cette dominance des effets pro-dopaminergiques de la neurotensine pourrait faire partie des mécanismes impliqués dans l'expression de la sensibilisation dopaminergique. Dans ce chapitre, il sera question de décrire des changements induits par les antipsychotiques qui pourraient favoriser l'altération de la fonction de la neurotensine lorsque le système dopaminergique est sensibilisé.

8.3.1. Régulation de la concentration extra-cellulaire de neurotensine dans le noyau accumbens par les antipsychotiques

Gruber et al. (2002) ont démontré qu'un traitement chronique aux antipsychotiques, dont l'efficacité thérapeutique est maintenue, diminue les taux extra-cellulaires de neurotensine dans le noyau accumbens. Les traitements antipsychotiques ne sensibilisant pas le système dopaminergique maintiennent leur efficacité à long terme, mais pas les traitements induisant une sensibilisation dopaminergique (Samaha et al., 2008). Radke et al. (1998) ont démontré

qu'un traitement continu à de fortes doses d'antipsychotiques augmente les taux extra-cellulaires de neurotensine dans le noyau accumbens. Un traitement continu à de fortes doses d'antipsychotiques est plus enclin à induire de la sensibilisation dopaminergique qu'un traitement à plus faibles doses (Samaha et al., 2007). Ainsi, il semble qu'une hausse des taux extra-cellulaires de neurotensine pourrait être liée à la sensibilisation dopaminergique induite par un traitement antipsychotique. Au contraire, une baisse de la concentration extra-cellulaire de neurotensine pourrait être liée à un traitement antipsychotique n'induisant pas de sensibilisation dopaminergique. Il serait toutefois intéressant de vérifier ces observations dans une même étude, sous les mêmes conditions. Il est important de noter que ces résultats ont été obtenus durant un traitement antipsychotique en cours, alors que l'étude présente a été effectuée après le retrait du traitement antipsychotique.

Quelles seraient les conséquences d'une hausse de la concentration extra-cellulaire de neurotensine dans le noyau accumbens ? Comme il fut mentionné plus tôt, les récepteurs NTS1 activés peuvent être rapidement désensibilisés et internalisés. Leur internalisation pourrait donc être plus fréquente lorsque la concentration extra-cellulaire de neurotensine est plus importante. Le récepteur NTS1 internalisé peut réguler la transcription de son propre gène (Souaze and Forgez, 2006). Donc, durant le traitement antipsychotique, l'expression des récepteurs NTS1 pourrait être altérée et ceci pourrait avoir un impact sur la signalisation de la neurotensine, favorisant une altération de sa fonction dans le noyau accumbens à long terme (i.e. après l'arrêt du traitement, période où la fonction de la neurotensine a été étudiée dans l'étude présente). Si l'altération de l'expression des récepteurs NTS1 est persistante après l'arrêt du traitement, elle n'aurait pas d'impact sur la densité totale des récepteurs NTS1 dans le noyau accumbens après l'arrêt du traitement (voir Chapitre 9.1.1 à la page 95). Également, la neurotensine et le récepteur NTS1 peuvent être co-internalisés ensemble lorsque la neurotensine se lie à son récepteur. Dans le caudé-putamen, le complexe neurotensine/récepteur NTS1 peut être transporté de façon rétrograde jusqu'au noyau de neurone dopaminergique de la substance noire, où il pourrait réguler la transcription du gène de la tyrosine hydroxylase (Laduron, 1995), l'enzyme impliquée dans la synthèse de dopamine (Meyer and Quenzer, 2005). Un tel effet pourrait être possible dans les neurones dopaminergiques de la voie mésolimbique, où le complexe neurotensine/récepteur NTS1 pourrait alors modifier la transmission dopaminergique à long

terme. Il est important de noter toutefois qu'un traitement antipsychotique évoquant la sensibilisation dopaminergique ne semble pas modifier la disponibilité en dopamine dans le striatum (Samaha et al., 2007, Ichikawa and Meltzer, 1992).

8.3.2. Régulation des récepteurs NTS1 par les récepteurs dopaminergiques de type 2

Les récepteurs de type D₂ peuvent être soit en haute (D₂^{HIGH}) ou faible affinité pour la dopamine, où le K_D est de 1 à 100 nM et 100 à 10 000 nM, respectivement (Seeman, 2008). Un traitement antipsychotique augmente le nombre de récepteurs de type D₂ et de récepteurs de type D₂^{HIGH} dans le striatum (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008, Seeman et al., 2005, Muller and Seeman, 1977). L'augmentation du nombre de récepteurs de type D₂^{HIGH} semble plus importante lorsque le traitement antipsychotique induit de la sensibilisation dopaminergique. Également, un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique de façon persistante après l'arrêt du traitement augmente de façon persistante la densité des récepteurs de type D₂ et D₂^{HIGH} (Samaha et al., 2007). Lorsqu'un traitement antipsychotique n'induit pas de sensibilisation dopaminergique après l'arrêt du traitement, la densité des récepteurs de type D₂ et D₂^{HIGH} n'est pas altérée de façon persistante (Samaha et al., 2007). Les modifications des récepteurs de type D₂ ne représentent pas un marqueur fiable, mais semblent spécifiques à la sensibilisation dopaminergique exprimée après l'arrêt du traitement. Dans l'étude présente, les tests ont été entrepris après l'arrêt du traitement, où la sensibilisation dopaminergique était persistante.

Comment les récepteurs de type D₂ et D₂^{HIGH} pourraient-ils favoriser une altération de la fonction de la neurotensine ? Les récepteurs de type D₂ ont la capacité de diminuer l'activité des récepteurs NTS1. En effet, Jomphe et al. (2006) ont démontré que les récepteurs de type D₂, situés sur le corps cellulaire et l'arbre dendritique des neurones dopaminergiques du mésencéphale, peuvent inhiber l'activité des récepteurs NTS1. De telles interactions pourraient se produire dans le noyau accumbens. De ce fait, des altérations importantes dans le nombre de récepteurs de type D₂ et D₂^{HIGH} à long terme, qui débute durant le traitement antipsychotique et persiste après l'arrêt de celui-ci (Samaha et al., 2007), pourrait induire une adaptation des récepteurs NTS1 qui favorise la fonction pro-dopaminergique de la neurotensine. Cette adaptation n'implique toutefois pas un changement de densité totale des récepteurs NTS1 du

noyau accumbens (voir Chapitre 9.1.1 à la page 95). Il est important de noter également que l'augmentation de la densité des récepteurs de type D_2 et D_2^{HIGH} semblent être surtout en post-synaptique (Samaha, 2014; voir Chapitre 5 à la page 37), où la neurotensine exerce un effet anti-dopaminergique. Il pourrait alors y avoir un déséquilibre entre l'interaction des récepteurs de type D_2 et des récepteurs NTS1 en post-synaptique, qui défavorise la fonction anti-dopaminergique de la neurotensine sur les neurones épineux moyens. Ceci pourrait alors avoir pour conséquence de favoriser sa fonction pro-dopaminergique.

9. LES RÉCEPTEURS NEUROTENSINERGIQUES DU STRIATUM

9.1. LE NOYAU ACCUMBENS

Les récepteurs NTS1 sont localisés sur des terminaisons glutamatergiques et dopaminergiques (Pickel et al., 2001), ainsi que sur le corps et l'arbre dendritiques des neurones épineux moyens (Pickel et al., 2001, Boudin et al., 1996). Dans le noyau accumbens, la densité des récepteurs NTS2 est très faible (Sarret et al., 2003b), alors que les récepteurs NTS3 sont absents (Sarret et al., 2003a). La densité des récepteurs NTS4 dans le noyau accumbens n'est pas connue. À ma connaissance, aucune étude ne met en évidence que les récepteurs NTS2, NTS3 et NTS4 modulent l'activité de la dopamine dans le noyau accumbens. De plus, dans le cas des récepteurs NTS2 et NTS3, leur faible abondance (voir absence) les rendent moins enclins à moduler l'activité de la dopamine. Au contraire, les récepteurs NTS1 sont connus pour avoir la capacité de moduler l'activité de la dopamine dans le noyau accumbens (Steinberg et al., 1994, Fawaz et al., 2009, Ferraro et al., 2007). Ainsi, dans l'étude présente, la densité des récepteurs NTS1 a été mesurée dans le noyau accumbens, afin d'évaluer si leur altération éventuelle corrèle avec la sensibilisation dopaminergique et le changement de fonction de la neurotensine, tel qu'abordé dans le Chapitre 8 (page 88).

9.1.1. Densité des récepteurs NTS1 : les résultats de l'étude présente et leur implication

Un traitement antipsychotique, qu'il sensibilise ou non le système dopaminergique, n'altère pas la densité des récepteurs NTS1 dans le *shell* et le *core* du noyau accumbens. Ceci ne serait donc pas lié à l'altération de la fonction de la neurotensine dans le *core* du noyau accumbens suite à un traitement continu aux antipsychotiques. Toutefois, l'implication des récepteurs NTS1 reste probable. En effet, comme il fut évoqué dans la section précédente, les récepteurs NTS1 du noyau accumbens sont connus pour moduler l'activité de la dopamine dans le noyau accumbens, mais pas les récepteurs NTS2 et NTS3, qui sont peu concentrés ou absents dans le noyau accumbens, respectivement. La densité des récepteurs NTS4 n'est pas connue, mais il s'agit d'un récepteur principalement exprimé dans les neurones (Jacobsen et al., 2001). Puisque la fonction de la neurotensine a été étudiée en l'injectant directement dans le noyau accumbens, la contribution de récepteurs intra-cellulaires pourrait être négligeable, puisque la neurotensine ne semble pas diffuser librement à travers la membrane plasmique (Laduron,

1991). Il n'est toutefois pas à exclure que l'altération de la fonction de la neurotensine puisse dépendre d'un autre type de récepteur de la neurotensine non connu. L'implication des récepteurs NTS1 pourrait être prouvée en répétant l'expérience effectuée dans l'étude présente, mais où la neurotensine serait co-administrée avec le SR48692, un antagoniste sélectif des récepteurs NTS1 (Gully et al., 1993). Il serait alors attendu que le SR48692 puisse abolir les effets de la neurotensine chez les témoins et animaux traités par intermittence (i.e. non sensibilisés). Si les récepteurs NTS1 sont impliqués dans l'altération de la fonction de la neurotensine chez les animaux sensibilisés par un traitement antipsychotique, le SR48692 pourrait également abolir les effets de la neurotensine dans ce groupe.

Donc, pourquoi la densité des récepteurs NTS1 n'est-elle pas altérée dans le noyau accumbens, malgré la forte probabilité qu'ils contribuent à l'altération de la fonction de la neurotensine ? Ces récepteurs pourraient subir d'autres modifications, telles qu'un changement dans la capacité de la neurotensine à les activer. Également, leur densité totale dans le noyau accumbens pourrait ne pas être altérée, mais des modifications de densité pourraient quand même avoir lieu sur des sites spécifiques du noyau accumbens. Étant donné que nous avons pour hypothèse que la fonction pro-dopaminergique de la neurotensine est amplifiée, il est possible que la densité et/ou l'activité des récepteurs NTS1 situés sur les terminaisons dopaminergiques soient augmentées suite à un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique. La fonction anti-dopaminergique de la neurotensine pourrait également être diminuée, menant à une réduction de la densité des récepteurs NTS1 sur les neurones épineux moyens et/ou à une diminution de la capacité de la neurotensine à activer ce récepteur. Les récepteurs NTS1 localisés sur les terminaisons glutamatergiques pourraient être également altérés. En effet, la neurotensine peut indirectement favoriser l'activation des neurones épineux moyens en augmentant la libération de glutamate. Des changements plus subtils de densité sur des sites précis du noyau accumbens pourraient ne pas être détectés par le test de liaison effectué dans l'étude présente. En somme, la densité des récepteurs NTS1 et/ou leur activation par la neurotensine pourraient être débalancées suite à un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique, de façon à favoriser les effets pro-dopaminergiques de la neurotensine et minimiser ces effets anti-dopaminergiques. Ce débalancement ne pourrait être démontré avec le test de liaison effectué dans l'étude présente.

Des investigations futures devraient s'intéresser à la capacité de la neurotensine d'activer les récepteurs NTS1, telles qu'en effectuant un test de liaison de GTP γ S stimulée par la neurotensine. Également, il serait intéressant d'investiguer les effets des récepteurs NTS1 sur la libération de dopamine et de glutamate, ainsi que sur la décharge des neurones épineux moyens suite à un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique. Ces mesures seraient plus précises et permettraient d'identifier des changements sur des sites précis où les récepteurs NTS1 sont exprimés.

