



**HAL**  
open science

# Stratégie de traitement visant les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> dans un modèle animal de schizophrénie innovant

Caroline Lahogue

## ► To cite this version:

Caroline Lahogue. Stratégie de traitement visant les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> dans un modèle animal de schizophrénie innovant. Médecine humaine et pathologie. Normandie Université, 2023. Français. NNT : 2023NORMC433 . tel-04621417

**HAL Id: tel-04621417**

**<https://theses.hal.science/tel-04621417>**

Submitted on 24 Jun 2024

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

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

# THÈSE

Pour obtenir le diplôme de doctorat

Spécialité **SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTE**

Préparée au sein de l'**Université de Caen Normandie**

## Stratégie de traitement visant les récepteurs 5-HT<sub>6</sub> dans un modèle animal de schizophrénie innovant

Présentée et soutenue par

**CAROLINE LAHOGUE**

**Thèse soutenue le 19/12/2023**

devant le jury composé de :

MME CARINE BECAMEL	Maître de conférences HDR - UNIVERSITE DE MONTPELLIER	Rapporteur du jury
M. CYRILLE VAILLEND	Directeur de recherche - institut des Neurosciences Paris-Saclay - NeuroPSI CNRS	Rapporteur du jury
MME SONIA DOLLFUS	Professeur des universités PraticienHosp - CHU de Caen	Membre du jury
M. MICKAEL NAASSILA	Professeur des universités - UNIVERSITE AMIENS PICARDIE JULES VERNE	Président du jury
MME VALENTINE BOUET	Maître de conférences HDR - Université de Caen Normandie	Directeur de thèse
M. JEAN-MARIE BILLARD	Directeur de recherche - Université de Caen Normandie	Co-directeur de thèse

Thèse dirigée par **VALENTINE BOUET** (Mobilités : vieillissement, pathologie, santé - COMETE) et **JEAN-MARIE BILLARD** (Mobilités : vieillissement, pathologie, santé - COMETE)



# Valorisations scientifiques

## Publications

**Lahogue, C.**, Billard, J. M., Freret, T., & Bouet, V. (2023). 5-HT6 Receptors Sex-Dependently Modulate Hippocampal Synaptic Activity through GABA Inhibition. *Biomolecules*, 13(5), 751. <https://doi.org/10.3390/biom13050751>

Heraudeau, M., Roux, C. M., **Lahogue, C.**, Largilliere, S., Allouche, S., Lelong-Boulouard, V., & Freret, T. (2023). Micropipette-guided Drug Administration (MDA) as a non-invasive chronic oral administration method in male rats. *Journal of neuroscience methods*, 109951. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2023.109951>

**Lahogue C.**, Boulouard M., Menager F., Freret T., Billard J. M., Bouet V. Gene-environment interactions in a new 2-hit mouse model of schizophrenia: behavioral phenotyping. [Soumis à *Schizophrenia Research*]

Percelay S., **Lahogue C.**, Billard J. M., Freret T., Boulouard M., Bouet V. (2024) The 3-hit animal models of schizophrenia: improving strategy to decipher and treat the disease? *Neurosci Biobehav Rev.* 157:105526. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105526>

## Congrès - Communications affichées

**Lahogue C.**, Billard J. M., Bouet V. (2021). Effet du blocage des récepteurs 5-HT6 sur l'activation NMDA dans un nouveau modèle murin de schizophrénie. 1er Colloque Interdisciplinaire du GDR Mémoire, Vers (Lot), France.

**Lahogue C.**, Karche O., Guezennec T., Boulouard M., Bouet V., Percelay S. (2022). Behavioral assessment of visual acuity in a new multifactorial model of schizophrenia. Motion Sickness Workshop, Caen, France.

**Lahogue C.**, Billard J. M., Bouet V. (2022). Efficacy of a selective 5-HT6R antagonist in an innovative 2-hit mouse model of schizophrenia. 13th Federation of European Neuroscience Societies Forum of Neurosciences, Paris, France.

**Lahogue C.**, Menager F., Freret T., Billard J. M., Bouet V. (2023) Validation d'un modèle animal plurifactoriel de schizophrénie pour le développement de nouvelles cibles thérapeutiques. Journée Normande de Recherche biomédicale, Caen, France.

Heraudeau M., Roux C., **Lahogue C.**, Largilliere S., Allouche S., Freret T., Lelong-Boulouard V., (2023) A non-invasive method of chronic oral administration in rats : Micropipette-guided Drug Administration. Journée Normande de Recherche biomédicale, Caen, France.

Mouffok I., **Lahogue C.**, Freret T., Bouet V., Boulouard M., (2023) Hyperactivité & Altération de la mémoire de travail spatiale dans un modèle murin 3-hit de schizophrénie. 2ème Colloque Interdisciplinaire du GDR Mémoire, Carry le Rouet, France.

## **Congrès - Communications orales**

**Lahogue C.**, Billard J. M., Bouet V. (2021). Treatment strategy targeting 5-HT6R in an innovative animal model of schizophrenia. XXIIIème journées de l'Ecole Doctorale normande de Biologie Intégrative, Santé, Environnement, Evreux, France.

**Lahogue C.**, Billard J. M., Bouet V. (2023). Cibler les récepteurs 5-HT6 dans un modèle animal de schizophrénie innovant. 2ème journée de la Fédération Hospitalo-Universitaire A2M2P, Caen, France.

**Lahogue C.**, Billard J. M., Bouet V. (2023). Les récepteurs 5-HT6 comme traitement pour la schizophrénie. Brèves, Caen, France.

**Lahogue C.** (2023). Cibler les 5-HT6R pour développer un nouveau traitement contre les problèmes de mémoire dans la schizophrénie *“Plus question d’oublier, puisque le SB est arrivé”*. Ma Thèse en 180 secondes, Le Havre, France.

# Médiation/Vulgarisation scientifique

**Octobre 2021** : Gestion et élaboration du projet *“Escape Game Mémoire : Viens aider Doris”* dans le cadre de la fête de la science

**Décembre 2021 - Janvier 2022** : Dispositif Déclics (rencontre avec des lycéens)

**Février 2022** : Atelier des chercheur·se·s (rencontre avec des lycéens)

**Mars 2022** : Gestion et élaboration du projet *“Escape Game Mémoire : Viens aider Doris”* dans le cadre de [En]quête de science

**Avril 2022** : Gestion du compte instagram du dispositif Réflexion.s pendant une semaine

**Octobre 2022** : Gestion et élaboration du projet *“Escape Game Mémoire : Viens aider Doris”* dans le cadre de la fête de la science

**Octobre 2022** : Rendez-vous avec un.e chercheur.se (rencontre tout public dans les bibliothèques de Normandie)

**Décembre 2022** : Interview dans l'émission *“C'est pas faux”* de Radio Phénix

<https://phenix.fm/podcast/la-schizophrenie/>

**Décembre 2022** : Article sur le site de Papier-Mâché - *“La micropipette : un super-biberon qui améliore le bien-être des animaux ?”*

<https://papiermachesciences.org/2022/12/22/la-micropipette-un-super-biberon-qui-ameliore-le-bien-etre-des-animaux/>

**Janvier 2023** : Dispositif Déclics (rencontre avec des lycéens)

**Janvier - juin 2023** : Encadrement d'apprentis chercheurs (binôme de collégien et lycéen accueillis 3 h par mois au laboratoire)

**Février 2023** : Atelier des chercheur·se·s (rencontre avec des lycéens et collégiens)

**Mars 2023** : Gestion et élaboration du projet *“Voyage au centre du cerveau”* dans le cadre de la semaine du cerveau

**Mars 2023** : Participation au concours Ma Thèse en 180 secondes, finale normande

<https://www.youtube.com/watch?v=yXX5RwQFCsE>

**Juin 2023** : Congrès des apprentis chercheurs (présentation des travaux des apprentis chercheurs)

# Remerciements

*Voici la dernière partie que j'écris de ce manuscrit et devinez quoi, c'est sûrement l'une des parties les plus difficile. Une thèse ne se résume pas qu'à travailler sur sa recherche, c'est surtout du partage et de bons moments avec toute une équipe qui nous permet d'évoluer et d'apprendre.*

Je souhaite dans un premier temps remercier tous les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail de thèse : la docteure Carine Becamel et le docteur Cyrille Vaillend qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'être rapporteur de cette thèse. La professeure Sonia Dollfus et le professeur Mickael Naassila qui m'ont fait l'honneur de participer à ce jury en tant qu'examineurs.

Je souhaite ensuite remercier la région de Normandie pour avoir financé ce projet de thèse ainsi qu'à la Fédération Hospitalo-Universitaire A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P, à l'université de Caen Normandie et à l'ensemble des membres de l'école doctorale NBISE pour l'investissement qu'ils ont auprès des doctorants.

Merci à Thomas Freret en sa qualité de directeur du laboratoire COMETE d'avoir accepté de m'accueillir dans son unité de recherche.

Un grand merci à ma direction de thèse, Valentine Bouet et Jean-Marie Billard. Le mélange d'une comportementaliste avec un électrophysiologiste n'est finalement pas un si mauvais mélange et nos échanges n'ont été qu'enrichissements. Merci à vous deux de m'avoir permis d'évoluer tout au long de ces trois ans de thèse et d'avoir consacré du temps à mes travaux. J'ai appris beaucoup à vos côtés, dans une ambiance conviviale. Il est parfois difficile de savoir où l'on met les pieds, surtout lorsqu'on débarque dans une ville que nous ne connaissons pas. Je n'aurais pas pu imaginer de meilleures conditions que celles-ci.