9.2. LE CAUDÉ-PUTAMEN

L'étude présente s'est principalement intéressée au noyau accumbens. Or, les analyses de densité des récepteurs NTS1 ont été étendues jusqu'au caudé-putamen, malgré que la fonction de la neurotensine n'ait été étudiée dans cette région. Les récepteurs NTS1 sont très peu présents sur le corps cellulaire et l'arbre dendritique des neurones épineux moyens, mais très abondants sur les terminaisons dopaminergiques (Schotte and Leysen, 1989, Boudin et al., 1996, Nicot et al., 1994). Les autres récepteurs de la neurotensine, autre que le récepteur NTS1, sont plus abondants dans le caudé-putamen que dans le noyau accumbens. En effet, les récepteurs NTS2 sont modérément denses sur le corps cellulaire des neurones du caudé-putamen et plus faiblement présents sur les dendrites et terminaisons (Sarret al., 2003b). Les récepteurs NTS3 sont majoritairement intra-cellulaires et modérément présents sur le corps cellulaire et l'arbre dendritique des neurones du caudé-putamen, mais pas sur les terminaisons axonales (Sarret al., 2003a). Finalement, les récepteurs NTS4 sont des récepteurs intra-cellulaires modérément présents dans le caudé-putamen (Motoi et al., 1999). La co-localisation des récepteurs NTS2, NTS3 et NTS4 avec la dopamine dans le caudé-putamen pourrait impliquer qu'ils ont la capacité d'interagir avec elle. Or, à ma connaissance, aucune étude ne met en évidence une telle interaction dans le caudé-putamen, contrairement au récepteur NTS1 (voir Chapitre 3.2.2 à la page 21 et **Figure 4** à la page 20).

9.2.1. Densité des récepteurs NTS1 : les résultats de l'étude présente et leur implication

Un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique n'altère pas la densité des récepteurs NTS1 dans le caudé-putamen. Toutefois, un traitement antipsychotique

qui ne sensibilise pas le système dopaminergique altère de façon persistante (i.e. après l'arrêt du traitement) la densité des récepteurs NTS1 dans le caudé-putamen ventral. Les récepteurs NTS1 du caudé-putamen ventrolatéral favorisent l'expression de mouvement de mastication involontaire [i.e. *vacuous chewing movement*; McCormick and Stoessl (2003)]. Ces mouvements ressemblent aux symptômes de la dyskinésie tardive chez l'humain, qui sont caractérisés par des mouvements et des contractions involontaires du visage (Simpson et al., 1979, Muench and Hamer, 2010). Ces symptômes apparaissent après un long traitement aux antipsychotiques et font partie des symptômes extrapyramidaux. Le traitement intermittent à l'halopéridol, qui altère la densité des récepteurs NTS1, ne favorise pas l'apparition de mouvement de mastication involontaire (Turrone et al., 2003). Une interprétation possible de ces résultats serait que l'augmentation de la densité des récepteurs NTS1 soit due à une diminution de la transmission de neurotensine dans le caudé-putamen ventral. Sa transmission amoindrie pourrait prévenir l'émergence de mouvements de mastication involontaire. Ceci reste toutefois hypothétique et nécessite plus d'investigations.

Le caudé-putamen ne module pas la locomotion induite par l'amphétamine (Kelly et al., 1975, Kelley et al., 1989) et n'est donc pas impliqué dans la hausse de la réponse locomotrice à l'amphétamine évoquée par la sensibilisation dopaminergique. La neurotensine et le récepteur NTS1 dans le caudé-putamen pourraient toutefois être potentiellement impliqués dans la dyskinésie tardive, qui est favorisée par la sensibilisation dopaminergique (Chouinard et al., 1978, Chouinard and Jones, 1980, Fallon and Dursun, 2011).

10. LES PROJECTIONS NEUROTENSINERGIQUES DU STRIATUM

10.1. LE NOYAU ACCUMBENS

Une éventuelle altération de l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le noyau accumbens en lien avec la sensibilisation dopaminergique a été analysée. Il est important de noter que la neurotensine produite dans le noyau accumbens est libérée dans d'autres régions cérébrales. De ce fait, l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le noyau accumbens n'est pas en lien avec l'altération de la fonction de la neurotensine dans cette même région, suite à un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique. La neurotensine produite dans le *core* du noyau accumbens est libérée dans la partie dorsolatérale du pallidum ventral, alors que celle produite dans le *shell* du noyau accumbens est libérée dans la partie ventromédiane du pallidum ventral (Zahm and Heimer, 1988, Zahm and Heimer, 1990). Ces deux voies se chevauchent modérément (Zahm and Heimer, 1990). Les neurones du noyau accumbens produisant de la neurotensine sont majoritairement modulés par les récepteurs de type D₂, et en plus petite proportion par les récepteurs de type D₁ (Zahm, 1992).

10.1.1. Expression de l'ARNm de la proneurotensine : les résultats de l'étude présente et leur implication

Indépendamment de la sensibilisation dopaminergique, une exposition chronique aux antipsychotiques augmente l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le *core* du noyau accumbens, mais pas dans le *shell*. Merchant al. (1994) ont rapporté qu'à la fin d'un traitement continu à l'halopéridol toujours en cours, l'expression de l'ARNm de la proneurotensine est augmentée dans le *shell*. Dans l'étude présente, aucune altération n'a été observée 9 à 10 jours après l'arrêt du traitement dans cette sous-région du noyau accumbens. Il semble donc que les altérations dans le *shell* ne sont pas persistantes. Merchant al. (1994) n'ont pas fait de mesure dans le *core* du noyau accumbens. Il est donc incertain si l'augmentation de l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans cette région, observée dans l'étude présente, est également présente durant le traitement antipsychotique.

Quelle serait donc l'implication de ces changements observés dans le *core* ? La neurotensine du noyau accumbens est associée aux effets thérapeutiques des antipsychotiques, puisqu'ils augmentent son expression de façon robuste, contrairement au caudé-putamen, où les

résultats sont plus variables dépendamment de la nature de l'antipsychotique [i.e. typique versus atypique; See et al. (1995), Kinkead et al. (2000), Govoni (1980), Goedert et al. (1984), Kilts et al. (1988), Myers et al. (1992), Frey et al. (1987), Bissette et al. (1988), Merchant et al. (1992b), Merchant et al. (1994), Wagstaff et al. (1996), Huang and Hanson, (1997)] ou du mode d'administration (résultats présents). De plus, cette modulation semble spécifique, puisque d'autres classes de médicaments, tels que les benzodiazépines et les antidépresseurs, n'ont pas cet effet (Myers et al., 1992, Frey et al., 1987). Puisque l'expression de l'ARNm de la proneurotensine a été mesurée 9 à 10 jours après l'arrêt du traitement dans l'étude présente, la nature des changements de l'expression de l'ARNm de la proneurotensine ne peut être liée aux effets thérapeutiques des antipsychotiques et reste incertaine.

10.2. LE CAUDÉ-PUTAMEN

Les analyse de l'expression de l'ARNm de la proneurotensine ont été étendues jusqu'au caudé-putamen. Une sous-population de neurones du caudé-putamen produisent de la neurotensine suite au blocage des récepteurs de type D₂ (Merchant et al., 1992b). Environ 80 % de ces neurones projettent vers le globus pallidus, alors qu'une minorité (~ 5 %) projettent vers la substance noire (Brog and Zahm, 1996). Tout comme dans le noyau accumbens, les neurones produisant de la neurotensine sont principalement régulés par les récepteurs de type D₂ et en plus petite proportion par les récepteurs de type D₁ (Zahm, 1992).

10.2.1. Expression de l'ARNm de la proneurotensine : les résultats de l'étude présente et leur implication

Seule une administration continue d'antipsychotique augmente l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le caudé-putamen. Cette altération semble être en lien avec la dyskinésie tardive, puisque la neurotensine dans le globus pallidus favorise l'expression de mouvement de mastication involontaire (McCormick and Stoessl, 2003). Un traitement continu aux antipsychotique peut induire des mouvements de mastication involontaire dans une sous-population de rats, mais non après une exposition de deux semaines [i.e. la durée du traitement ici; Turrone et al. (2003)]. Il n'est pas à exclure cependant que la neurotensine puisse être à la

fois impliquée dans l'expression des mouvements de mastication involontaire et leur développement. Il est intéressant de noter que l'augmentation de l'expression de l'ARNm de la proneurotensine persiste plusieurs jours après l'arrêt du traitement (9 à 10 jours). En clinique, la dyskinésie tardive peut persister après l'arrêt d'un traitement (Meyer and Quenzer, 2005).

11. LES LIMITES ET PERSPECTIVES DE L'ÉTUDE PRÉSENTE

La fonction de la neurotensine du noyau accumbens a été étudiée dans une sous-région du noyau accumbens, soit le *core*. Pour ce faire, nous avons mesuré l'effet de microinjections de neurotensine dans le *core* du noyau accumbens sur la locomotion induite par une injection systémique d'amphétamine. La locomotion induite par l'amphétamine administrée en systémique est préférentiellement modulée par le *core* du noyau accumbens et non le *shell* (Boye et al., 2000). Il était donc pertinent de cibler plus spécifiquement le *core*. Des différences de densité des récepteurs NTS1 subsistent entre le *core* et *shell* du noyau accumbens. Dans le *shell* du noyau accumbens, les récepteurs NTS1 sont moins abondants sur les axones et les dendrites, comparativement au *core* (Pickel et al., 2001). Les récepteurs NTS1 sont également moins efficaces dans cette région pour contrer les effets inhibiteurs de la dopamine sur la décharge des neurones du noyau accumbens (Stowe et al., 2005). Ces différences pourraient faire en sorte que les antipsychotiques modulent la fonction de la neurotensine du *shell* du noyau accumbens d'une façon différente de celle du *core*. Davantage d'investigations seraient alors nécessaires.

Ensuite, la sensibilisation dopaminergique débute durant le traitement antipsychotique, où déjà elle amoindrit les effets thérapeutiques du traitement (Samaha et al., 2007, Samaha et al., 2008). Malgré que la sensibilisation dopaminergique commence à se manifester aussi tôt, les expériences de l'étude présente ont été effectuées après le retrait du traitement, période où l'expression de la sensibilisation dopaminergique est forte. Ceci se manifeste avec une sensibilisation des effets de l'amphétamine en pré-clinique (Samaha et al., 2007, Bédard et al., 2011, Bédard et al., 2013, El Hage et al., 2015) et une plus forte incidence de psychose en clinique (Chouinard et al., 1978, Chouinard et al., 1980). L'expression de la sensibilisation dopaminergique serait plus forte, puisque lors du traitement, les antipsychotiques bloquent les récepteurs de type D₂, permettant ainsi de masquer partiellement l'expression de la sensibilisation dopaminergique (Chouinard et al., 1980). Ce contrôle est perdu après l'arrêt du traitement antipsychotique. La cessation du traitement antipsychotique est fréquente chez les patients schizophrènes (Lieberman et al., 2005, Massand et al., 2009) et représente donc une réalité clinique qui est pertinente à étudier. Il serait tout de même intéressant d'investiguer la fonction de la neurotensine du noyau accumbens durant le traitement antipsychotique. Ceci

permettrait de déterminer si les altérations observées dans l'étude présente sont spécifiques à la période après l'arrêt du traitement, ou si elles sont présentes également durant le traitement antipsychotique. Étant donné que l'altération de la fonction de la neurotensine corrèle avec un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique, il serait attendu que sa fonction soit également altérée durant le traitement, spécifiquement durant la période où la sensibilisation dopaminergique est présente.

Une autre limite de l'étude présente est que les animaux traités en continu aux antipsychotiques ont été exposés à une dose dix fois supérieure à celle des animaux traités par intermittence (0,5 mg/kg/jour versus 0,05 mg/kg/jour, respectivement). Autre que le mode d'administration, il s'agit de la seule différence entre les deux types de traitement, alors que la durée, la voie d'administration et les taux d'occupation des récepteurs de type D₂ striataux étaient les mêmes. En employant la même dose d'antipsychotique pour les deux traitements, le traitement intermittent aurait généré des taux d'occupation des récepteurs de type D₂ striataux d'environ 93 %, en plus d'induire des effets extrapyramidaux (Wadenberg et al., 2001). La même dose administrée sur 24 heures (i.e. traitement continu) induit des taux d'occupation d'environ 73 % (Kapur et al., 2003, Samaha et al., 2007), un taux qui n'augmente pas les risques d'induire des effets extrapyramidaux (Wadenberg et al. 2000). Une même dose pour les deux modes d'administration n'aurait donc pas permis de comparer de manière juste les deux groupes. Également, une dose cliniquement pertinente d'antipsychotique utilisée chez le rat doit engendrer des taux d'occupation se situant entre 65 et 80 % (Kapur et al., 2003). Pour ces raisons, la dose d'halopéridol utilisée pour le traitement intermittent doit être plus faible que celle utilisée pour le traitement continu. Finalement, il est important de noter que le mode intermittent avec la même dose que celle utilisée ici a été démontré comme efficace à long terme pour diminuer la réponse lors du test d'évitement conditionné et la locomotion induite par l'amphétamine (Samaha et al., 2008). Donc, malgré la faible dose d'antipsychotique, le traitement intermittent employé dans l'étude présente génère bel et bien des effets comportementaux pertinents.

Finalement, une question critique à l'égard des résultats de l'étude présente est de savoir s'ils sont représentatifs de ce qui pourrait se produire dans un système nerveux central altéré par la schizophrénie. En effet, les expériences de l'étude présente ont toutes été effectuées chez des

rats dont le système nerveux central est sain. Ceci permet donc d'isoler clairement les effets du traitement aux antipsychotiques et d'exclure des facteurs confondants. Il fut établi qu'une sous-population d'individus souffrant de schizophrénie présente des taux faibles de neurotensine dans le liquide cébrospinal (Caceda et al., 2007). De façon intéressante, ce taux peut être augmenté par un traitement antipsychotique. Malgré que ces mesures ne soient pas précises, il semble tout à fait possible que les antipsychotiques puissent moduler l'expression de la neurotensine chez des patients schizophrènes, tout comme chez des animaux sains, où cet effet est très bien établi. Il serait donc pertinent d'investiguer davantage les mécanismes neurobiologiques impliquant la neurotensine dans la sensibilisation dopaminergique induite par un traitement antipsychotique, chez des animaux modélisant les symptômes de la schizophrénie. Plusieurs traitements peuvent être employés pour modéliser les symptômes ou les altérations neurobiologiques de la schizophrénie chez les animaux, tels que léser l'hippocampe ventral durant la période néonatale, exposer chroniquement au psychotrope phéncyclidine (PCP) ou perturber le développement du système nerveux central durant la période embryonnaire (Jones et al., 2011, Lipska and Weinberger, 2000).

12. LES IMPLICATIONS CLINIQUES DE L'ÉTUDE PRÉSENTE

Il est nécessaire de mieux comprendre les mécanismes sous-tendant la sensibilisation dopaminergique pour identifier de nouveaux marqueurs. Une meilleure compréhension de ces mécanismes pourrait permettre d'identifier avec précision les antipsychotiques qui sont plus enclins à sensibiliser le système dopaminergique. Ainsi, il serait possible d'optimiser le développement de nouveaux antipsychotiques ayant une meilleure efficacité à long terme, mais également de renverser l'expression de la sensibilisation dopaminergique déjà développée. La neurotensine du noyau accumbens pourrait potentiellement représenter un marqueur, puisque seul un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique altère sa fonction. Il est d'ailleurs possible de mesurer les taux de neurotensine dans le liquide céphalo-rachidien chez l'humain (Widerlov et al., 1982).

Également, en pré-clinique, il est bien établi qu'avec des doses cliniquement pertinentes, un traitement antipsychotique administré de façon continue sensibilise le système dopaminergique, mais non lorsqu'il est administré de façon intermittente (Samaha et al., 2008, Bedard et al., 2011, Ericson et al., 1996). Est-ce qu'il en est de même en clinique ? L'étude de cas de Chouinard and Jones (1980) souligne que les antipsychotiques de longue durée d'action (i.e. actifs quelques semaines avec une seule injection) sont liés à des cas de sensibilisation dopaminergique. Cette forme d'administration des antipsychotiques permet d'améliorer la compliance, en prévenant les oublis de la prise d'un médicament qui doit être administré quotidiennement. Paradoxalement, Chouinard and Jones (1980) rapportent que certains patients sont hospitalisés moins fréquemment lorsqu'ils prennent des antipsychotiques qui doivent être administrés quotidiennement (ex : comprimé), malgré les oublis fréquents de se médicamenter. Les mêmes patients traités avec des antipsychotiques à longue durée d'action étaient hospitalisés plus fréquemment, malgré la meilleure compliance. Ces simples observations soulignent qu'une meilleure compliance (qui pourrait favoriser une occupation continue des récepteurs de type D₂) semble amoindrir les effets thérapeutiques des antipsychotiques, puisqu'elle corrèle avec une augmentation de la fréquence d'hospitalisation.

Des études cliniques se sont intéressées au traitement intermittent, où différents modèles de traitements ont été testés. Les hospitalisations sont plus fréquentes lorsque les

antipsychotiques sont administrés seulement au moment où les symptômes de la schizophrénie émergent (Jolley et al., 1990, Gaebel et al., 2011). Il en est de même lorsque les patients traités par intermittence ne reçoivent pas d'antipsychotique pendant quelques semaines (Herz et al., 1990). Ces traitements intermittents ne sont donc pas concluants. Au contraire, en raccourcissant l'intervalle entre la prise d'antipsychotique (1 à 3 jours), un traitement intermittent peut s'avérer être aussi efficace qu'un traitement continu (McCreadie et al., 1980, Remington et al., 2011). Dans ces études, les patients traités par intermittence recevaient de 40 à 50 % moins d'antipsychotique que les patients traités continuellement. En pré-clinique, il fut démontré qu'un traitement intermittent est plus efficace à long terme qu'un traitement continu (Samaha et al., 2008), alors qu'en clinique, l'efficacité d'un traitement intermittent ou continu est équivalente (Remington et al., 2011, McCreadie et al., 1980). Le modèle de traitement intermittent utilisé dans l'étude pré-clinique de Samaha et al. (2007) est le même que l'étude présente, où les taux d'occupation inférieurs à 65 % sont atteints fréquemment (voir **Figure 5** à la page 86). En clinique, avec une seule administration, les antipsychotiques peuvent maintenir des taux d'occupation élevés sur quelques jours (Tauscher and Kapur, 2001). L'intervalle de temps entre la prise de médicament dans les études de Remington et al. (2011) et McCreadie et al. (1980) pourrait être trop courte et ne pas permettre aux antipsychotiques d'atteindre des taux d'occupation assez bas. Il serait alors intéressant d'étudier en clinique l'impact de périodes fréquentes et courtes de faible occupation par les antipsychotiques.

En somme, il est nécessaire d'évaluer les risques de sensibilisation dopaminergique induite par un traitement antipsychotique. La neurotensine pourrait permettre d'identifier les antipsychotiques plus enclin à avoir ces effets. En plus d'améliorer les antipsychotiques comme tel, il est également important de déterminer des modes d'administration plus adéquats. En effet, il n'est pas nécessaire de traiter continuellement les patients et, sur la base d'études pré-cliniques, pourrait être nocifs à long terme en sensibilisant le système dopaminergique.

Conclusion

La sensibilisation dopaminergique évoquée par un traitement antipsychotique peut grandement compromettre l'efficacité du traitement. En effet, elle est associée à une hausse du risque de rechute de psychose, de la tolérance et de la dyskinésie tardive. Les altérations du système dopaminergique évoquées par un traitement antipsychotiques ne s'avèrent pas à être spécifiques à la sensibilisation dopaminergique et ne révèlent donc pas de marqueurs fiables. Le rôle potentiel de la neurotensine dans l'expression de la sensibilisation dopaminergique a alors été investigué dans l'étude présente. La neurotensine est d'intérêt particulier, puisqu'elle module le système dopaminergique. Son expression est également modulée par les antipsychotiques, principalement dans le noyau accumbens. Son rôle potentiel a alors été investigué dans cette région, où elle a deux fonctions qui s'opposent, soit anti- et pro-dopaminergique.

Un traitement antipsychotique sensibilisant le système dopaminergique (i.e. administration continue) semble potentialiser les effets pro-dopaminergiques de la neurotensine du noyau accumbens. Dans l'étude présente, cette altération fut démontrée de façon indirecte et devra être davantage investiguée. La potentialisation des effets pro-dopaminergiques de la neurotensine n'est pas liée à un changement de la densité totale des récepteurs NTS1 dans le *core* du noyau accumbens. Un traitement ne sensibilisant pas le système dopaminergique n'altère également pas la densité des récepteurs NTS1 dans cette région. De plus, un traitement antipsychotique, qu'il sensibilise ou non le système dopaminergique, altère l'expression de l'ARNm de la proneurotensine dans le noyau accumbens. Ainsi, seule l'altération de la fonction de la neurotensine dans le noyau accumbens corrèle avec la sensibilisation dopaminergique. Les analyses ont été étendues jusqu'au caudé-putamen, où un traitement sensibilisant le système dopaminergique augmente spécifiquement l'expression de l'ARNm de la proneurotensine. Également, un traitement antipsychotique ne sensibilisant pas le système dopaminergique augmente la densité des récepteurs NTS1 dans la partie ventrale du caudé-putamen. Des changements dans le caudé-putamen corréleront donc avec la sensibilisation dopaminergique, mais seraient plutôt en lien avec la dyskinésie tardive, une conséquence potentielle de la sensibilisation dopaminergique.

En somme, la neurotensine du noyau accumbens module l'expression de la sensibilisation dopaminergique évoquée par un traitement antipsychotique. La potentialisation des effets pro-dopaminergiques de la neurotensine est spécifique à un traitement évoquant de la

sensibilisation dopaminergique. Cette potentialisation pourrait alors faire partie des mécanismes impliqués dans l'expression de la sensibilisation dopaminergique et représenter un potentiel marqueur, en plus de servir de cible thérapeutique pour renverser cet effet néfaste des antipsychotiques. De plus, un mode d'administration intermittent (i.e. ne sensibilisant pas) pourrait représenter un mode d'administration intéressant à être davantage investigué en clinique. Ainsi, des marqueurs de la sensibilisation dopaminergique, comme la neurotensine du noyau accumbens, permettraient de développer des nouveaux antipsychotiques, en plus de nouveaux modes d'administration, ayant une meilleure efficacité à long terme.

Bibliographie

- ABI-DARGHAM, A. 2004. Do we still believe in the dopamine hypothesis? New data bring new evidence. *Int J Neuropsychopharmacol*, 7 Suppl 1, S1-5.
- AGNATI, L. F., FUXE, K., BENFENATI, F. & BATTISTINI, N. 1983. Neurotensin in vitro markedly reduces the affinity in subcortical limbic ³H-N-propylnorapomorphine binding sites. *Acta Physiol Scand*, 119, 459-61.
- ALBURGES, M. E. & HANSON, G. R. 1999. Differential responses by neurotensin systems in extrapyramidal and limbic structures to ibogaine and cocaine. *Brain Res*, 818, 96-104.
- ALEXANDER, G. E. & CRUTCHER, M. D. 1990. Functional architecture of basal ganglia circuits: neural substrates of parallel processing. *Trends Neurosci*, 13, 266-71.
- ANDREASEN, N. C. 1982. Negative symptoms in schizophrenia. Definition and reliability. *Arch Gen Psychiatry*, 39, 784-8.
- ASE, A. R., AMDISS, F., HEBERT, C., HUANG, N., VAN GELDER, N. M. & READER, T. A. 1999. Effects of antipsychotic drugs on dopamine and serotonin contents and metabolites, dopamine and serotonin transporters, and serotonin1A receptors. *J Neural Transm*, 106, 75-105.
- ASSELIN, M. L., DUBUC, I., COQUEREL, A. & COSTENTIN, J. 2001. Localization of neurotensin NTS2 receptors in rat brain, using. *Neuroreport*, 12, 1087-91.
- AUGOOD, S.J., KIYAMA, H., FAULL, R. L., EMSON, P. C. 1991. Differential effects of acute dopaminergic D1 and D2 receptor antagonists on proneurotensin mRNA expression in rat striatum. *Brain Res Mol Brain Res*, 9, 341-6.
- BAN, T. A. 2007. Fifty years chlorpromazine: a historical perspective. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 3, 495-500.
- BASSETT, D. S., BULLMORE, E., VERCHINSKI, B. A., MATTAY, V. S., WEINBERGER, D. R. & MEYER-LINDENBERG, A. 2008. Hierarchical organization of human cortical networks in health and schizophrenia. *J Neurosci*, 28, 9239-48.
- BEAN, A. J., DAGERLIND, A., HOKFELT, T. & DOBNER, P. R. 1992. Cloning of human neurotensin/neuromedin N genomic sequences and expression in the ventral mesencephalon of schizophrenics and age/sex matched controls. *Neuroscience*, 50, 259-68.
- BEAUDRY, G., LANGLOIS, M. C., WEPPE, I., ROUILLARD, C. & LEVESQUE, D. 2000. Contrasting patterns and cellular specificity of transcriptional regulation of the nuclear receptor nerve growth factor-inducible B by haloperidol and clozapine in the rat forebrain. *J Neurochem*, 75, 1694-702.