Je tiens à remercier l'ensemble des membres de COMETE et notamment des membres du GMPc avec lesquels j'ai réalisé ma thèse. Arriver au milieu de normands, bretons et marseillais n'est pas forcément évident, mais j'imagine que j'ai su me faire une place parmi vous et que mon côté rémois ne vous a pas plus dérangé que ça. Les conditions dans lesquels j'ai réalisé ma thèse ont vraiment été optimales et grâce à vous j'ai pu progresser dans la recherche, l'enseignement ou encore la médiation scientifique.

Évidemment, je tiens à remercier ceux et celles qui ont partagé le bureau des doctorants avec moi.

Aux « *anciens* » du bureau : Eva et Elpidio pour votre soutien et votre motivation durant mes premiers mois de thèse. Solenn pour m'avoir fait confiance et pour m'avoir intégré dès le début dans tes projets. Merci de m'avoir donné le goût ~~(une addiction)~~ à la médiation scientifique. Candice pour tout ton soutien au quotidien, et ce, depuis le début de la thèse (et de rien pour les kit kat Chunky 😊).

Aux « *nouveau* » du bureau : Lucas pour ton humour un peu décalé lorsque tu es au bureau (ce qui se fait rare ces temps-ci ...). Imane pour ta motivation, en espérant que ta mal chance disparaisse un jour. Marie et Mathilde, les doctorantes face au mur (dans tous les sens du terme). Merci à vous deux pour votre soutien et votre bonne humeur.

Je remercie ensuite l'équipe technique, Stacy, Gérald, Mélody, Sophie, Eve et Daniel, merci à vous six pour toute l'aide que vous avez pu m'apporter et pour ces bons moments que nous avons partagés. Merci aussi à Thomas, Pascale, François, Marianne, Michel, Véronique, Emna, Hana et Fabien pour votre bonne humeur, votre humour et votre confiance. Les échanges que nous avons pu avoir durant les réunions scientifiques et celles un peu moins scientifiques ont été très enrichissantes.

Merci également à Virginie Klauser, pour ton aide dans toutes les actions de médiation scientifique que j'ai pu réaliser. Faire de la médiation scientifique est un réel plus durant une thèse, cela m'a permis de mieux appréhender mon sujet et de découvrir de nouvelles façons de le présenter.

Merci aux stagiaires que j'ai pu encadrer pour l'aide que vous m'avez apportée.

J'ai également une petite pensée à l'équipe EthoS et à Christelle notamment. Merci pour l'aide que tu nous as apportée pour divers projets.

Pour terminer, mes remerciements vont à ma famille. Malgré la distance, vous avez su me soutenir au quotidien dans mon projet, que cela soit lorsque j'ai décidé de partir à Strasbourg pour mon master, ou lorsque j'ai déménagé de l'autre côté de la France en Normandie pour ma thèse. Je n'aurais jamais cru arriver jusqu'ici un jour et vous m'avez toujours donné les moyens et la motivation d'avancer malgré les moments difficiles. Je ne vous remercierai jamais assez pour tout. Le meilleur est devant nous et je sais que vous continuerez à me soutenir dans mes futurs projets. J'espère que vous avez aimé la Normandie et Caen, qui sait dans quelle ville je serai demain 😊.

À mes amies qui je sais me soutiennent énormément. Je suis vraiment fière et heureuse de vous avoir.

Et puis des remerciements un peu spéciaux à deux drôles de bêtes  qui vivent chez moi (*ou c'est peut-être moi qui vis chez eux, je ne sais pas...*), Jacobe et Pimousse pour toutes ces recharges d'ordinateurs grignotées et ces nuits écourtées, mais surtout pour tout l'amour que deux lapins peuvent apporter. Je pense que ces journées de rédaction sans votre petite présence auraient été très différentes.

# Table des matières

Liste des abréviations

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Introduction

<b>Chapitre I : La schizophrénie .....</b>	<b>1</b>
1.1. Etiologie de la maladie.....	1
1.1.1. Vulnérabilité génétique.....	2
1.1.2. Facteurs environnementaux .....	4
1.2. Atteintes comportementales et physiopathologiques.....	5
1.2.1. Triade de symptômes.....	5
1.2.2. Atteintes anatomiques et fonctionnelles.....	7
1.2.3. Atteintes des systèmes de neurotransmission .....	8
1.3. Prise en charge thérapeutique .....	10
1.4. Modèles animaux .....	13
1.4.1. Validités des modèles.....	13
1.4.2. Revue.....	16
1.4.3. Choix des facteurs de risque .....	31
1.4.4. Contribution des modèles 2-hit aux développements de nouveaux médicaments.....	35
<b>Chapitre II : Le système sérotoninergique.....</b>	<b>36</b>
2.1. Métabolisme de la sérotonine .....	36
2.2. Voies sérotoninergiques.....	37
2.3. Récepteurs à la sérotonine.....	38
2.4. Rôles physiopathologiques de la sérotonine.....	39
2.5. Récepteurs 5-HT6 .....	41
2.5.1. Distribution cérébrale et localisation cellulaire .....	41
2.5.2. Mécanisme de transduction.....	43
2.5.3. Modulateurs pharmacologiques .....	44
2.6. Intérêt des 5-HT6R comme cible thérapeutique.....	47
2.6.1. Maladie d'Alzheimer .....	47
2.6.2. Anxiété et dépression.....	47
2.6.3. Schizophrénie .....	48
<b>Objectifs.....</b>	<b>51</b>
<b>Méthodologie générale.....</b>	<b>54</b>
3.1. Animaux : conditions d'hébergement .....	55
3.1.1. Groupes expérimentaux.....	55

3.1.2.	Génotypage .....	56
3.1.3.	Traitements pharmacologiques .....	56
3.2.	Tests comportementaux.....	57
3.2.1.	Actimétrie .....	57
3.2.2.	Labyrinthe en croix surélevée .....	58
3.2.3.	Openfield .....	58
3.2.4.	Test de sociabilité.....	59
3.2.5.	Test d'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y .....	61
3.2.6.	Inhibition du réflexe de sursaut .....	61
3.3.	Etudes électrophysiologiques.....	62
3.3.1.	Préparation des tranches d'hippocampe .....	62
3.3.2.	Dispositifs .....	63
3.3.3.	Protocoles de stimulation .....	65
3.3.4.	Etude de la transmission glutamatergique synaptique basale .....	66
3.3.5.	Etude de l'activation des récepteurs NMDA du glutamate .....	67
3.3.6.	Etude de la plasticité synaptique .....	67
3.3.7.	Analyses statistiques .....	68
<b>Résultats</b>	.....	<b>70</b>
4.1.	Article 1.....	71
4.2.	Etude électrophysiologique complémentaire à l'article 1 .....	94
4.3.	Etude comportementale complémentaire à l'article 1 .....	99
4.4.	Article 2.....	106
4.5.	Etude électrophysiologique complémentaire à l'article 2 .....	119
<b>Discussion générale</b>	.....	<b>124</b>
4.1.	Le modèle 2-hit : apport pour la modélisation de la schizophrénie .....	126
4.1.1.	Validité et apport du modèle 2-hit.....	126
4.1.2.	Le modèle 2-hit : un modèle reproductible et robuste ?.....	132
4.2.	L'intérêt des 5-HT6R dans le traitement des symptômes de la schizophrénie.....	135
4.2.1.	Viser les 5-HT6R pour améliorer les déficits du modèle 2-hit .....	136
4.2.2.	Les 5-HT6R modulent l'activité synaptique hippocampique : implication du système GABAergique et glutamatergique .....	138
<b>Conclusion et Perspectives</b>	.....	<b>142</b>
<b>Références bibliographiques</b>	.....	<b>142</b>
<b>Annexes</b>	.....	<b>167</b>
<b>Abstract</b>	.....	<b>173</b>