- BEDARD, A. M., MAHEUX, J., LEVESQUE, D. & SAMAHA, A. N. 2011. Continuous, but not intermittent, antipsychotic drug delivery intensifies the pursuit of reward cues. *Neuropsychopharmacology*, 36, 1248-59.
- BEDARD, A. M., MAHEUX, J., LEVESQUE, D. & SAMAHA, A. N. 2013. Prior haloperidol, but not olanzapine, exposure augments the pursuit of reward cues: implications for substance abuse in schizophrenia. *Schizophr Bull*, 39, 692-702.
- BINDER, E. B., KINKEAD, B., OWENS, M. J. & NEMEROFF, C. B. 2001. Neurotensin and dopamine interactions. *Pharmacol Rev*, 53, 453-86.
- BISSETTE, G., DAUER, W. T., KILTS, C. D., O'CONNOR, L. & NEMEROFF, C. B. 1988. The effect of the stereoisomers of butaclamol on neurotensin content in discrete regions of the rat brain. *Neuropsychopharmacology*, 1, 329-35.
- BJORKLUND, A. & DUNNETT, S. B. 2007. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci*, 30, 194-202.
- BLUMSTEIN, L. K., CRAWLEY, J. N., DAVIS, L. G. & BALDINO, F., JR. 1987. Neuropeptide modulation of apomorphine-induced stereotyped behavior. *Brain Res*, 404, 293-300.
- BORROTO-ESCUELA, D. O., RAVANI, A., TARAKANOV, A. O., BRITO, I., NARVAEZ, M., ROMERO-FERNANDEZ, W., CORRALES, F., AGNATI, L. F., TANGANELLI, S., FERRARO, L. & FUXE, K. 2013. Dopamine D2 receptor signaling dynamics of dopamine D2-neurotensin 1 receptor heteromers. *Biochem Biophys Res Commun*, 435, 140-6.
- BOSE, P., ROMPRE, P. P. & WARREN, R. A. 2015. Neurotensin enhances glutamatergic EPSCs in VTA neurons by acting on different neurotensin receptors. *Peptides*, 73, 43-50.
- BOUDIN, H., PELAPRAT, D., ROSTENE, W. & BEAUDET, A. 1996. Cellular distribution of neurotensin receptors in rat brain: immunohistochemical study using an antipeptide antibody against the cloned high affinity receptor. *J Comp Neurol*, 373, 76-89.
- BOYE, S. M., GRANT, R. J. & CLARKE, P. B. 2001. Disruption of dopaminergic neurotransmission in nucleus accumbens core inhibits the locomotor stimulant effects of nicotine and D-amphetamine in rats. *Neuropharmacology*, 40, 792-805.
- BROCK, J. W., FAROOQUI, S., ROSS, K. & PRASAD, C. 1992. Localization of dopamine D2 receptor protein in rat brain using polyclonal antibody. *Brain Res*, 578, 244-50.
- BROG, J. S. & ZAHM, D. S. 1996. Morphologically distinct subpopulations of neurotensin-immunoreactive striatal neurons observed in rat following dopamine depletions and D2 receptor blockade project to the globus pallidus. *Neuroscience*, 74, 805-12.

- BUNZOW, J. R., VAN TOL, H. H., GRANDY, D. K., ALBERT, P., SALON, J., CHRISTIE, M., MACHIDA, C. A., NEVE, K. A. & CIVELLI, O. 1988. Cloning and expression of a rat D2 dopamine receptor cDNA. *Nature*, 336, 783-7.
- BURT, D. R., CREESE, I. & SNYDER, S. H. 1977. Antischizophrenic drugs: chronic treatment elevates dopamine receptor binding in brain. *Science*, 196, 326-8.
- CACEDA, R., KINKEAD, B. & NEMEROFF, C. B. 2007. Involvement of neuropeptide systems in schizophrenia: human studies. *Int Rev Neurobiol*, 78, 327-76.
- CADET, J. L., JAYANTHI, S., MCCOY, M. T., BEAUVAIS, G. & CAI, N. S. 2010. Dopamine D1 receptors, regulation of gene expression in the brain, and neurodegeneration. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 9, 526-38.
- CADOR, M., RIVET, J. M., KELLEY, A. E., LE MOAL, M. & STINUS, L. 1989. Substance P, neurotensin and enkephalin injections into the ventral tegmental area: comparative study on dopamine turnover in several forebrain structures. *Brain Res*, 486, 357-63.
- CAMI, J. & FARRE, M. 2003. Drug addiction. *N Engl J Med*, 349, 975-86.
- CARBON, M. & CORRELL, C. U. 2014. Thinking and acting beyond the positive: the role of the cognitive and negative symptoms in schizophrenia. *CNS Spectr*, 19 Suppl 1, 38-52; quiz 35-7, 53.
- CARLSSON, A. & LINDQVIST, M. 1963. Effect of Chlorpromazine or Haloperidol on Formation of 3methoxytyramine and Normetanephrine in Mouse Brain. *Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)*, 20, 140-4.
- CARRAWAY, R. & LEEMAN, S. E. 1973. The isolation of a new hypotensive peptide, neurotensin, from bovine hypothalami. *J Biol Chem*, 248, 6854-61.
- CARRAWAY, R. & LEEMAN, S. E. 1975. The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neurotensin. *J Biol Chem*, 250, 1907-11.
- CARRAWAY, R. & LEEMAN, S. E. 1976. Characterization of radioimmunoassayable neurotensin in the rat. Its differential distribution in the central nervous system, small intestine, and stomach. *J Biol Chem*, 251, 7045-52.
- CARVALHO, R. C., FUKUSHIRO, D. F., HELFER, D. C., CALLEGARO-FILHO, D., TROMBIN, T. F., ZANLORENCI, L. H., SANDAY, L., SILVA, R. H. & FRUSSA-FILHO, R. 2009. Long-term haloperidol treatment (but not risperidone) enhances addiction-related behaviors in mice: role of dopamine D2 receptors. *Addict Biol*, 14, 283-93.
- CASTEL, M. N., MORINO, P. & HOKFELT, T. 1993. Modulation of the neurotensin striatonigral pathway by D1 receptors. *Neuroreport*, 5, 281-4.

- CHALON, P., VITA, N., KAGHAD, M., GUILLEMOT, M., BONNIN, J., DELPECH, B., LE FUR, G., FERRARA, P. & CAPUT, D. 1996. Molecular cloning of a levocabastine-sensitive neurotensin binding site. *FEBS Lett*, 386, 91-4.
- CHASTAIN, L. G., QU, H., BOURKE, C. H., IUVONE, P. M., DOBNER, P. R., NEMEROFF, C. B. & KINKEAD, B. 2015. Striatal dopamine receptor plasticity in neurotensin deficient mice. *Behav Brain Res*, 280, 160-71.
- CHECLER, F., VINCENT, J. P. & KITABGI, P. 1986. Neuromedin N: high affinity interaction with brain neurotensin receptors and rapid inactivation by brain synaptic peptidases. *Eur J Pharmacol*, 126, 239-44.
- CHENG, Y. F. & PAALZOW, L. K. 1992. Linear pharmacokinetics of haloperidol in the rat. *Biopharm Drug Dispos*, 13, 69-76.
- CHOUINARD, G. & JONES, B. D. 1980. Neuroleptic-induced supersensitivity psychosis: clinical and pharmacologic characteristics. *Am J Psychiatry*, 137, 16-21.
- CHOUINARD, G., JONES, B. D. & ANNABLE, L. 1978. Neuroleptic-induced supersensitivity psychosis. *Am J Psychiatry*, 135, 1409-10.
- CHRISTIE, J. E., CROW, T. J. Turning behaviour as an index of the action of amphetamines and ephedrine on central dopamine-containing neurones. *Br J Pharmacol*, 43, 658-67.
- COLE, A. J., BHAT, R. V., PATT, C., WORLEY, P. F. & BARABAN, J. M. 1992. D1 dopamine receptor activation of multiple transcription factor genes in rat striatum. *J Neurochem*, 58, 1420-6.
- CREESE, I., BURT, D. R. & SNYDER, S. H. 1976. Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs. *Science*, 192, 481-3.
- CROW, T. J. 1980. Molecular pathology of schizophrenia: more than one disease process? *Br Med J*, 280, 66-8.
- DABERKOW, D. P., BROWN, H. D., BUNNER, K. D., KRANIOTIS, S. A., DOELLMAN, M. A., RAGOZZINO, M. E., GARRIS, P. A. & ROITMAN, M. F. 2013. Amphetamine paradoxically augments exocytotic dopamine release and phasic dopamine signals. *J Neurosci*, 33, 452-63.
- DAL TOSO, R., SOMMER, B., EWERT, M., HERB, A., PRITCHETT, D. B., BACH, A., SHIVERS, B. D. & SEEBURG, P. H. 1989. The dopamine D2 receptor: two molecular forms generated by alternative splicing. *EMBO J*, 8, 4025-34.
- DAS, S., GRUNERT, M., WILLIAMS, L. & VINCENT, S. R. 1997. NMDA and D1 receptors regulate the phosphorylation of CREB and the induction of c-fos in striatal neurons in primary culture. *Synapse*, 25, 227-33.

- DAVIS, K. L., KAHN, R. S., KO, G. & DAVIDSON, M. 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am J Psychiatry*, 148, 1474-86.
- DE WITTE, P., HEIDBREder, C. & GEWISS, M. 1992. Enhancement of mesolimbic rewarding brain stimulation by neurotensin injected into the accumbens, the subiculum, or the ventral tegmental area. *Ann N Y Acad Sci*, 668, 335-8.
- DEARRY, A., GINGRICH, J. A., FALARDEAU, P., FREMEAU, R. T., JR., BATES, M. D. & CARON, M. G. 1990. Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature*, 347, 72-6.
- DEFAGOT, M. C., MALCHIODI, E. L., VILLAR, M. J. & ANTONELLI, M. C. 1997. Distribution of D4 dopamine receptor in rat brain with sequence-specific antibodies. *Brain Res Mol Brain Res*, 45, 1-12.
- DIAZ-CABIALE, Z., FUXE, K., NARVAEZ, J. A., FINETTI, S., ANTONELLI, T., TANGANELLI, S. & FERRARO, L. 2002. Neurotensin-induced modulation of dopamine D2 receptors and their function in rat striatum: counteraction by a NTR1-like receptor antagonist. *Neuroreport*, 13, 763-6.
- DIXON, L. 1999. Dual diagnosis of substance abuse in schizophrenia: prevalence and impact on outcomes. *Schizophr Res*, 35 Suppl, S93-100.
- DOBNER, P. R. 2006. Neurotensin and pain modulation. *Peptides*, 27, 2405-14.
- EIDNE, K. A., TAYLOR, P. L., ZABAVNIK, J., SAUNDERS, P. T. & INGLIS, J. D. 1989. D2 receptor, a missing exon. *Nature*, 342, 865.
- EL HAGE, C., BEDARD, A. M. & SAMAHA, A. N. 2015. Antipsychotic treatment leading to dopamine supersensitivity persistently alters nucleus accumbens function. *Neuropharmacology*.
- ERICSON, H., RADESATER, A. C., SERVIN, E., MAGNUSSON, O. & MOHRINGE, B. 1996. Effects of intermittent and continuous subchronic administration of raclopride on motor activity, dopamine turnover and receptor occupancy in the rat. *Pharmacol Toxicol*, 79, 277-86.
- ERVIN, G. N., BIRKEMO, L. S., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1981. Neurotensin blocks certain amphetamine-induced behaviours. *Nature*, 291, 73-6.
- FALLON, J. H. 1988. Topographic organization of ascending dopaminergic projections. *Ann N Y Acad Sci*, 537, 1-9.
- FALLON, P., DURSUN, S. & DEAKIN, B. 2012. Drug-induced supersensitivity psychosis revisited: characteristics of relapse in treatment-compliant patients. *Ther Adv Psychopharmacol*, 2, 13-22.

- FALLON, P. & DURSUN, S. M. 2011. A naturalistic controlled study of relapsing schizophrenic patients with tardive dyskinesia and supersensitivity psychosis. *J Psychopharmacol*, 25, 755-62.
- FARDE, L., NORDSTROM, A. L., WIESEL, F. A., PAULI, S., HALLDIN, C. & SEDVALL, G. 1992. Positron emission tomographic analysis of central D1 and D2 dopamine receptor occupancy in patients treated with classical neuroleptics and clozapine. Relation to extrapyramidal side effects. *Arch Gen Psychiatry*, 49, 538-44.
- FARKAS, R. H., CHIEN, P. Y., NAKAJIMA, S. & NAKAJIMA, Y. 1997. Neurotensin and dopamine D2 activation oppositely regulate the same K⁺ conductance in rat midbrain dopaminergic neurons. *Neurosci Lett*, 231, 21-4.
- FASSIO, A., EVANS, G., GRISSHAMMER, R., BOLAM, J. P., MIMMACK, M. & EMSON, P. C. 2000. Distribution of the neurotensin receptor NTS1 in the rat CNS studied using an amino-terminal directed antibody. *Neuropharmacology*, 39, 1430-42.
- FATEMI, S. H. & FOLSOM, T. D. 2009. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. *Schizophr Bull*, 35, 528-48.
- FAWAZ, C. S., MARTEL, P., LEO, D. & TRUDEAU, L. E. 2009. Presynaptic action of neurotensin on dopamine release through inhibition of D(2) receptor function. *BMC Neurosci*, 10, 96.
- FEIFEL, D., MINOR, K. L., DULAWA, S. & SWERDLOW, N. R. 1997a. The effects of intra-accumbens neurotensin on sensorimotor gating. *Brain Res*, 760, 80-4.
- FEIFEL, D. & REZA, T. L. 1999. Effects of neurotensin administered into the ventral tegmental area on prepulse inhibition of startle. *Behav Brain Res*, 106, 189-93.
- FEIFEL, D., REZA, T. L. & ROBECK, S. L. 1997b. Pro-dopamine effects of neurotensin on sensorimotor gating deficits. *Peptides*, 18, 1457-60.
- FERRARO, L., ANTONELLI, T., O'CONNOR, W. T., FUXE, K., SOUBRIE, P. & TANGANELLI, S. 1998. The striatal neurotensin receptor modulates striatal and pallidal glutamate and GABA release: functional evidence for a pallidal glutamate-GABA interaction via the pallidal-subthalamic nucleus loop. *J Neurosci*, 18, 6977-89.
- FERRARO, L., BEGGIATO, S., BORROTO-ESCUELA, D. O., RAVANI, L., O'CONNOR, W. T., TOMASINI, M. C., BORELLI, A. C., AGNATI, L. F., ANTONELLI, T., TANGANELLI, S. & FUXE, K. 2014. Neurotensin NTS1-dopamine D2 receptor-receptor interactions in putative receptor heteromers: relevance for Parkinson's disease and schizophrenia. *Curr Protein Pept Sci*, 15, 681-90.
- FERRARO, L., O'CONNOR, W. T., ANTONELLI, T., FUXE, K. & TANGANELLI, S. 1997. Differential effects of intrastriatal neurotensin(1-13) and neurotensin(8-13) on striatal

- dopamine and pallidal GABA release. A dual-probe microdialysis study in the awake rat. *Eur J Neurosci*, 9, 1838-46.
- FERRARO, L., TOMASINI, M. C., FUXE, K., AGNATI, L. F., MAZZA, R., TANGANELLI, S. & ANTONELLI, T. 2007. Mesolimbic dopamine and cortico-accumbens glutamate afferents as major targets for the regulation of the ventral striato-pallidal GABA pathways by neurotensin peptides. *Brain Res Rev*, 55, 144-54.
- FITZGERALD, P. & DINAN, T. G. 2008. Prolactin and dopamine: what is the connection? A review article. *J Psychopharmacol*, 22, 12-9.
- FLECKENSTEIN, A. E., VOLZ, T. J., RIDDLE, E. L., GIBB, J. W. & HANSON, G. R. 2007. New insights into the mechanism of action of amphetamines. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 47, 681-98.
- FORD, C. P. 2014. The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission. *Neuroscience*, 282C, 13-22.
- FREY, P., LIS, M. & COWARD, D. M. 1988. Neurotensin concentrations in rat striatum and nucleus accumbens: Further studies of their regulation. *Neurochem Int*, 12, 33-8.
- FUKUSHIRO, D. F., CARVALHO RDE, C., RICARDO, V. P., ALVAREZ JDO, N., RIBEIRO, L. T. & FRUSSA-FILHO, R. 2008. Haloperidol (but not ziprasidone) withdrawal potentiates sensitization to the hyperlocomotor effect of cocaine in mice. *Brain Res Bull*, 77, 124-8.
- GAEBEL, W., RIESBECK, M., WOLWER, W., KLIMKE, A., EICKHOFF, M., VON WILMSDORFF, M., LEMKE, M., HEUSER, I., MAIER, W., HUFF, W., SCHMITT, A., SAUER, H., RIEDEL, M., KLINGBERG, S., KOPCKE, W., OHMANN, C., MOLLER, H. J. & GERMAN STUDY GROUP ON FIRST-EPIISODE, S. 2011. Relapse prevention in first-episode schizophrenia--maintenance vs intermittent drug treatment with prodrome-based early intervention: results of a randomized controlled trial within the German Research Network on Schizophrenia. *J Clin Psychiatry*, 72, 205-18.
- GAINETDINOV, R. R., PREMONT, R. T., BOHN, L. M., LEFKOWITZ, R. J. & CARON, M. G. 2004. Desensitization of G protein-coupled receptors and neuronal functions. *Annu Rev Neurosci*, 27, 107-44.
- GEISLER, S. & ZAHM, D. S. 2006. Neurotensin afferents of the ventral tegmental area in the rat: [1] re-examination of their origins and [2] responses to acute psychostimulant and antipsychotic drug administration. *Eur J Neurosci*, 24, 116-34.
- GENDRON, L., PERRON, A., PAYET, M. D., GALLO-PAYET, N., SARRET, P. & BEAUDET, A. 2004. Low-Affinity Neurotensin Receptor (NTS2) Signaling: Internalization-Dependent Activation of Extracellular Signal-Regulated Kinases 1/2. *Mol Pharmacol*, 66, 1421-30.

- GERFEN, C. R., HERKENHAM, M. & THIBAUT, J. 1987. The neostriatal mosaic: II. Patch- and matrix-directed mesostriatal dopaminergic and non-dopaminergic systems. *J Neurosci*, 7, 3915-34.
- GERMAN, C. L., HOONAKKER, A. H., FLECKENSTEIN, A. E. & HANSON, G. R. 2014. Mephedrone alters basal ganglia and limbic neurotensin systems. *J Neurochem*, 130, 402-7.
- GINOVART, N. & KAPUR, S. 2012. Role of dopamine D(2) receptors for antipsychotic activity. *Handb Exp Pharmacol*, 27-52.
- GIROS, B., MARTRES, M. P., SOKOLOFF, P. & SCHWARTZ, J. C. 1990. [Gene cloning of human dopaminergic D3 receptor and identification of its chromosome]. *C R Acad Sci III*, 311, 501-8.
- GLIMCHER, P. W., GIOVINO, A. A. & HOEBEL, B. G. 1987. Neurotensin self-injection in the ventral tegmental area. *Brain Res*, 403, 147-50.
- GLIMCHER, P. W., MARGOLIN, D. H., GIOVINO, A. A. & HOEBEL, B. G. 1984. Neurotensin: a new 'reward peptide'. *Brain Res*, 291, 119-24.
- GOEDERT, M., IVERSEN, S. D. & EMSON, P. C. 1985. The effects of chronic neuroleptic treatment on neurotensin-like immunoreactivity in the rat central nervous system. *Brain Res*, 335, 334-6.
- GOTTESMAN, I. I. 1991. *Schizophrenia Genesis*. W. H. Freeman, New York.
- GOVONI, S., HONG, J. S., YANG, H. Y. & COSTA, E. 1980. Increase of neurotensin content elicited by neuroleptics in nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther*, 215, 413-7.
- GRUBER, S. H., NOMIKOS, G. G. & MATHE, A. A. 2002. Effects of haloperidol and risperidone on neurotensin levels in brain regions and neurotensin efflux in the ventral striatum of the rat. *Neuropsychopharmacology*, 26, 595-604.
- GULLY, D., CANTON, M., BOIGEGRAIN, R., JEANJEAN, F., MOLIMARD, J. C., PONCELET, M., GUEUDET, C., HEAULME, M., LEYRIS, R., BROUARD, A. & ET AL. 1993. Biochemical and pharmacological profile of a potent and selective nonpeptide antagonist of the neurotensin receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 65-9.
- HAFNER, H., MAURER, K., LOFFLER, W. & RIECHER-ROSSLER, A. 1993. The influence of age and sex on the onset and early course of schizophrenia. *Br J Psychiatry*, 162, 80-6.
- HAMMER, R. A., LEEMAN, S. E., CARRAWAY, R. & WILLIAMS, R. H. 1980. Isolation of human intestinal neurotensin. *J Biol Chem*, 255, 2476-80.

- HANSON, G. R. & KEEFE, K. A. 1999. Dopamine D-1 regulation of caudate neurotensin mRNA in the presence or absence of the nigrostriatal dopamine pathway. *Brain Res Mol Brain Res*, 66, 111-21.
- HARRISON, P. J. 1999. The neuropathology of schizophrenia. A critical review of the data and their interpretation. *Brain*, 122 (Pt 4), 593-624.
- HARRISON, P. J. & OWEN, M. J. 2003. Genes for schizophrenia? Recent findings and their pathophysiological implications. *Lancet*, 361, 417-9.
- HECKERS, S. & KONRADI, C. 2002. Hippocampal neurons in schizophrenia. *J Neural Transm*, 109, 891-905.
- HERMANS-BORGMEYER, I., HAMPE, W., SCHINKE, B., METHNER, A., NYKJAER, A., SUSENS, U., FENGER, U., HERBARTH, B. & SCHALLER, H. C. 1998. Unique expression pattern of a novel mosaic receptor in the developing cerebral cortex. *Mech Dev*, 70, 65-76.
- HERZ, M. I., GLAZER, W. M., MOSTERT, M. A., SHEARD, M. A., SZYMANSKI, H. V., HAFEZ, H., MIRZA, M. & VANA, J. 1991. Intermittent vs maintenance medication in schizophrenia. Two-year results. *Arch Gen Psychiatry*, 48, 333-9.
- HOLTOM, P. E., NEEDHAM, P. L., BENNETT, G. W. & ASPLEY, S. 2000. Chronic, but not acute, dosing of antipsychotic drugs alters neurotensin binding in rat brain regions. *Br J Pharmacol*, 131, 990-6.
- HOWES, O. D. & KAPUR, S. 2009. The dopamine hypothesis of schizophrenia: version III--the final common pathway. *Schizophr Bull*, 35, 549-62.
- HUANG, N., ASE, A. R., HEBERT, C., VAN GELDER, N. M. & READER, T. A. 1997. Effects of chronic neuroleptic treatments on dopamine D1 and D2 receptors: homogenate binding and autoradiographic studies. *Neurochem Int*, 30, 277-90.
- HUANG, Q., ZHOU, D., CHASE, K., GUSELLA, J. F., ARONIN, N. & DIFIGLIA, M. 1992. Immunohistochemical localization of the D1 dopamine receptor in rat brain reveals its axonal transport, pre- and postsynaptic localization, and prevalence in the basal ganglia, limbic system, and thalamic reticular nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89, 11988-92.
- HUANG, W. & HANSON, G. R. 1997. Differential effect of haloperidol on release of neurotensin in extrapyramidal and limbic systems. *Eur J Pharmacol*, 332, 15-21.
- ICHIKAWA, J. & MELTZER, H. Y. 1992. The effect of chronic atypical antipsychotic drugs and haloperidol on amphetamine-induced dopamine release in vivo. *Brain Res*, 574, 98-104.

- IKEMOTO, S. 2007. Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. *Brain Res Rev*, 56, 27-78.
- IVERSEN, L. L., IVERSEN, S. D., BLOOM, F., DOUGLAS, C., BROWN, M. & VALE, W. 1978. Calcium-dependent release of somatostatin and neurotensin from rat brain in vitro. *Nature*, 273, 161-3.
- JACOBSEN, L., MADSEN, P., JACOBSEN, C., NIELSEN, M. S., GLIEMANN, J. & PETERSEN, C. M. 2001. Activation and functional characterization of the mosaic receptor SorLA/LR11. *J Biol Chem*, 276, 22788-96.
- JENNES, L., STUMPF, W. E. & KALIVAS, P. W. 1982. Neurotensin: topographical distribution in rat brain by immunohistochemistry. *J Comp Neurol*, 210, 211-24.
- JOHANSSON, O. & FOLAN, J. 1984. Ultrastructural immunocytochemical studies on CCK- and neurotensin-like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. *Med Biol*, 62, 318-22.
- JOHNSON, M., BUSH, L. G., GIBB, J. W. & HANSON, G. R. 1991. Blockade of the 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced changes in neurotensin and dynorphin A systems. *Eur J Pharmacol*, 193, 367-70.
- JOLLEY, A. G., HIRSCH, S. R., MORRISON, E., MCRINK, A. & WILSON, L. 1990. Trial of brief intermittent neuroleptic prophylaxis for selected schizophrenic outpatients: clinical and social outcome at two years. *BMJ*, 301, 837-42.
- JOMPHE, C., LEMELIN, P. L., OKANO, H., KOBAYASHI, K. & TRUDEAU, L. E. 2006. Bidirectional regulation of dopamine D2 and neurotensin NTS1 receptors in dopamine neurons. *Eur J Neurosci*, 24, 2789-800.
- JONES, C. A., WATSON, D. J. & FONE, K. C. 2011. Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol*, 164, 1162-94.
- KAHN, D., HOU-YU, A. & ZIMMERMAN, E. A. 1982. Localization of neurotensin in the hypothalamus. *Ann N Y Acad Sci*, 400, 117-31.
- KALIVAS, P. W., BURGESS, S. K., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1983. Behavioral and neurochemical effects of neurotensin microinjection into the ventral tegmental area of the rat. *Neuroscience*, 8, 495-505.
- KALIVAS, P. W. & DUFFY, P. 1990. Effect of acute and daily neurotensin and enkephalin treatments on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *J Neurosci*, 10, 2940-9.
- KALIVAS, P. W. & MILLER, J. S. 1984. Neurotensin neurons in the ventral tegmental area project to the medial nucleus accumbens. *Brain Res*, 300, 157-60.