# Liste des abréviations

<b>5,7-DHT</b> : 5,7-Dihydroxytryptamine	<b>MEK</b> : <i>Mitogen-activated protein kinase</i>
<b>5-HT</b> : 5-hydroxytryptamine ou sérotonine	<b>MIA</b> : Maternal Immune Activation
<b>5-HTP</b> : 5-hydroxytryptophane	<b>mTORC</b> : <i>mammalian Target Of Rapamycin Complex</i>
<b>5-HTR</b> : Récepteur à la sérotonine	<b>NBQX</b> : 2,3-dioxo-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo[f]quinoxaline
<b>AAAD</b> : Acide L-Aminé Aromatique Décarboxylase	<b>NMDA</b> : N-Methyl-D-Aspartate
<b>AC</b> : Adénylyl cyclase	<b>NMDAR</b> : récepteur NMDA
<b>aCSF</b> : <i>artificial CerebroSpinal Fluid</i>	<b>NRG1</b> : Neuregulin 1
<b>AMPA</b> : <i>α-amino-3-hydroxy-5methyl-4-isoxazolepropionic acid</i>	<b>Nurr1</b> : <i>Nuclear receptor related 1</i>
<b>AMPA</b> : récepteur AMPA	<b>PANSS</b> : <i>Positive and Negative Syndrome Scale</i>
<b>AMPC</b> : Adénosine MonoPhosphate cyclique	<b>PCP</b> : Phencyclidine
<b>ANOVA</b> : <i>Analyse of Variance</i>	<b>PCT</b> : Potentialisation à Court Terme
<b>Arc</b> : <i>Activity-regulated cytoskeleton-associated protein</i>	<b>Pi3K</b> : Phosphatidylinositol 3 OH-Kinase
<b>ARNm</b> : ARN messenger	<b>PIP2</b> : Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate
<b>BDNF</b> : <i>Brain derived neurotrophic factor</i>	<b>PKA</b> : Protéine Kinase A
<b>BHE</b> : Barrière Hémato-Encéphalique	<b>PLC</b> : Phospholipase C
<b>CA</b> : <i>Cornus Ammonis</i> , corne d'Amon	<b>PLT</b> : Potentialisation à Long Terme
<b>CERMN</b> : Centre de Recherche sur le Médicament de Normandie	<b>PND</b> : <i>Post-Natal Day</i>
<b>Cdc42</b> : <i>Cell division control protein 42</i>	<b>Poly I:C</b> : Acide polyinosinique-polycytidylique
<b>cdk5</b> : <i>cyclin-dependent kinase 5</i>	<b>PPF</b> : <i>Paired-pulse facilitation</i>
<b>COMT</b> : catechol-O-methyl transferase	<b>PPI</b> : <i>Prepulse inhibition</i>
<b>CNV</b> : <i>Copy Number Variant</i>	<b>PPSE</b> : Potentiel Post-Synaptique Excitateur
<b>CREB</b> : cAMP response element-binding protein	<b>PPSI</b> : Potentiel Post-Synaptique Inhibiteur
<b>CSD</b> : <i>chronic social defeat</i>	<b>Raf1</b> : <i>Rapidly accelerated fibrosarcoma kinase 1</i>
<b>CURB</b> : Centre Universitaire de Ressources Biologiques	<b>RCPG</b> : Récepteur Couplé aux Protéines G
<b>DISC1</b> : <i>Disrupted in Schizophrenia 1</i>	<b>Rheb</b> : <i>Ras homolog enriched protein</i>
<b>DSM</b> : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders	<b>SAPS</b> : <i>Scale for the Assessment of Positive Symptoms</i>
<b>ERK1/2</b> : <i>Extracellular signal-regulated kinase 1/2</i>	<b>SANS</b> : <i>Scale for the Assessment of Negative Symptoms</i>
<b>fEPSP</b> : <i>field Excitatory post-synaptic potential</i>	<b>SCZ</b> : Schizophrénie
<b>GABA</b> : acide γ-aminobutyrique	<b>S.C</b> : sous-cutanée
<b>GABAR</b> : récepteur GABA	<b>SEA</b> : <i>Single Electrode Array</i>
<b>GAD65</b> ou <b>GAD67</b> : Glutamate Décarboxylase 65 ou 67	<b>SERT</b> : Transporteur de la sérotonine
<b>GD</b> : <i>Gestational Day</i>	<b>SM</b> : Séparation Maternelle
<b>GWAS</b> : <i>Genome-Wide Association Studies</i>	<b>SNAP25</b> : <i>Synaptosomal associated protein</i>
<b>HPA</b> : <i>hypothalamo-hypophyso-surrénalien axis</i>	<b>SNC</b> : Système Nerveux Central
<b>HFS</b> : <i>High Frequency Stimulation</i>	<b>SNP</b> : <i>Single Nucleotide Polymorphisme</i>
<b>HRM</b> : <i>Melanin-possessing hairless mice</i>	<b>SR</b> : Sérine Racémase
<b>I/O</b> : <i>input/output</i>	<b>SR-KO</b> : <i>Sérine Racémase Knock-out</i>
<b>ICD-11</b> : <i>International Classification of Diseases 11th revision</i>	<b>TBS</b> : <i>Theta-Burst Stimulation</i>
<b>I.P</b> : Intrapéritonéale	<b>THC</b> : delta-9-tétrahydrocannabinol
<b>Jab1</b> : <i>Jun activation domain-binding protein-1</i>	<b>TPH</b> : Tryptophane Hydroxylase
<b>MAM</b> : <i>methylazoxymethanol acetate</i>	<b>TSC1/2</b> : <i>Tuberous sclerosis complex 1/2</i>
<b>MAO</b> : Monoamine oxidase	<b>VA</b> : Volée Afférente
<b>MAP6</b> : <i>Microtubule Associated Protein 6</i>	<b>vGlut1</b> : Vesicular glutamate transporter 1
<b>MEA</b> : <i>Multielectrode array</i>	<b>VMAT2</b> : Vesicular Monoamine Transporter 2
	<b>WT</b> : <i>Wild-Type</i>

# Liste des Figures

<b>Figure 1.</b> Schéma représentant un modèle d'apparition progressive de la schizophrénie.....	1
<b>Figure 2.</b> Résumé des différentes mutations d'allèles qui augmentent le risque de développer la schizophrénie.....	2
<b>Figure 3.</b> Échelles de la PANSS utilisées pour le diagnostic de la schizophrénie. ....	6
<b>Figure 4.</b> Étude en imagerie de la connectivité fonctionnelle thalamo-corticale dans la schizophrénie. ....	7
<b>Figure 5.</b> Schéma récapitulatif de la dérégulation des systèmes dopaminergiques, et glutamatergiques et GABAergique dans la SCZ. ....	9
<b>Figure 6.</b> Classification actuelle des neuroleptiques typiques et atypiques.....	11
<b>Figure 7.</b> Graphique représentant les dates de mise sur le marché des différentes générations de neuroleptiques. ....	12
<b>Figure 8.</b> Représentation graphique des différents critères de validité nécessaire pour valider nos modèles animaux de schizophrénie. ....	14
<b>Figure 9.</b> Résumé des différents modèles de stress précoce induit dans les modèles animaux de la schizophrénie.....	34
<b>Figure 10.</b> Représentation des voies de biosynthèse centrale et périphérique de la sérotonine. ....	37
<b>Figure 11.</b> Représentation des voies de signalisation centrales du système sérotoninergique. ....	38
<b>Figure 12.</b> Voies de transduction intracellulaire des récepteurs à la sérotonine de type 6... ..	44
<b>Figure 13.</b> Dispositif d'actimétrie.....	58
<b>Figure 14.</b> Dispositifs utilisés pour évaluer le niveau d'anxiété et l'activité spontanée des souris. ....	59
<b>Figure 15.</b> Dispositifs pour tester la sociabilité et la reconnaissance sociale des souris.....	60
<b>Figure 16.</b> Dispositifs expérimentaux pour tester la mémoire de travail (A) et le réflexe de sursaut (B) chez les souris. ....	62
<b>Figure 17.</b> Présentation du poste utilisé pour le SEA.....	64
<b>Figure 18.</b> Présentation du poste utilisé pour le MEA. ....	65
<b>Figure 19.</b> Schéma représentant les différentes composantes du signal enregistré au niveau du <i>stratum radiatum</i> de l'aire CA1 suite à une stimulation des collatérales de Schaeffer. ....	66
<b>Figure 20.</b> Exemple de <i>paired-pulse facilitation</i> induite par deux stimulations appariées. ....	66
<b>Figure 21.</b> Exemple de décours temporel d'une potentialisation à court et à long terme. ....	68
<b>Figure 22.</b> Arbre décisionnel des tests statistiques selon la distribution des données (normale ou non) et l'homogénéité de leur variance.....	69
<b>Figure 23.</b> La combinaison SR-KO x SM n'altère pas la transmission basale dans le groupe 2-hit.....	94
<b>Figure 24.</b> Effet de la délétion génétique, de la séparation maternelle et de leur combinaison sur l'expression de la plasticité synaptique évaluée par l'amplitude de la potentialisation à court et à long terme sur tranche d'hippocampe. ....	96

<b>Figure 25.</b> Effet de la délétion génétique, de la séparation maternelle, et de leur combinaison sur l'activation des (NMDAR), modulée par l'ajout de D-sérine, co-agoniste des NMDAR et de bicuculline, antagoniste des GABAR-A.....	98
<b>Figure 26.</b> Effets du blocage des 5-HT6R sur les paramètres d'actimétrie.....	101
<b>Figure 27.</b> Effets du blocage des 5-HT6R sur les paramètres du labyrinthe en croix surélevée. .....	101
<b>Figure 28.</b> Effets du blocage des 5-HT6R sur les paramètres de l'alternance spontanée. ....	103
<b>Figure 29.</b> Effets du blocage des 5-HT6R sur la sociabilité et la reconnaissance sociale chez des souris témoin, SR-KO, séparées (SM) et 2-hit.....	105
<b>Figure 30.</b> Effet du blocage des 5-HT6R sur l'activation des NMDAR.....	120
<b>Figure 31.</b> Le blocage des 5-HT6Rs augmente la transmission glutamatergique de base dans l'hippocampe. ....	121
<b>Figure 32.</b> Le blocage des 5-HT6Rs ne modifie pas la libération du glutamate.....	121
<b>Figure 33.</b> La plasticité synaptique n'est pas altérée en présence de SB-271046 quel que soit le groupe expérimental. ....	123
<b>Figure 34.</b> Différences entre les effets de synergie, d'addition, de résilience et de résistance dans le cas d'une exposition à deux facteurs.....	127
<b>Figure 35.</b> Possible dimorphisme sexuel du mécanisme d'action des récepteurs 5-HT6R sur la régulation de la neurotransmission glutamatergique. ....	140
<b>Annexe 1.</b> Exemple de résultats attendus pour le génotypage.....	168
<b>Annexe 2.</b> Mesure de la vision des souris à l'aide du dispositif d'acuité visuelle .....	169
<b>Annexe 3.</b> Effet du blocage des 5-HT6R sur l'activation des récepteurs NMDA dans le modèle 2-hit .....	170
<b>Annexe 4.</b> Effet du blocage des 5-HT6R sur le modèle 2-hit .....	171
<b>Annexe 5.</b> Effet du blocage des 5-HT6R sur la plasticité synaptique hippocampique .....	172