- KALIVAS, P. W., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1982. Neuroanatomical site specific modulation of spontaneous motor activity by neurotensin. *Eur J Pharmacol*, 78, 471-4.
- KALIVAS, P. W., NEMEROFF, C. B. & PRANGE, A. J., JR. 1984. Neurotensin microinjection into the nucleus accumbens antagonizes dopamine-induced increase in locomotion and rearing. *Neuroscience*, 11, 919-30.
- KANE, J., HONIGFELD, G., SINGER, J. & MELTZER, H. 1988. Clozapine for the treatment-resistant schizophrenic. A double-blind comparison with chlorpromazine. *Arch Gen Psychiatry*, 45, 789-96.
- KAPUR, S. & SEEMAN, P. 2001. Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. *Am J Psychiatry*, 158, 360-9.
- KAPUR, S., VANDERSPEK, S. C., BROWNLEE, B. A. & NOBREGA, J. N. 2003. Antipsychotic dosing in preclinical models is often unrepresentative of the clinical condition: a suggested solution based on in vivo occupancy. *J Pharmacol Exp Ther*, 305, 625-31.
- KAPUR, S., ZIPURSKY, R., JONES, C., REMINGTON, G. & HOULE, S. 2000. Relationship between dopamine D(2) occupancy, clinical response, and side effects: a double-blind PET study of first-episode schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 157, 514-20.
- KAVANAGH, D. J., MCGRATH, J., SAUNDERS, J. B., DORE, G. & CLARK, D. 2002. Substance misuse in patients with schizophrenia: epidemiology and management. *Drugs*, 62, 743-55.
- KAY, S. R., FISZBEIN, A. & OPLER, L. A. 1987. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr Bull*, 13, 261-76.
- KELLEY, A. E., GAUTHIER, A. M. & LANG, C. G. 1989. Amphetamine microinjections into distinct striatal subregions cause dissociable effects on motor and ingestive behavior. *Behav Brain Res*, 35, 27-39.
- KELLY, P. H., SEVIOUR, P. W. & IVERSEN, S. D. 1975. Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain Res*, 94, 507-22.
- KESHAVAN, M. S. & HOGARTY, G. E. 1999. Brain maturational processes and delayed onset in schizophrenia. *Dev Psychopathol*, 11, 525-43.
- KESTLER, L. P., WALKER, E. & VEGA, E. M. 2001. Dopamine receptors in the brains of schizophrenia patients: a meta-analysis of the findings. *Behav Pharmacol*, 12, 355-71.

- KHAN, Z. U., GUTIERREZ, A., MARTIN, R., PENAFIEL, A., RIVERA, A. & DE LA CALLE, A. 2000. Dopamine D5 receptors of rat and human brain. *Neuroscience*, 100, 689-99.
- KILTS, C. D., ANDERSON, C. M., BISSETTE, G., ELY, T. D. & NEMEROFF, C. B. 1988. Differential effects of antipsychotic drugs on the neurotensin concentration of discrete rat brain nuclei. *Biochem Pharmacol*, 37, 1547-54.
- KINKEAD, B., SHAHID, S., OWENS, M. J. & NEMEROFF, C. B. 2000. Effects of acute and subchronic administration of typical and atypical antipsychotic drugs on the neurotensin system of the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther*, 295, 67-73.
- KISLAUSKIS, E., BULLOCK, B., MCNEIL, S. & DOBNER, P. R. 1988. The rat gene encoding neurotensin and neuromedin N. Structure, tissue-specific expression, and evolution of exon sequences. *J Biol Chem*, 263, 4963-8.
- KITABGI, P. 2006a. Differential processing of pro-neurotensin/neuromedin N and relationship to pro-hormone convertases. *Peptides*, 27, 2508-14.
- KITABGI, P. 2006b. Inactivation of neurotensin and neuromedin N by Zn metallopeptidases. *Peptides*, 27, 2515-22.
- KITABGI, P., CARRAWAY, R., VAN RIETSCHOTEN, J., GRANIER, C., MORGAT, J. L., MENEZ, A., LEEMAN, S. & FREYCHET, P. 1977. Neurotensin: specific binding to synaptic membranes from rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74, 1846-50.
- KITABGI, P., ROSTENE, W., DUSSAILLANT, M., SCHOTTE, A., LADURON, P. M. & VINCENT, J. P. 1987. Two populations of neurotensin binding sites in murine brain: discrimination by the antihistamine levocabastine reveals markedly different radioautographic distribution. *Eur J Pharmacol*, 140, 285-93.
- KORDOWER, J. H., OLANOW, C. W., DODIYA, H. B., CHU, Y., BEACH, T. G., ADLER, C. H., HALLIDAY, G. M. & BARTUS, R. T. 2013. Disease duration and the integrity of the nigrostriatal system in Parkinson's disease. *Brain*, 136, 2419-31.
- KOSCHATZKY, S., TSCHAMMER, N. & GMEINER, P. 2011. Cross-receptor interactions between dopamine D2L and neurotensin NTS1 receptors modulate binding affinities of dopaminergics. *ACS Chem Neurosci*, 2, 308-16.
- KRYSTAL, J. H., D'SOUZA, D. C., MATHALON, D., PERRY, E., BELGER, A. & HOFFMAN, R. 2003. NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia: toward a paradigm shift in medication development. *Psychopharmacology (Berl)*, 169, 215-33.
- KUCZENSKI, R. & SEGAL, D. S. 1999. Sensitization of amphetamine-induced stereotyped behaviors during the acute response. *J Pharmacol Exp Ther*, 288, 699-709.

- KUDO, S. & ISHIZAKI, T. 1999. Pharmacokinetics of haloperidol: an update. *Clin Pharmacokinet*, 37, 435-56.
- LADURON, P. M. 1995. Functional consequences of retrograde axonal transport of receptor-bound neurotensin. *Trends Pharmacol Sci*, 16, 338-43.
- LAITINEN, K., CRAWLEY, J. N., MEFFORD, I. N. & DE WITTE, P. 1990. Neurotensin and cholecystokinin microinjected into the ventral tegmental area modulate microdialysate concentrations of dopamine and metabolites in the posterior nucleus accumbens. *Brain Res*, 523, 342-6.
- LARUELLE, M., FRANKLE, W. G., NARENDHAN, R., KEGELES, L. S. & ABIDARGHAM, A. 2005. Mechanism of action of antipsychotic drugs: from dopamine D(2) receptor antagonism to glutamate NMDA facilitation. *Clin Ther*, 27 Suppl A, S16-24.
- LAWRIE, S. M. & ABUKMEIL, S. S. 1998. Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies. *Br J Psychiatry*, 172, 110-20.
- LEITH, N. J. & KUCZENSKI, R. 1982. Two dissociable components of behavioral sensitization following repeated amphetamine administration. *Psychopharmacology (Berl)*, 76, 310-5.
- LETTER, A. A., MATSUDA, L. A., MERCHANT, K. M., GIBB, J. W. & HANSON, G. R. 1987. Characterization of dopaminergic influence on striatal-nigral neurotensin systems. *Brain Res*, 422, 200-3.
- LEUCHT, S., CORVES, C., ARBTER, D., ENGEL, R. R., LI, C. & DAVIS, J. M. 2009. Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis. *Lancet*, 373, 31-41.
- LEUCHT, S., WAHLBECK, K., HAMANN, J. & KISSLING, W. 2003. New generation antipsychotics versus low-potency conventional antipsychotics: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 361, 1581-9.
- LEVESQUE, D., DIAZ, J., PILON, C., MARTRES, M. P., GIROS, B., SOUIL, E., SCHOTT, D., MORGAT, J. L., SCHWARTZ, J. C. & SOKOLOFF, P. 1992. Identification, characterization, and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[3H]hydroxy-N,N-di-n-propyl-2-aminotetralin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89, 8155-9.
- LEVEY, A. I., HERSCH, S. M., RYE, D. B., SUNAHARA, R. K., NIZNIK, H. B., KITT, C. A., PRICE, D. L., MAGGIO, R., BRANN, M. R. & CILIAK, B. J. 1993. Localization of D1 and D2 dopamine receptors in brain with subtype-specific antibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90, 8861-5.

- LEWIS, D. A. & LEVITT, P. 2002. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Annu Rev Neurosci*, 25, 409-32.
- LEYTON, M., DAGHER, A., BOILEAU, I., CASEY, K., BAKER, G. B., DIKSIC, M., GUNN, R., YOUNG, S. N. & BENKELFAT, C. 2004. Decreasing amphetamine-induced dopamine release by acute phenylalanine/tyrosine depletion: A PET/[11C]raclopride study in healthy men. *Neuropsychopharmacology*, 29, 427-32.
- LI, X. M., FERRARO, L., TANGANELLI, S., O'CONNOR, W. T., HASSELROT, U., UNGERSTEDT, U. & FUXE, K. 1995. Neurotensin peptides antagonistically regulate postsynaptic dopamine D2 receptors in rat nucleus accumbens: a receptor binding and microdialysis study. *J Neural Transm Gen Sect*, 102, 125-37.
- LIANG, Y., BOULES, M., LI, Z., WILLIAMS, K., MIURA, T., OLIVEROS, A. & RICHELSON, E. 2010. Hyperactivity of the dopaminergic system in NTS1 and NTS2 null mice. *Neuropharmacology*, 58, 1199-205.
- LIEBERMAN, J. A., STROUP, T. S., MCEVOY, J. P., SWARTZ, M. S., ROSENHECK, R. A., PERKINS, D. O., KEEFE, R. S., DAVIS, S. M., DAVIS, C. E., LEBOWITZ, B. D., SEVERE, J., HSIAO, J. K. & CLINICAL ANTIPSYCHOTIC TRIALS OF INTERVENTION EFFECTIVENESS, I. 2005. Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *N Engl J Med*, 353, 1209-23.
- LIPSKA, B. K. & WEINBERGER, D. R. 2000. To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology*, 23, 223-39.
- LOGUE, S. F. & GOULD, T. J. 2014. The neural and genetic basis of executive function: attention, cognitive flexibility, and response inhibition. *Pharmacol Biochem Behav*, 123, 45-54.
- LORANGER, A. W. 1984. Sex difference in age at onset of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry*, 41, 157-61.
- MACKENZIE, R. G. & ZIGMOND, M. J. 1985. Chronic neuroleptic treatment increases D-2 but not D-1 receptors in rat striatum. *Eur J Pharmacol*, 113, 159-65.
- MAKI, P., VEIJOLA, J., JONES, P. B., MURRAY, G. K., KOPONEN, H., TIENARI, P., MIETTUNEN, J., TANSKANEN, P., WAHLBERG, K. E., KOSKINEN, J., LAURONEN, E. & ISOHANNI, M. 2005. Predictors of schizophrenia--a review. *Br Med Bull*, 73-74, 1-15.
- MARIN, C. & CHASE, T. N. 1993. Dopamine D1 receptor stimulation but not dopamine D2 receptor stimulation attenuates haloperidol-induced behavioral supersensitivity and receptor up-regulation. *Eur J Pharmacol*, 231, 191-6.

- MASAND, P. S., ROCA, M., TURNER, M. S. & KANE, J. M. 2009. Partial adherence to antipsychotic medication impacts the course of illness in patients with schizophrenia: a review. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry*, 11, 147-54.
- MATSUYAMA, S., HIGASHI, H., MAEDA, H., GREENGARD, P. & NISHI, A. 2002. Neurotensin regulates DARPP-32 thr34 phosphorylation in neostriatal neurons by activation of dopamine D1-type receptors. *J Neurochem*, 81, 325-34.
- MAZELLA, J., CHABRY, J., KITABGI, P. & VINCENT, J. P. 1988. Solubilization and characterization of active neurotensin receptors from mouse brain. *J Biol Chem*, 263, 144-9.
- MAZELLA, J., ZSURGER, N., NAVARRO, V., CHABRY, J., KAGHAD, M., CAPUT, D., FERRARA, P., VITA, N., GULLY, D., MAFFRAND, J. P. & VINCENT, J. P. 1998. The 100-kDa neurotensin receptor is gp95/sortilin, a non-G-protein-coupled receptor. *J Biol Chem*, 273, 26273-6.
- MCCORMICK, S. E. & STOESSL, A. J. 2003. Central administration of the neurotensin receptor antagonist SR48692 attenuates vacuous chewing movements in a rodent model of tardive dyskinesia. *Neuroscience*, 119, 547-55.
- MCCREADIE, R. G., DINGWALL, J. M., WILES, D. H. & HEYKANTS, J. J. 1980. Intermittent pimozide versus fluphenazine decanoate as maintenance therapy in chronic schizophrenia. *Br J Psychiatry*, 137, 510-7.
- MERCHANT, K. M., DOBIE, D. J. & DORSA, D. M. 1992a. Expression of the proneurotensin gene in the rat brain and its regulation by antipsychotic drugs. *Ann N Y Acad Sci*, 668, 54-69.
- MERCHANT, K. M., DOBIE, D. J., FILLOUX, F. M., TOTZKE, M., ARAVAGIRI, M. & DORSA, D. M. 1994. Effects of chronic haloperidol and clozapine treatment on neurotensin and c-fos mRNA in rat neostriatal subregions. *J Pharmacol Exp Ther*, 271, 460-71.
- MERCHANT, K. M., DOBNER, P. R. & DORSA, D. M. 1992b. Differential effects of haloperidol and clozapine on neurotensin gene transcription in rat neostriatum. *J Neurosci*, 12, 652-63.
- MESULAM, M. M. 1998. From sensation to cognition. *Brain*, 121 (Pt 6), 1013-52.
- MEYER, J. & QUENZER, L. 2005. *Psychopharmacology: Drugs, the Brain and Behavior*. Sunderland, Massachusetts, Sinauer Associates.
- MINAMINO, N., KANGAWA, K. & MATSUO, H. 1984. Neuromedin N: a novel neurotensin-like peptide identified in porcine spinal cord. *Biochem Biophys Res Commun*, 122, 542-9.