# Liste des Tableaux

<b>Tableau 1.</b> Liste non-exhaustive de facteurs génétiques associés à la schizophrénie. ....	4
<b>Tableau 2.</b> Résumé de différents modèles animaux 2-hit de schizophrénie ayant comme premier facteur un facteur génétique. ....	32
<b>Tableau 3.</b> Résumé de différents modèles animaux 2-hit de la schizophrénie ayant comme premier facteur un facteur environnemental. ....	33
<b>Tableau 4.</b> Tableau récapitulatif des différentes familles de récepteurs à la sérotonine (5-HT) dans le système nerveux central. ....	39
<b>Tableau 5.</b> Tableau récapitulatif des principaux antagonistes sélectifs des 5-HT <sub>6R</sub> . ....	46
<b>Tableau 6.</b> Résumé des effets du blocage des récepteurs 5-HT <sub>6R</sub> dans différents modèles animaux monofactoriels de SCZ. ....	50
<b>Tableau 7.</b> Tableau récapitulatif des différentes substances et des protocoles utilisés lors des études. ....	57
<b>Tableau 8.</b> Tableau récapitulatif des valeurs moyennes d'amplitude de la plasticité. ....	95
<b>Tableau 9.</b> Tableau récapitulatif des pourcentages moyens de potentialisation sous traitement pharmacologique. ....	122
<b>Tableau 10.</b> Tableau récapitulatif du phénotype comportemental et fonctionnel des différents groupes expérimentaux utilisés pour le développement du modèle 2-hit. ....	127
<b>Tableau 11.</b> Tableau récapitulatif des données obtenus lors de l'étude comportementale complémentaire à l'article 1. ....	133
<b>Tableau 12.</b> Effets du traitement sub-chronique par le SB-271046 sur les déficits observés dans le modèle SR-KO, SM et 2-hit. ....	136

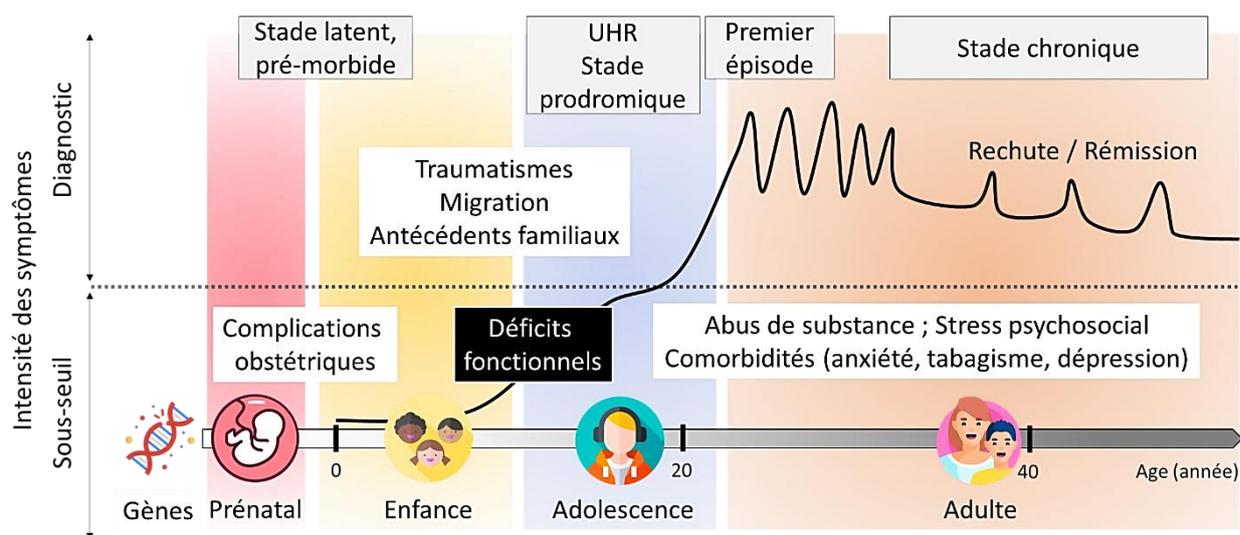
# **Introduction**

# Chapitre I : La schizophrénie

Le concept de schizophrénie (SCZ) a été introduit en 1896 sous le terme de *Dementia Praecox* par le psychiatre allemand Emil Kraepelin (Kraepelin, 1919). Il l'avait décrite comme une maladie unique présentant trois formes cliniques distinctes : l'hébéphrénie (comportement désorganisé et incongru), la catatonie (agitation, incohérence) et la démence paranoïde (délire de persécution et de grandeur). C'est en 1911 que Eugen Bleuler, psychiatre suisse, a repris sous le terme *schizophrénie* cette maladie en la définissant comme une psychose caractérisée par la dissociation des fonctions psychiques (Bleuler, 1911). Aujourd'hui, la SCZ, touche environ 1 % de la population mondiale avec un *sexe ratio* de 1.42 et un âge d'apparition situé entre 15 et 25 ans et qui peut aller jusqu'à 35 ans chez les femmes (Aleman et al., 2003; Lee et al., 2018).

## 1.1. Etiologie de la maladie

La SCZ est une maladie multifactorielle avec une étiologie encore méconnue. Cependant, il est acquis aujourd'hui que l'interaction entre plusieurs facteurs de risque tels que des facteurs génétiques, environnementaux précoces et tardifs ainsi que des facteurs épigénétiques, serait à l'origine de l'apparition des symptômes et du développement de la maladie (pour revue voir : Davis et al., 2016) (Figure 1).



**Figure 1. Schéma représentant un modèle d'apparition progressive de la schizophrénie.**

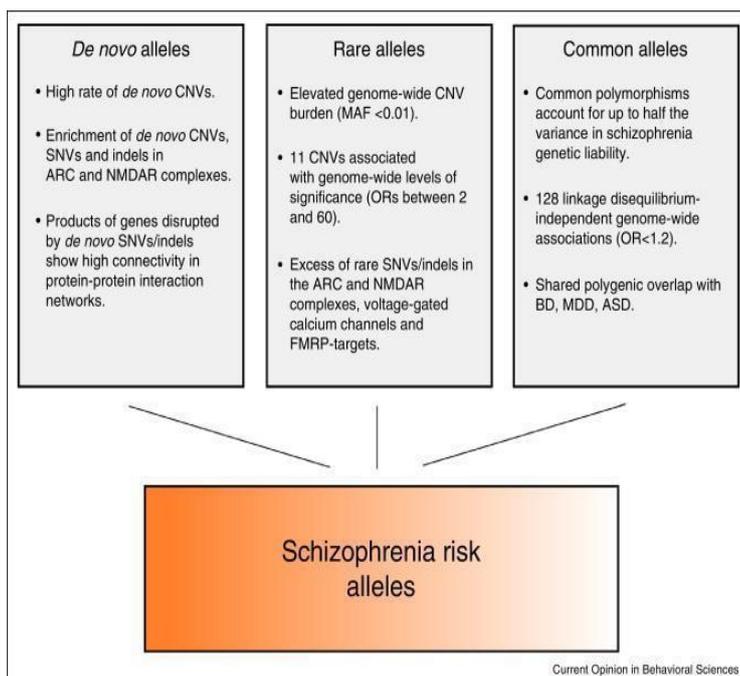
Plusieurs facteurs de risque environnemental ont été identifiés selon la période : des complications obstétricales durant la grossesse, des traumatismes durant l'enfance tels que de la maltraitance, des phénomènes migratoires ou les antécédents familiaux durant la petite enfance et des abus de substance (alcool, drogue), un stress psychosocial ou des comorbidités (anxiété, dépression, tabagisme) durant l'adolescence et chez l'adulte. Ces

facteurs environnementaux associés à des facteurs génétiques (modifications des gènes) participent au développement de la maladie. Trois stades distincts peuvent alors être déterminés : le stade pré-morbide asymptomatique ou latent durant l'enfance. Le stade prodromique où le risque de développer une psychose est très élevé (on parle de patients à ultra haut risque *UHR : Ultra High-Risk*). Ces patients ont quelques déficits fonctionnels. Puis, le stade chronique qui intervient après un premier épisode psychotique où les symptômes sont présents et où le diagnostic clinique a pu être établi. À partir du premier épisode psychotique, une prise en charge peut être mise en place mais, des rechutes (recrudescence de certains symptômes) peuvent aussi avoir lieu. Adapté de (Millan et al., 2016).

### 1.1.1. Vulnérabilité génétique

Les premières études qui ont mis en évidence une vulnérabilité génétique s'intéressaient à l'héritabilité de la SCZ au sein de familles dans lesquelles un ou plusieurs membres étaient touchés par la maladie. C'est notamment en étudiant des jumeaux homozygotes qu'il a été observé que si l'un des deux jumeaux développait la maladie, l'autre avait jusqu'à 45 % de risque de la développer à son tour (Chou et al., 2017; Mortensen et al., 1999; Sullivan et al., 2003). Chez les jumeaux hétérozygotes, ce risque tombe à 18 % et moins de 5 % pour des cousins, cousines, oncles ou tantes (McGue and Gottesman, 1991).

De nombreuses études d'hybridation génomique et pangénomiques d'association (*Genome-Wide Association Studies, GWAS*) ont par la suite identifié au niveau de l'ADN des *loci* porteurs de polymorphismes au niveau d'un nucléotide simple (*Single Nucleotide Polymorphism* ou SNP) ou de variations au niveau du nombre de copies (*Copy Number Variant* ou CNV) (Iyegbe and O'Reilly, 2022; Merikangas et al., 2022; Smeland and Andreassen, 2022) (Figure 2).



**Figure 2. Résumé des différentes mutations d'allèles qui augmentent le risque de développer la schizophrénie.**

Les études génomiques ont mis en évidence 3 mécanismes de modification d'allèles : des mutations sur des allèles nouvellement formés (« *De novo alleles* »), sur des allèles rares (« *Rare alleles* ») ainsi que sur des allèles communs (« *common allèles* ») comme étant impliqués dans la schizophrénie. MAF : *minor allele frequency* ; OR : *odds ratio* ; CNV : *copy number variation* ; SNV : *single nucleotide variant* ; indel : *insertion/deletion* ; ARC : *activity-regulated cytoskeleton-associated protein* ; NMDAR : *N-methyl-d-aspartate receptor* ; FMRP : *fragile X mental retardation protein* ; BD : *bipolar disorder* ; MDD : *major depressive disorder* ; ASD : *autism spectrum disorder*. Issu de (Rees et al., 2015).

Les gènes identifiés (Tableau 1) jouent pour la plupart un rôle dans des processus cérébraux physiologiques ou pathologiques incluant la croissance neuronale, l'architecture neuronale, les mécanismes inflammatoires (pour revue : Smeland et al., 2020) et la communication neuronale impliquant différents systèmes de neurotransmission comme les systèmes de l'acide  $\gamma$ -aminobutyriergique (GABAergique), dopaminergique ou encore glutamatergique, notamment via les récepteurs du glutamate de type N-Methyl-D-Aspartate (NMDAR) (Wahbeh and Avramopoulos, 2021). Le gène *Disrupted in Schizophrenia 1 (DISC1)* est l'un des gènes où de nombreux polymorphismes sont fréquemment mis en évidence dans les cohortes de patients atteints de SCZ (Mathieson et al., 2012; Millar et al., 2000; Wang et al., 2018). *DISC1* est connu pour jouer un rôle primordial dans le développement ainsi que la régulation de différents systèmes de neurotransmission (Brandon and Sawa, 2011a). Il est ainsi impliqué dans la régulation de la signalisation dopaminergique en interagissant avec d'autres gènes comme celui qui synthétise l'enzyme catechol-O-methyl transferase (COMT), gène également associé à la physiopathologie de la SCZ (Lewandowski, 2007; Nicodemus et al., 2007). *DISC1* joue aussi un rôle important dans la neurotransmission glutamatergique en interagissant, par exemple, avec la protéine kinase interagissant avec TRAF2 et NCK (*Traf2- and Nck-interacting kinase*, TNIK) qui régule la dégradation de la sous-unité GLUR1 du récepteur ionotropique Acide  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) du glutamate (Wang et al., 2011). D'autre part, *DISC1* interagit avec le gène de la *sérine racémase (SR)* où des polymorphismes ont été identifiés chez certains patients SCZ (Goltsov et al., 2006; Jacobi et al., 2019; Ma et al., 2013; Morita et al., 2007). Le gène *SR* code pour une enzyme localisée au niveau neuronal (Balu et al., 2014) qui, à partir du précurseur L-sérine, synthétise l'acide aminé D-sérine (Wolosker et al., 1999a), un des co-agonistes endogènes indispensables à l'activation des NMDAR du glutamate (Wolosker, 2007). Des études cliniques ont mis en évidence des taux de D-sérine anormalement réduits dans le liquide céphalo-rachidien et le cerveau post-mortem de patients atteints de SCZ, ainsi que des polymorphismes du gène *SR* associés à la pathologie (Goltsov et al., 2006; Jacobi et al., 2019; Labrie et al., 2009; Morita et al., 2007; Nakazawa and Sapkota, 2020a; Yamada et al., 2005). Au niveau préclinique, la délétion totale de l'exon 1 du gène *SR (SR-Knock-out; SR-KO)* réduit d'au moins 90 % les niveaux de D-sérine dans le cerveau de souris et est associée à des troubles du comportement tels qu'une hyperactivité et un déficit de mémoire, mimant ainsi certains aspects de la maladie (Basu et al., 2009; Labrie et al., 2009; Ploux et al., 2020).

**Tableau 1. Liste non-exhaustive de facteurs génétiques associés à la schizophrénie.**

SNP : *single nucleotide polymorphism* ; CNV : *Copy Number Variant*. Adapté de (Harrison, 2015)

	Locus	Gène	Dénomination	Références
SNP	12q24.11	DAO	<i>D-amino acid oxidase</i>	Verrall et al., 2010
	1q42.2	DISC1	<i>Disrupted in schizophrenia-1</i>	Brandon & Sawa, 2011a
	2q33-34	ERBB4	<i>Receptor tyrosine kinase erbB4</i>	Mei & Xiong, 2008
	5q33.2	GRIA1	<i>AMPA receptor subunit 1 (GluA; GluR1)</i>	Barkus et al., 2014
	16p13.2	GRIN2A	<i>NMDA receptor subunit 2A (GluN2A; NR2A)</i>	Paoletti et al., 2013
	7q21.11-12	GRM3	<i>Metabotropic glutamate receptor 3 (mGlu3)</i>	Harrison et al., 2008
	8p12	NRG1	<i>Neuregulin 1</i>	Mei & Nave, 2014
	17p13.3	SR	<i>Serine racemase</i>	Balu et al., 2013
	18q21.2	TCF4	<i>Transcription factor 4</i>	Forrest et al., 2014
	11q13.5	MAP6	<i>Microtubule-associated protein 6</i>	Shimizu et al., 2006
	Locus	Sigle	Dénomination	Références
CNV	22q11.2	22qDS	<i>22q11.2 Deletion Syndrome</i>	Bassett et al., 2000
	15q13.3	/	<i>15q13.3 Recurrent Deletion</i>	van Bon et al., 1993
	16p11.2	/	<i>16p11.2 deletion and duplication</i>	Chang et al., 2017

### 1.1.2. Facteurs environnementaux

Les polymorphismes génétiques décrits précédemment permettent d’induire un état de vulnérabilité qui augmente le risque de développer la SCZ. Cependant, ces polymorphismes génétiques seuls ne suffisent pas, et une association avec un ou plusieurs facteurs environnementaux est nécessaire pour induire la maladie (Davis et al., 2016; Fišar, 2023). Ces facteurs environnementaux peuvent intervenir *in utero*, précocement (durant la petite enfance) ou plus tardivement (durant l’adolescence et chez le jeune adulte) (Davis et al., 2016; Debnath et al., 2015). Le stress périnatal (infection par un virus, carence nutritionnelle, complications obstétricales avec hypoxie, etc.) est un facteur critique qui va perturber le développement du cerveau du fœtus (Boog, 2003; Paquin et al., 2021). Après la naissance, un stress important, qui peut être induit par des abus physiques/sexuels, le déplacement de population et/ou la consommation de drogues, est également susceptible d’impacter le développement de l’enfant / adolescent et d’augmenter le risque de développer la SCZ (Davies et al., 2020). Ces événements traumatisants durant l’enfance sont des facteurs largement étudiés dans le contexte de la SCZ (Larsson et al., 2013; Misdrahi, 2016; Okkels et al., 2017) et le stress engendré à la suite d’un épisode traumatisant va induire des modifications de l’axe hypothalamo-hypophyso-corticosurrénalien (HPA pour *hypothalamic-pituitary-adrenal axis*) (Emack et al., 2008; Van Voorhees and Scarpa, 2004), provoquer une perte neuronale au niveau de l’hippocampe (Ruby et al., 2017, 2014) et induire des déficits cognitifs comme des troubles de la mémoire, de l’attention et de l’apprentissage (Gabínio et al., 2018; Trovão et

al., 2022). Également, le stress peut induire des modifications épigénétiques chez les patients atteints de SCZ (Bönsch et al., 2012; Khan et al., 2022; Ruby et al., 2014). Les mécanismes épigénétiques sont décrits comme des « *changements dans l'activité des gènes, n'impliquant pas de modification de la séquence d'ADN et pouvant être transmis lors des divisions cellulaires* » (Bourc'his, 2015). Ceux sont des mécanismes réversibles, induits à la suite de modifications environnementales et inclut par exemple une méthylation de l'ADN ou une modification des histones (Babenko et al., 2015; Cavalli and Heard, 2019; Dolinoy et al., 2007; Sutherland and Costa, 2003). Des études chez l'animal ont notamment mis en évidence des modifications épigénétiques à la suite d'une modification du comportement maternel ou d'un isolement social (Siuda et al., 2014; Weaver et al., 2004; Zhang et al., 2010).

## **1.2. Atteintes comportementales et physiopathologiques**

### **1.2.1. Triade de symptômes**

La SCZ est une maladie hétérogène dont les symptômes varient d'un patient à un autre. Les symptômes de la maladie ont été classés en trois catégories : les symptômes productifs ou positifs (comprenant des hallucinations et des délires), les symptômes déficitaires ou négatifs (comprenant l'émoussement affectif, le retrait social, des pensées stéréotypées, des troubles de la pensée) et les déficits cognitifs (troubles de la mémoire de travail et des fonctions exécutives). Néanmoins, le Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux V (DSM-V, *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders V*) classe les symptômes de cette maladie en 5 catégories incluant les idées délirantes, les hallucinations, le discours désorganisé, le comportement grossièrement désorganisé ou catatonique et les symptômes négatifs (incluant la réduction de l'expression émotionnelle et l'aboulie) (Biedermann and Fleischhacker, 2016; Center for Behavioral Health Statistics and Quality, 2016; Tandon et al., 2013). Le diagnostic clinique se fait à l'aide du DSM-V ainsi que de la classification internationale des maladies-11 (ICD-11, *International Classification of Diseases 11th Revision*) et d'échelles de quantification comme la *Positive and Negative Syndrome Scale* (PANSS ; Kay et al., 1987 ; Figure 3), la *Scale for the Assessment of Negative Symptoms* (SANS ; Andreasen, 1989; Dollfus et al., 2019) et la *Scale for the Assessment of Positive Symptoms* (SAPS ; Andreasen, 1986). La SANS et la SAPS sont davantage utilisées en recherche clinique puisque ces échelles se basent uniquement sur l'entretien avec le patient, sans questionnement des aidants. La PANSS quant à elle, est davantage utilisée comme outil de diagnostic et prend en

compte l'entourage du patient ainsi que d'autres symptômes pouvant être associés à la SCZ notamment l'anxiété, la désorientation ou les troubles psychomoteurs (Kay et al., 1987).