- MISSALE, C., NASH, S. R., ROBINSON, S. W., JABER, M. & CARON, M. G. 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, 78, 189-225.
- MOGHADDAM, B. & JAVITT, D. 2012. From revolution to evolution: the glutamate hypothesis of schizophrenia and its implication for treatment. *Neuropsychopharmacology*, 37, 4-15.
- MONTANARO, N., DALL'OLIO, R., GANDOLFI, O. & VACCHERI, A. 1981. Behavioral supersensitivity to methamphetamine following chronic treatment with (-)-sulpiride in the rat. *Boll Soc Ital Biol Sper*, 57, 401-6.
- MONTANARO, N., DALL'OLIO, R., GANDOLFI, O. & VACCHERI, A. 1982. Differential enhancement of behavioral sensitivity to apomorphine following chronic treatment of rats with (-)-sulpiride and haloperidol. *Eur J Pharmacol*, 81, 1-9.
- MORIN, A. J. & BEAUDET, A. 1998. Origin of the neurotensinergic innervation of the rat basal forebrain studied by retrograde transport of cholera toxin. *J Comp Neurol*, 391, 30-41.
- MORRIS, N. J., ROSS, S. A., LANE, W. S., MOESTRUP, S. K., PETERSEN, C. M., KELLER, S. R. & LIENHARD, G. E. 1998. Sortilin is the major 110-kDa protein in GLUT4 vesicles from adipocytes. *J Biol Chem*, 273, 3582-7.
- MORRISSETTE, D. A. & STAHL, S. M. 2011. Affective symptoms in schizophrenia. *Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies*, 8, 3-9.
- MOTOI, Y., AIZAWA, T., HAGA, S., NAKAMURA, S., NAMBA, Y. & IKEDA, K. 1999. Neuronal localization of a novel mosaic apolipoprotein E receptor, LR11, in rat and human brain. *Brain Res*, 833, 209-15.
- MUENCH, J. & HAMER, A. M. 2010. Adverse effects of antipsychotic medications. *Am Fam Physician*, 81, 617-22.
- MULLER, P. & SEEMAN, P. 1977. Brain neurotransmitter receptors after long-term haloperidol: dopamine, acetylcholine, serotonin, alpha-noradrenergic and naloxone receptors. *Life Sci*, 21, 1751-8.
- MYERS, B., LEVANT, B., BISSETTE, G. & NEMEROFF, C. B. 1992. Pharmacological specificity of the increase in neurotensin concentrations after antipsychotic drug treatment. *Brain Res*, 575, 325-8.
- NEMEROFF, C. B., BISSETTE, G., PRANGE, A. J., JR., LOOSEN, P. T., BARLOW, T. S. & LIPTON, M. A. 1977. Neurotensin: central nervous system effects of a hypothalamic peptide. *Brain Res*, 128, 485-96.

- NICOT, A., ROSTENE, W. & BEROD, A. 1994. Neurotensin receptor expression in the rat forebrain and midbrain: a combined analysis by in situ hybridization and receptor autoradiography. *J Comp Neurol*, 341, 407-19.
- O'MALLEY, K. L., HARMON, S., TANG, L. & TODD, R. D. 1992. The rat dopamine D4 receptor: sequence, gene structure, and demonstration of expression in the cardiovascular system. *New Biol*, 4, 137-46.
- OBESO, J. A., RODRIGUEZ-OROZ, M. C., RODRIGUEZ, M., ARBIZU, J. & GIMENEZ-AMAYA, J. M. 2002. The basal ganglia and disorders of movement: pathophysiological mechanisms. *News Physiol Sci*, 17, 51-5.
- OWEN, M. J., CRADDOCK, N. & O'DONOVAN, M. C. 2005. Schizophrenia: genes at last? *Trends Genet*, 21, 518-25.
- PANAYI, F., COLUSSI-MAS, J., LAMBAS-SENAS, L., RENAUD, B., SCARNA, H. & BEROD, A. 2005. Endogenous neurotensin in the ventral tegmental area contributes to amphetamine behavioral sensitization. *Neuropsychopharmacology*, 30, 871-9.
- PAXINOS, G. & WATSON, C. 1986. *The rat brain in stereotaxic coordinates*, Sydney ; Orlando, Academic Press.
- PELAPRAT, D. 2006. Interactions between neurotensin receptors and G proteins. *Peptides*, 27, 2476-87.
- PERALA, J., SUVISAARI, J., SAARNI, S. I., KUOPPASALMI, K., ISOMETSA, E., PIKOLA, S., PARTONEN, T., TUULIO-HENRIKSSON, A., HINTIKKA, J., KIESEPPA, T., HARKANEN, T., KOSKINEN, S. & LONNQVIST, J. 2007. Lifetime prevalence of psychotic and bipolar I disorders in a general population. *Arch Gen Psychiatry*, 64, 19-28.
- PEZZE, M. A. & FELDON, J. 2004. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol*, 74, 301-20.
- PICKEL, V. M., CHAN, J., DELLE DONNE, K. T., BOUDIN, H., PELAPRAT, D. & ROSTENE, W. 2001. High-affinity neurotensin receptors in the rat nucleus accumbens: subcellular targeting and relation to endogenous ligand. *J Comp Neurol*, 435, 142-55.
- PONCELET, M., GUEUDET, C., GULLY, D., SOUBRIE, P. & LE FUR, G. 1994. Turning behavior induced by intrastriatal injection of neurotensin in mice: sensitivity to non-peptide neurotensin antagonists. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 349, 57-60.
- PRIMUS, R. J., THURKAUF, A., XU, J., YEVICH, E., MCINERNEY, S., SHAW, K., TALLMAN, J. F. & GALLAGHER, D. W. 1997. II. Localization and characterization of dopamine D4 binding sites in rat and human brain by use of the novel, D4 receptor-selective ligand [3H]NGD 94-1. *J Pharmacol Exp Ther*, 282, 1020-7.

- RADKE, J. M., OWENS, M. J., RITCHIE, J. C. & NEMEROFF, C. B. 1998. Atypical antipsychotic drugs selectively increase neurotensin efflux in dopamine terminal regions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 11462-4.
- RAPOPORT, J. L., ADDINGTON, A. M., FRANGOU, S. & PSYCH, M. R. 2005. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*, 10, 434-49.
- READ, J., VAN OS, J., MORRISON, A. P. & ROSS, C. A. 2005. Childhood trauma, psychosis and schizophrenia: a literature review with theoretical and clinical implications. *Acta Psychiatr Scand*, 112, 330-50.
- REMINGTON, G., SEEMAN, P., FEINGOLD, A., MANN, S., SHAMMI, C. & KAPUR, S. 2011. "Extended" antipsychotic dosing in the maintenance treatment of schizophrenia: a double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Psychiatry*, 72, 1042-8.
- RICHTAND, N. M., WELGE, J. A., LOGUE, A. D., KECK, P. E., JR., STRAKOWSKI, S. M. & MCNAMARA, R. K. 2007. Dopamine and serotonin receptor binding and antipsychotic efficacy. *Neuropsychopharmacology*, 32, 1715-26.
- RIVEST, R., JOLICOEUR, F. B. & MARSDEN, C. A. 1991. Neurotensin causes a greater increase in the metabolism of dopamine in the accumbens than in the striatum in vivo. *Neuropharmacology*, 30, 25-33.
- ROBERTSON, S. D., MATTHIES, H. J. & GALLI, A. 2009. A closer look at amphetamine-induced reverse transport and trafficking of the dopamine and norepinephrine transporters. *Mol Neurobiol*, 39, 73-80.
- ROBLEDO, P., MALDONADO, R. & KOOB, G. F. 1993. Neurotensin injected into the nucleus accumbens blocks the psychostimulant effects of cocaine but does not attenuate cocaine self-administration in the rat. *Brain Res*, 622, 105-12.
- ROSTENE, W. H. & ALEXANDER, M. J. 1997. Neurotensin and neuroendocrine regulation. *Front Neuroendocrinol*, 18, 115-73.
- SAMAHA, A. N. 2014. Can antipsychotic treatment contribute to drug addiction in schizophrenia? *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 52, 9-16.
- SAMAHA, A. N., RECKLESS, G. E., SEEMAN, P., DIWAN, M., NOBREGA, J. N. & KAPUR, S. 2008. Less is more: antipsychotic drug effects are greater with transient rather than continuous delivery. *Biol Psychiatry*, 64, 145-52.
- SAMAHA, A. N., SEEMAN, P., STEWART, J., RAJABI, H. & KAPUR, S. 2007. "Breakthrough" dopamine supersensitivity during ongoing antipsychotic treatment leads to treatment failure over time. *J Neurosci*, 27, 2979-86.
- SARRET, P., KRZYWKOWSKI, P., SEGAL, L., NIELSEN, M. S., PETERSEN, C. M., MAZELLA, J., STROH, T. & BEAUDET, A. 2003a. Distribution of NTS3

- receptor/sortilin mRNA and protein in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 461, 483-505.
- SARRET, P., PERRON, A., STROH, T. & BEAUDET, A. 2003b. Immunohistochemical distribution of NTS2 neurotensin receptors in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 461, 520-38.
- SCHOTTE, A. & LEYSEN, J. E. 1989. Autoradiographic evidence for the localization of high affinity neurotensin binding sites on dopaminergic nerve terminals in the nigrostriatal and mesolimbic pathways in rat brain. *J Chem Neuroanat*, 2, 253-7.
- SCHOTTE, A., LEYSEN, J. E. & LADURON, P. M. 1986. Evidence for a displaceable non-specific [³H]neurotensin binding site in rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 333, 400-5.
- SEE, R. E., LYNCH, A. M., ARAVAGIRI, M., NEMEROFF, C. B. & OWENS, M. J. 1995. Chronic haloperidol-induced changes in regional dopamine release and metabolism and neurotensin content in rats. *Brain Res*, 704, 202-9.
- SEE, R. E., TOGA, A. W. & ELLISON, G. 1990. Autoradiographic analysis of regional alterations in brain receptors following chronic administration and withdrawal of typical and atypical neuroleptics in rats. *J Neural Transm Gen Sect*, 82, 93-109.
- SEEMAN, P. 2002. Atypical antipsychotics: mechanism of action. *Can J Psychiatry*, 47, 27-38.
- SEEMAN, P. 2008. All Psychotic Roads Lead to Increased Dopamine D2High Receptors: A Perspective. *Clinical Schizophrenia & Related Psychoses*, 1, 351-355.
- SEEMAN, P., LEE, T., CHAU-WONG, M. & WONG, K. 1976. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature*, 261, 717-9.
- SEEMAN, P., WEINSHENKER, D., QUIRION, R., SRIVASTAVA, L. K., BHARDWAJ, S. K., GRANDY, D. K., PREMONT, R. T., SOTNIKOVA, T. D., BOKSA, P., ELGHUNDI, M., O'DOWD B, F., GEORGE, S. R., PERREAULT, M. L., MANNISTO, P. T., ROBINSON, S., PALMITER, R. D. & TALLERICO, T. 2005. Dopamine supersensitivity correlates with D2High states, implying many paths to psychosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 102, 3513-8.
- SEROOGY, K. B., MEHTA, A. & FALLON, J. H. 1987. Neurotensin and cholecystokinin coexistence within neurons of the ventral mesencephalon: projections to forebrain. *Exp Brain Res*, 68, 277-89.
- SEUTIN, V., MASSOTTE, L. & DRESSE, A. 1989. Electrophysiological effects of neurotensin on dopaminergic neurones of the ventral tegmental area of the rat in vitro. *Neuropharmacology*, 28, 949-54.