		Absence totale	Très léger	Moyenne	Modér. sévère	Sévère	Extrême
<b>Echelle positive</b>							
P 1	Idées délirantes.	1	2	3	4	5	6 7
P 2	Désorganisation conceptuelle.	1	2	3	4	5	6 7
P 3	Activité hallucinatoire.	1	2	3	4	5	6 7
P 4	Excitation.	1	2	3	4	5	6 7
P 5	Idées de grandeur.	1	2	3	4	5	6 7
P 6	Méfiance/Persécution.	1	2	3	4	5	6 7
P 7	Hostilité.	1	2	3	4	5	6 7
<b>Echelle négative</b>							
N 1	Emoussement de l'expression des émotions	1	2	3	4	5	6 7
N 2	Retrait affectif.	1	2	3	4	5	6 7
N 3	Mauvais contact.	1	2	3	4	5	6 7
N 4	Repli social passif/apathique.	1	2	3	4	5	6 7
N 5	Difficultés d'abstraction.	1	2	3	4	5	6 7
N 6	Absence de spontanéité et de fluidité dans la conversation.	1	2	3	4	5	6 7
N 7	Pensée stéréotypée.	1	2	3	4	5	6 7
<b>Echelle psychopathologique générale</b>							
G 1	Préoccupations somatiques.	1	2	3	4	5	6 7
G 2	Anxiété	1	2	3	4	5	6 7
G 3	Sentiments de culpabilité.	1	2	3	4	5	6 7
G 4	Tension	1	2	3	4	5	6 7
G 5	Maniérisme et troubles de la posture.	1	2	3	4	5	6 7
G 6	Dépression.	1	2	3	4	5	6 7
G 7	Ralentissement psychomoteur.	1	2	3	4	5	6 7
G 8	Manque de coopération.	1	2	3	4	5	6 7
G 9	Contenu inhabituel de la pensée.	1	2	3	4	5	6 7
G 10	Désorientation.	1	2	3	4	5	6 7
G 11	Manque d'attention.	1	2	3	4	5	6 7
G 12	Manque de jugement et de prise de conscience de la maladie.	1	2	3	4	5	6 7
G 13	Trouble de la volition.	1	2	3	4	5	6 7
G 14	Mauvais contrôle pulsionnel.	1	2	3	4	5	6 7
G 15	Préoccupation excessive de soi (tendances autistiques).	1	2	3	4	5	6 7
G 16	Evitement social actif.	1	2	3	4	5	6 7

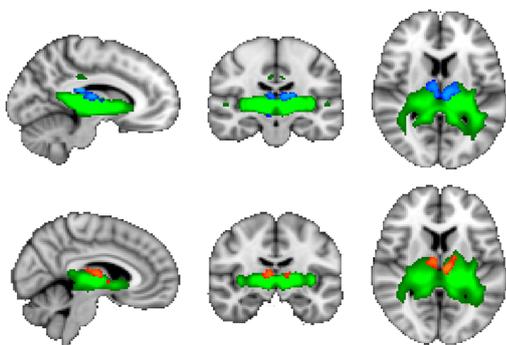
**Figure 3. Échelles de la PANSS utilisées pour le diagnostic de la schizophrénie.**

Trois échelles sont utilisées pour le diagnostic clinique de la maladie : une échelle évaluant les symptômes productifs (échelle positive) comprenant les items de P1 à P7, une échelle négative pour les symptômes déficitaires allant de N1 à N7 et une échelle psychopathologique générale allant de G1 à G16. Ces échelles contiennent différents items dont la cotation comprenant 7 niveaux de sévérité allant de 1 - absent au niveau 7 - extrême. Issue de (Kay et al., 1987).

### 1.2.2. Atteintes anatomiques et fonctionnelles

Associées à l'apparition des symptômes, des atteintes de l'intégrité anatomique cérébrale ont été observées chez les patients atteints de SCZ (pour revue : Fitzsimmons et al., 2013). Des études de neuroimagerie ont mis en évidence une réduction du volume cérébral incluant aussi bien la substance grise que la substance blanche notamment au niveau du corps calleux (Kraguljac et al., 2021; Madigand et al., 2019; Stauffer et al., 2021) et qui serait notamment liée aux modifications génétiques et épigénétiques retrouvés chez les patients (Berdenis van Berlekom et al., 2021; Liu et al., 2015). Une étude d'imagerie par résonance magnétique structurale (IRM) a mis en évidence une réduction du volume des lobes préfrontal et temporal (principalement le temporal médian et notamment de l'hippocampe) chez les patients atteints de SCZ (Buckley, 2005; Downhill et al., 2001; Herold et al., 2013; Stefanis et al., 1999).

Des perturbations de la connectivité cérébrale, analysées en imagerie et à l'aide de l'électroencéphalographie (EEG), ont également été rapportées chez les patients, notamment au niveau des circuits thalamo-cortical et fronto-temporal (Skåtun et al., 2018; Vitolo et al., 2017; Zhao et al., 2018) (Figure 4). D'autres études ont mis en évidence une perturbation des rythmes cérébraux chez les patients à ultra haut risque (Kim et al., 2022; Rameyad et al., 2016) durant le premier épisode psychotique (Alexander et al., 2009; Tada et al., 2016; Wang et al., 2018) mais, aussi durant les phases chroniques de la maladie (Uhlhaas, 2013; Uhlhaas and Singer, 2010). Ces rythmes cérébraux sont associés à des fonctions cérébrales comme le cycle veille-sommeil, la mémoire, l'apprentissage ou encore les processus d'intégration sensorimotrice, fonctions altérées dans la SCZ (Ferrarelli, 2021; Herrmann and Demiralp, 2005; Uhlhaas and Singer, 2010, 2006).



**Figure 4. Étude en imagerie de la connectivité fonctionnelle thalamo-corticale dans la schizophrénie.**

Analyses par voxel du cerveau humain de l'activation thalamique (en vert) chez le sujet sain (bleu) et les patients atteints de schizophrénie (en rouge). Une réduction significative de la connectivité thalamique a été observée chez les patients schizophrènes. Issu de (Skåtun et al., 2018).

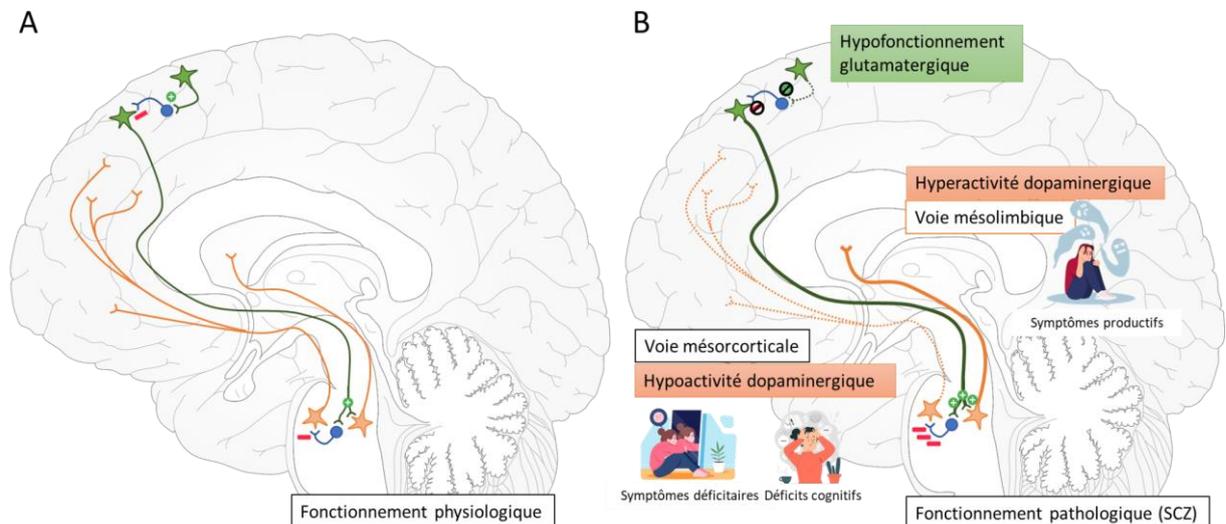
A un niveau plus cellulaire, des atteintes de la plasticité synaptique fonctionnelle sont observées dans les études précliniques. La plasticité cérébrale est définie comme une modification des mécanismes neuronaux aboutissant à une réorganisation des connexions neuronales. On l'observe notamment au cours du développement ou lors d'un apprentissage (pour revue voir : Magee & Grienberger, 2020). Un des mécanismes de cette plasticité est la neurogenèse (Emsley et al., 2005), présente au niveau de l'hippocampe, et qui joue un rôle dans les processus d'apprentissage et de mémoire (DeCarolis and Eisch, 2010; Deng et al., 2010; Fares et al., 2019). Certains facteurs génétiques de la SCZ peuvent perturber la neurogène, c'est notamment le cas d'une mutation du gène *DISC1* qui induit des modifications structurelles au niveau de l'hippocampe avec une augmentation anormale du développement dendritique ou encore une hypertrophie des corps cellulaires des neurones (Callicott et al., 2005; Duan et al., 2007).

### **1.2.3. Atteintes des systèmes de neurotransmission**

Bien qu'il soit aujourd'hui admis que la SCZ est une maladie multifactorielle et que certains facteurs de risque ont été identifiés, les mécanismes sous-jacents restent encore mal connus. Un dysfonctionnement du système dopaminergique a été la première hypothèse étudiée pour expliquer l'apparition de la pathologie (Bowers, 1974; Davis et al., 1991). En effet, une hyperactivité dopaminergique de la voie mésolimbique serait à l'origine du développement des symptômes productifs (McCutcheon et al., 2019). Des études post-mortem ont ainsi mis en évidence une augmentation de la concentration en dopamine au niveau du striatum des patients (Bird et al., 1977; Kegeles et al., 2010; McCutcheon et al., 2019). En parallèle, une hypoactivité dopaminergique a été mise en évidence au niveau de la voie mésocorticale associée avec les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs (Lee & Goto, 2015; McCutcheon et al., 2019). Par la suite, l'observation de symptômes similaires à la maladie après prise d'antagonistes des NMDAR, comme la kétamine, a permis de mettre en évidence l'implication du système glutamatergique dans le développement de la SCZ (Beck et al., 2020; Buck et al., 2022; Krystal et al., 1994). En effet, à l'aide de techniques d'imagerie, une diminution du taux de glutamate a été observée chez les patients SCZ corrélée avec un hypofonctionnement des NMDAR ainsi qu'une diminution du volume thalamique et hippocampique (pour revue voir : Howes et al., 2015; Stone, 2009; Uno and Coyle, 2019). De plus, l'utilisation chez le rongeur d'antagonistes non compétitifs des NMDAR, comme la

phencyclidine, la dizocilpine (MK-801) ou la kétamine, permet de mettre en évidence des altérations comportementales (déficit de la mémoire de reconnaissance, déficit d'apprentissage et de sociabilité, hyperactivité) rappelant les symptômes productifs, déficitaires et les déficits cognitifs de la SCZ (Kruse and Bustillo, 2022; McLean et al., 2010; Smith et al., 2011).

Outre les systèmes dopaminergique et glutamatergique, d'autres systèmes de neurotransmission ont également été étudiés. C'est le cas du système GABAergique pour lequel il est observé chez des patients SCZ une perte d'interneurons GABAergiques notamment ceux contenant la parvalbumine et la somatostatine (Beasley and Reynolds, 1997; Lewis et al., 2012; Volk et al., 2012), des altérations de l'expression des enzymes de synthèse de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), les décarboxylases 1 et 2 de l'acide glutamique (GAD1 et GAD2) (Dracheva et al., 2004; Hashimoto et al., 2003; Steiner et al., 2016) ainsi que de plusieurs gènes (par exemple *RELN*, *NRG1*, *BDNF* ou encore *DISC1*) essentiels au bon développement des réseaux GABAergiques (pour revue voir : Dienel & Lewis, 2019; Schmidt & Mirnics, 2015) (Figure 5).



**Figure 5. Schéma récapitulatif de la dérégulation des systèmes dopaminergiques, et glutamatergiques et GABAergique dans la SCZ.**

(A) Chez l'individu sain les neurones glutamatergiques corticaux (en vert) vont faire un premier relais au niveau des interneurons GABAergiques (en bleu). L'activation des interneurons GABAergiques va réguler les projections glutamatergiques vers les neurones dopaminergiques (en orange) de l'aire tegmentale ventrale. Deux voies dopaminergiques sont ainsi régulées, l'une de manière directe par les projections glutamatergiques, la voie mésolimbique et l'autre de manière par un relais via les interneurons GABAergiques, la voie mésocorticale. (B) Chez une personne atteinte de schizophrénie (SCZ), un hypofonctionnement glutamatergique est observé, entraînant une suractivation à la fois des neurones dopaminergiques de la voie mésolimbique ainsi que des interneurons GABAergiques. La forte activation des interneurons GABAergiques de l'aire tegmentale

ventrale engendre un hypofonctionnement des neurones dopaminergiques de la voie mésocorticale. L'hyperactivité mésolimbique est corrélée à l'apparition des symptômes productifs alors que, l'hypofonctionnement mésocorticale à l'apparition des symptômes déficitaires et des déficits cognitifs. Les traits en pointillés indiquent un hypofonctionnement, les traits plus épais indiquent une hyperactivité. Adapté de (Percelay, 2021; Schwartz et al., 2012).

### **1.3. Prise en charge thérapeutique**

Dans la majorité des cas, des traitements médicamenteux sont nécessaires pour stabiliser les symptômes des patients atteints de SCZ et pour avoir une évolution favorable de la maladie. Les premiers neuroleptiques ont été mis au point dans les années 1950 avec en premier lieu la chlorpromazine, un neuroleptique ayant des propriétés antidopaminergiques et agissant comme antagoniste des récepteurs dopaminergiques de type 2 (D2) (Ban, 2007; Boyd-Kimball et al., 2019; Charpentier et al., 1952). La chlorpromazine, qui a été commercialisée sous le nom de Largactil<sup>®</sup>, agit sur les symptômes productifs notamment les délires et hallucinations et permet aussi de contrôler l'agitation des patients (Ban, 2007; Muskin et al., 1986). Ce neuroleptique possède cependant des effets indésirables comme une hyperprolactinémie, une intolérance au glucose avec prise de poids ainsi que de l'hyposialie<sup>1</sup> (Ban, 2007; Boyd-Kimball et al., 2019). Il a également des effets sur le système nerveux se traduisant par des symptômes extrapyramidaux, de la somnolence ou encore des convulsions dans certains cas. Néanmoins, la chlorpromazine a permis d'ouvrir le bal à la première génération d'antipsychotiques également désignés comme des neuroleptiques conventionnels ou encore nommés classiques ou typiques (Figure 6). Dans cette génération, on peut citer l'halopéridol (Haldol<sup>®</sup>) mis au point en 1957 (Janssen et al., 1959) et considéré comme un neuroleptique anti productif par son action ciblée sur les hallucinations et les délire mais, qui possède également des effets indésirables comme des symptômes extrapyramidaux (Dold et al., 2015; Mutică et al., 2016). La présence d'effets secondaires marqués et le manque d'efficacité contre les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs de cette première génération de neuroleptique, a entraîné le développement d'une seconde génération communément appelée neuroleptiques atypiques (Gründer et al., 2009). On retrouve dans cette catégorie la clozapine qui fut la première à être commercialisée en 1971 en Europe sous le nom de Clozaril<sup>®</sup>, ou encore la rispéridone mise à disposition au début des années 2000 (Risperdaloro<sup>®</sup>) (Foster and Goa, 1998; Hippius, 1999; Meltzer and McGurk, 1999) (Figure 7).

---

<sup>1</sup> Hyposialie est une diminution de la quantité de salive produite

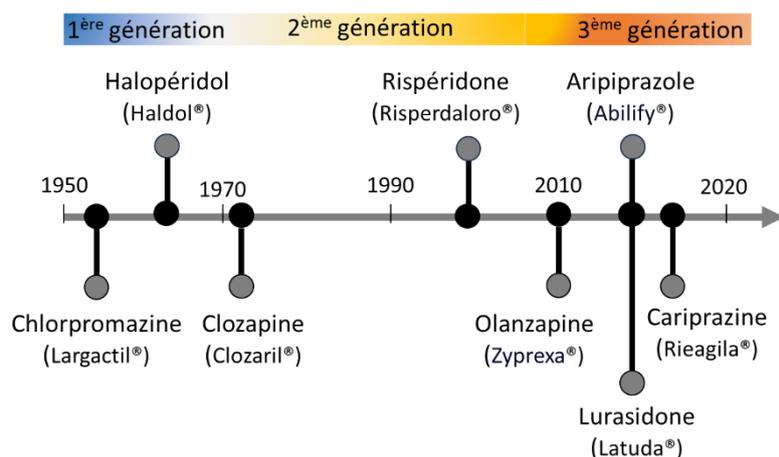
Cette deuxième génération de neuroleptiques permet d'obtenir les mêmes bénéfices sur les symptômes productifs tout en ayant davantage d'effets sur les symptômes déficitaires (Kapur et al., 1999; Remington et al., 2021, 2017; Shimizu et al., 2013) (Figure 6). Les différences observées entre les deux générations de neuroleptiques proviennent surtout des cibles thérapeutiques qui ne sont pas les mêmes. En effet bien que les neuroleptiques atypiques agissent également sur les récepteurs D2, ils ont une forte affinité pour d'autres types de récepteurs et notamment les récepteurs à la sérotonine de type 1 (5-HT1AR) et de type 2 (5-HT2AR) (Kapur et al., 1999; Newman-Tancredi et al., 1998).



**Figure 6. Classification actuelle des neuroleptiques typiques et atypiques.**

Les antipsychotiques conventionnels (ou typiques) vont agir principalement sur les symptômes positifs (ou productifs) mais, sont associés à de nombreux effets secondaires extrapyramidaux (EPS : *extrapyramidal symptoms*). Les antipsychotiques atypiques quant à eux vont aussi agir sur les symptômes productifs tout en ayant moins d'effet EPS. Certains neuroleptiques vont agir également sur les symptômes déficitaires et déficits cognitifs. Issu de (Gründer et al., 2009).