- SHENTON, M. E., DICKEY, C. C., FRUMIN, M. & MCCARLEY, R. W. 2001. A review of MRI findings in schizophrenia. *Schizophr Res*, 49, 1-52.
- SHI, W. S. & BUNNEY, B. S. 1990. Neurotensin attenuates dopamine D2 agonist quinpirole-induced inhibition of midbrain dopamine neurons. *Neuropharmacology*, 29, 1095-7.
- SIMPSON, E. H., KELLENDONK, C. & KANDEL, E. 2010. A possible role for the striatum in the pathogenesis of the cognitive symptoms of schizophrenia. *Neuron*, 65, 585-96.
- SIMPSON, G. M., LEE, J. H., ZOUBOK, B. & GARDOS, G. 1979. A rating scale for tardive dyskinesia. *Psychopharmacology (Berl)*, 64, 171-9.
- SINGH, N. A., BUSH, L. G., GIBB, J. W. & HANSON, G. R. 1992. Role of N-methyl-D-aspartate receptors in dopamine D1-, but not D2-, mediated changes in striatal and accumbens neurotensin systems. *Brain Res*, 571, 260-4.
- SMITH, R. C. & DAVIS, J. M. 1975. Behavioral supersensitivity to apomorphine and amphetamine after chronic high dose haloperidol treatment. *Psychopharmacol Commun*, 1, 285-93.
- SOKOLOFF, P., GIROS, B., MARTRES, M. P., BOUTHENET, M. L. & SCHWARTZ, J. C. 1990. Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature*, 347, 146-51.
- SOUAZE, F. & FORGEZ, P. 2006. Molecular and cellular regulation of neurotensin receptor under acute and chronic agonist stimulation. *Peptides*, 27, 2493-501.
- ST-GELAIS, F., JOMPHE, C. & TRUDEAU, L. E. 2006. The role of neurotensin in central nervous system pathophysiology: what is the evidence? *J Psychiatry Neurosci*, 31, 229-45.
- ST-GELAIS, F., LEGAULT, M., BOURQUE, M. J., ROMPRE, P. P. & TRUDEAU, L. E. 2004. Role of calcium in neurotensin-evoked enhancement in firing in mesencephalic dopamine neurons. *J Neurosci*, 24, 2566-74.
- STEINBERG, R., BRUN, P., FOURNIER, M., SOUILHAC, J., RODIER, D., MONS, G., TERRANOVA, J. P., LE FUR, G. & SOUBRIE, P. 1994. SR 48692, a non-peptide neurotensin receptor antagonist differentially affects neurotensin-induced behaviour and changes in dopaminergic transmission. *Neuroscience*, 59, 921-9.
- STOESSL, A. J. 1995. Effects of neurotensin in a rodent model of tardive dyskinesia. *Neuropharmacology*, 34, 457-62.
- STONE, J. M., MORRISON, P. D. & PILOWSKY, L. S. 2007. Glutamate and dopamine dysregulation in schizophrenia--a synthesis and selective review. *J Psychopharmacol*, 21, 440-52.

- STOWE, Z. N., LANDRY, J. C., TANG, Z., OWENS, M. J., KINKEAD, B. & NEMEROFF, C. B. 2005. The electrophysiological effects of neurotensin on spontaneously active neurons in the nucleus accumbens: an in vivo study. *Synapse*, 58, 165-72.
- SUNAHARA, R. K., GUAN, H. C., O'DOWD, B. F., SEEMAN, P., LAURIER, L. G., NG, G., GEORGE, S. R., TORCHIA, J., VAN TOL, H. H. & NIZNIK, H. B. 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D5 receptor with higher affinity for dopamine than D1. *Nature*, 350, 614-9.
- SUZUKI, T., KANAHARA, N., YAMANAKA, H., TAKASE, M., KIMURA, H., WATANABE, H. & IYO, M. 2015. Dopamine supersensitivity psychosis as a pivotal factor in treatment-resistant schizophrenia. *Psychiatry Res*, 227, 278-82.
- SWARTZ, M. S., WAGNER, H. R., SWANSON, J. W., STROUP, T. S., MCEVOY, J. P., CANIVE, J. M., MILLER, D. D., REIMHERR, F., MCGEE, M., KHAN, A., VAN DORN, R., ROSENHECK, R. A. & LIEBERMAN, J. A. 2006. Substance use in persons with schizophrenia: baseline prevalence and correlates from the NIMH CATIE study. *J Nerv Ment Dis*, 194, 164-72.
- SWERDLOW, N. R., BRAFF, D. L., GEYER, M. A. & KOOB, G. F. 1986. Central dopamine hyperactivity in rats mimics abnormal acoustic startle response in schizophrenics. *Biol Psychiatry*, 21, 23-33.
- SZIGETHY, E. & BEAUDET, A. 1989. Correspondence between high affinity 125I-neurotensin binding sites and dopaminergic neurons in the rat substantia nigra and ventral tegmental area: a combined radioautographic and immunohistochemical light microscopic study. *J Comp Neurol*, 279, 128-37.
- TANAKA, K., MASU, M. & NAKANISHI, S. 1990. Structure and functional expression of the cloned rat neurotensin receptor. *Neuron*, 4, 847-54.
- TANGANELLI, S., O'CONNOR, W. T., FERRARO, L., BIANCHI, C., BEANI, L., UNGERSTEDT, U. & FUXE, K. 1994. Facilitation of GABA release by neurotensin is associated with a reduction of dopamine release in rat nucleus accumbens. *Neuroscience*, 60, 649-57.
- TAUSCHER, J. & KAPUR, S. 2001. Choosing the right dose of antipsychotics in schizophrenia: lessons from neuroimaging studies. *CNS Drugs*, 15, 671-8.
- TAYLOR, M. D., DE CEBALLOS, M. L., JENNER, P. & MARSDEN, C. D. 1991. Acute effects of D-1 and D-2 dopamine receptor agonist and antagonist drugs on basal ganglia [Met5]- and [Leu5]-enkephalin and neurotensin content in the rat. *Biochem Pharmacol*, 41, 1385-91.
- THIBAUT, D., ALBERT, P. R., PINEYRO, G. & TRUDEAU, L. E. 2011. Neurotensin triggers dopamine D2 receptor desensitization through a protein kinase C and beta-arrestin1-dependent mechanism. *J Biol Chem*, 286, 9174-84.

- TIBERI, M., JARVIE, K. R., SILVIA, C., FALARDEAU, P., GINGRICH, J. A., GODINOT, N., BERTRAND, L., YANG-FENG, T. L., FREMEAU, R. T., JR. & CARON, M. G. 1991. Cloning, molecular characterization, and chromosomal assignment of a gene encoding a second D1 dopamine receptor subtype: differential expression pattern in rat brain compared with the D1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 88, 7491-5.
- TURRONE, P., REMINGTON, G., KAPUR, S. & NOBREGA, J. N. 2003. Differential effects of within-day continuous vs. transient dopamine D2 receptor occupancy in the development of vacuous chewing movements (VCMs) in rats. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1433-9.
- UHL, G. R., GOODMAN, R. R. & SNYDER, S. H. 1979. Neurotensin-containing cell bodies, fibers and nerve terminals in the brain stem of the rat: immunohistochemical mapping. *Brain Res*, 167, 77-91.
- USIELLO, A., BAIK, J. H., ROUGE-PONT, F., PICETTI, R., DIERICH, A., LEMEUR, M., PIAZZA, P. V. & BORRELLI, E. 2000. Distinct functions of the two isoforms of dopamine D2 receptors. *Nature*, 408, 199-203.
- VAN OS, J. & KAPUR, S. 2009. Schizophrenia. *Lancet*, 374, 635-45.
- VAN ROSSUM, J. M. 1966. The significance of dopamine-receptor blockade for the mechanism of action of neuroleptic drugs. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 160, 492-4.
- VAN TOL, H. H., BUNZOW, J. R., GUAN, H. C., SUNAHARA, R. K., SEEMAN, P., NIZNIK, H. B. & CIVELLI, O. 1991. Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, 350, 610-4.
- VELDHUIZEN, S., URBANOSKI, K. & CAIRNEY, J. 2007. Geographical variation in the prevalence of problematic substance use in Canada. *Can J Psychiatry*, 52, 426-33.
- VINCENT, J. P., MAZELLA, J. & KITABGI, P. 1999. Neurotensin and neurotensin receptors. *Trends Pharmacol Sci*, 20, 302-9.
- VITA, N., LAURENT, P., LEFORT, S., CHALON, P., DUMONT, X., KAGHAD, M., GULLY, D., LE FUR, G., FERRARA, P. & CAPUT, D. 1993. Cloning and expression of a complementary DNA encoding a high affinity human neurotensin receptor. *FEBS Lett*, 317, 139-42.
- VITA, N., OURY-DONAT, F., CHALON, P., GUILLEMOT, M., KAGHAD, M., BACHY, A., THURNEYSSSEN, O., GARCIA, S., POINOT-CHAZEL, C., CASELLAS, P., KEANE, P., LE FUR, G., MAFFRAND, J. P., SOUBRIE, P., CAPUT, D. & FERRARA, P. 1998. Neurotensin is an antagonist of the human neurotensin NT2 receptor expressed in Chinese hamster ovary cells. *Eur J Pharmacol*, 360, 265-72.
- VON EULER, G. 1991. Biochemical characterization of the intramembrane interaction between neurotensin and dopamine D2 receptors in the rat brain. *Brain Res*, 561, 93-8.

- VON EULER, G., MAILLEUX, P., VANDERHAEGHEN, J. J. & FUXE, K. 1990. Neurotensin reduces the affinity of dopamine D2 receptors in membranes from post mortem human caudate-putamen. *Neurosci Lett*, 109, 325-30.
- VONVOIGTLANDER, P. F., LOSEY, E. G. & TRIEZENBERG, H. J. 1975. Increased sensitivity to dopaminergic agents after chronic neuroleptic treatment. *J Pharmacol Exp Ther*, 193, 88-94.
- WADENBERG, M. L., KAPUR, S., SOLIMAN, A., JONES, C. & VACCARINO, F. 2000. Dopamine D2 receptor occupancy predicts catalepsy and the suppression of conditioned avoidance response behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 150, 422-9.
- WADENBERG, M. L., SOLIMAN, A., VANDERSPEK, S. C. & KAPUR, S. 2001. Dopamine D(2) receptor occupancy is a common mechanism underlying animal models of antipsychotics and their clinical effects. *Neuropsychopharmacology*, 25, 633-41.
- WAGSTAFF, J. D., GIBB, J. W. & HANSON, G. R. 1996. Dopamine D2-receptors regulate neurotensin release from nucleus accumbens and striatum as measured by in vivo microdialysis. *Brain Res*, 721, 196-203.
- WEINBERGER, D. R. 1999. Cell biology of the hippocampal formation in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 45, 395-402.
- WERKMAN, T. R., KRUSE, C. G., NIEVELSTEIN, H., LONG, S. K. & WADMAN, W. J. 2000. Neurotensin attenuates the quinpirole-induced inhibition of the firing rate of dopamine neurons in the rat substantia nigra pars compacta and the ventral tegmental area. *Neuroscience*, 95, 417-23.
- WIDERLOV, E., LINDSTROM, L. H., BESEV, G., MANBERG, P. J., NEMEROFF, C. B., BREESE, G. R., KIZER, J. S. & PRANGE, A. J., JR. 1982. Subnormal CSF levels of neurotensin in a subgroup of schizophrenic patients: normalization after neuroleptic treatment. *Am J Psychiatry*, 139, 1122-6.
- WILMOT, C. A. & SZCZEPANIK, A. M. 1989. Effects of acute and chronic treatments with clozapine and haloperidol on serotonin (5-HT₂) and dopamine (D₂) receptors in the rat brain. *Brain Res*, 487, 288-98.
- WISE, R. A. 2009. Roles for nigrostriatal--not just mesocorticolimbic--dopamine in reward and addiction. *Trends Neurosci*, 32, 517-24.
- ZAHM, D. S. 1992. Subsets of neurotensin-immunoreactive neurons revealed following antagonism of the dopamine-mediated suppression of neurotensin immunoreactivity in the rat striatum. *Neuroscience*, 46, 335-50.
- ZAHM, D. S. & HEIMER, L. 1988. Ventral striatopallidal parts of the basal ganglia in the rat: I. Neurochemical compartmentation as reflected by the distributions of neurotensin and substance P immunoreactivity. *J Comp Neurol*, 272, 516-35.

ZAHM, D. S. & HEIMER, L. 1990. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol*, 302, 437-46.

ZHOU, Q. Y., GRANDY, D. K., THAMBI, L., KUSHNER, J. A., VAN TOL, H. H., CONE, R., PRIBNOW, D., SALON, J., BUNZOW, J. R. & CIVELLI, O. 1990. Cloning and expression of human and rat D1 dopamine receptors. *Nature*, 347, 76-80.