Malgré la disponibilité de ces médicaments et leur efficacité contre les symptômes productifs de la maladie, leurs effets contre les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs demeurent assez limités et environ 30 % des patients seraient résistants à ces traitements (Correll and Howes, 2021; Lindenmayer, 2000; Nucifora et al., 2019). C'est la raison pour laquelle une troisième génération de neuroleptiques a vu le jour dans les années 2000 avec l'aripiprazole, la cariprazine ou encore la lurasidone (Montgomery et al., 2023; Orzelska-Górka et al., 2022; Vasiliu, 2022). Cette nouvelle génération agit sur de nouvelles cibles notamment les récepteurs à la sérotonine de type 7 (5-HT7R) et auraient davantage d'effets contre les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs tout en ayant moins d'effets secondaires (Okubo et al., 2021).



**Figure 7. Graphique représentant les dates de mise sur le marché des différentes générations de neuroleptiques.**

Entre parenthèses le nom commercial des chefs de file de ces médicaments.

Cependant, malgré l'efficacité de ces neuroleptiques de dernières générations contre les symptômes productifs et déficitaires (au moins partiellement), les déficits cognitifs restent encore très peu améliorés.

D'autres sous-types de récepteurs à la sérotonine présentent un intérêt croissant pour le traitement des déficits cognitifs. C'est en particulier le cas des récepteurs à la sérotonine de type 6 (5-HT6R) qui présentent un profil intéressant du fait de leurs implications dans les processus cognitifs (Arnt and Olsen, 2011; Codony et al., 2011; Nikiforuk, 2014) et leurs effets bénéfiques sur les déficits de mémoire dans le contexte de la maladie d'Alzheimer (Geldenhuys and Van der Schyf, 2009; Meneses, 2014; Shimizu et al., 2013; Tsegay et al., 2020; Yamada et al., 2005) ou du vieillissement (Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; Quiedeville et al., 2014). Pour davantage de détails sur ces récepteurs et leurs intérêts, voir le Chapitre II : Le système sérotoninergiquesuivant.

Le développement de l'ensemble de ces traitements pharmacologiques ne peut se faire qu'en parallèle à une meilleure compréhension de la physiopathologie de la maladie nécessitant la mise au point et l'utilisation de modèles animaux pertinents. L'étude de ces modèles permet de mieux comprendre les interactions entre les facteurs de risque, d'appréhender les mécanismes neurobiologiques sous-jacents et de tester de nouveaux médicaments pour contrer les atteintes (Wilson and Terry, 2010). Cette recherche pré-clinique est d'autant plus importante dans le cadre de la SCZ compte tenu que les déficits cognitifs ne sont que très peu pris en charge par les traitements actuels.

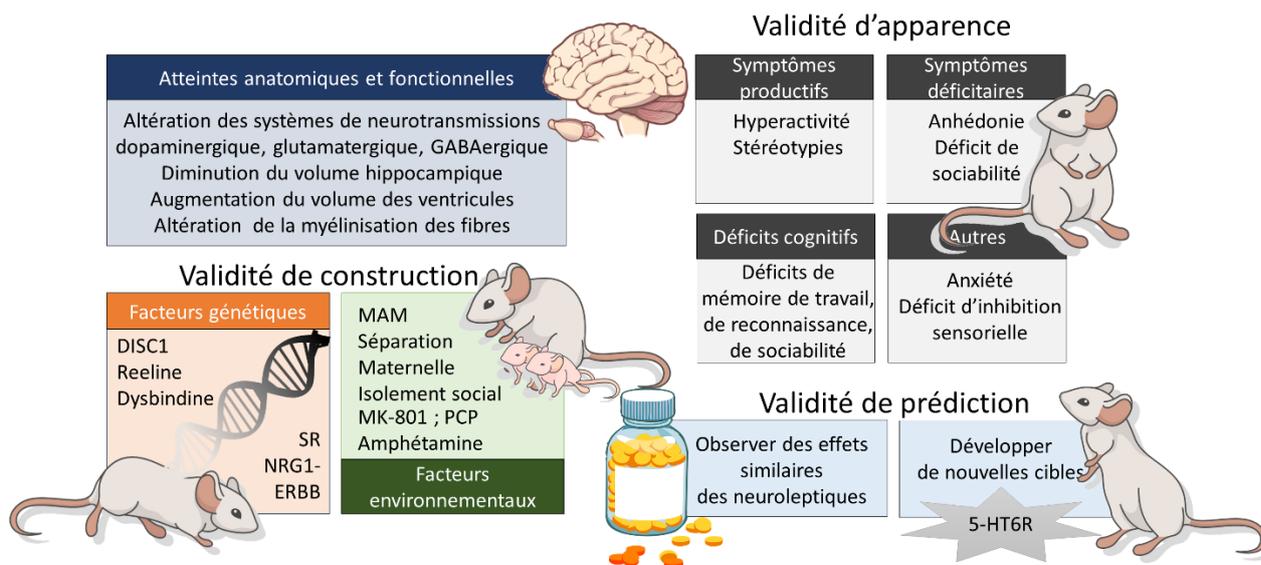
La prochaine partie de cette thèse consistera à présenter les différents modèles animaux disponibles et leurs caractéristiques pour montrer l'importance de leur utilisation dans le développement de nouveaux traitements.

## **1.4. Modèles animaux**

### **1.4.1. Validités des modèles**

Les modèles animaux sont essentiels à la compréhension des mécanismes d'une maladie. Ils doivent cependant respecter certains critères de validité afin qu'ils puissent modéliser le plus fidèlement les différents aspects de la maladie. Ainsi, on se réfère à trois types de validité (Belzung and Lemoine, 2011) (Figure 8) :

- Validité de construction : ce premier critère concerne la construction du modèle qui doit, théoriquement, reproduire l'étiologie de la maladie. Alors que pour certaines pathologies cela peut être simple, dans le cadre de la SCZ, l'étiologie étant mal définie, la meilleure validité de construction doit se baser sur l'hypothèse actuelle et donc la combinaison de plusieurs facteurs, afin de prendre en compte le côté multifactoriel de cette maladie (facteurs génétiques et/ou environnementaux).
- Validité d'apparence : ce second critère correspond à l'obtention du phénotype le plus proche possible de la maladie. Dans le contexte de la SCZ, cette validité consiste donc à rechercher non seulement des symptômes comportementaux productifs, déficitaires et/ou des déficits cognitifs, mais aussi à isoler des marqueurs anatomiques et fonctionnels.
- Validité de prédiction : Ce dernier critère repose sur le fait que le modèle animal doit présenter une réponse aux traitements pharmacologiques similaires aux observations cliniques. Ainsi, dans le cadre de la SCZ, les neuroleptiques ou les nouveaux médicaments développés doivent pouvoir améliorer les déficits observés. Cependant, comme les traitements actuellement disponibles visent préférentiellement les symptômes productifs, certains aspects de cette validité ne peuvent pas être testés.



**Figure 8. Représentation graphique des différents critères de validité nécessaire pour valider nos modèles animaux de schizophrénie.**

La validité d'apparence correspond à la présence de symptômes (encadrés gris). La validité de construction correspond au choix des facteurs de risque impliqués dans la maladie : des facteurs génétiques (encadré en orange) et des facteurs environnementaux (encadré en vert). La validité de prédiction correspond à la réponse au traitement qui doit être similaire dans le modèle comme en clinique. Deux options sont possibles : observer des effets similaires avec des neuroleptiques connus du marché ou développer de nouvelles cibles thérapeutiques (encadrés bleus). Les atteintes anatomiques et fonctionnelles peuvent à la fois appartenir à la validité de construction (retrouver des mécanismes similaires à la maladie) ainsi qu'à la validité d'apparence (encadré bleu foncé). *Figure réalisée à partir d'images de Freepik.*

Il paraît utopique de mimer l'ensemble des mécanismes et symptômes d'une maladie humaine aussi complexe chez un même animal, c'est pour cela que la plupart des modèles initiaux n'ont présenté qu'un seul facteur (modèle 1-hit). Une classification de ces modèles a pu être établie en fonction du facteur choisi et incluait des modèles pharmacologiques (MK-801, PCP, amphétamine, Kétamine), génétiques (*DISC1*, *SR*, *dysbindine*, *reeline*, *Microtubule Associated Protein 6 (MAP6)* etc.), neurodéveloppementaux (*Maternal Immune Activation (MIA)* et *methylazoxymethanol acetate (MAM)*) ou encore lésionnel (Bouet et al., 2016; Crunfli et al., 2022; Jones et al., 2011). Une description plus détaillée de ces modèles monofactoriels a été réalisée dans la partie introduction de la revue (voir 1.4.2 en page 16). Cependant, dès les années 2000 l'hypothèse multifactorielle de la SCZ a incité au développement de nouveaux modèles incluant deux (2-hit) ou trois facteurs (3-hit) de la SCZ (Fišar, 2023; Percelay et al., 2023). Ces modèles sont ainsi basés sur une construction plus complexe associant plusieurs facteurs de maladie et permettant notamment, de reproduire les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs, jusqu'à lors très peu observés dans les modèles 1-hit. Ces modèles multifactoriels permettent également d'améliorer l'aspect translationnel afin de développer

de nouveaux médicaments pour contrer plus spécifiquement ces symptômes (Guerrin et al., 2021; Moran et al., 2016).

Afin de mieux comprendre le choix des facteurs de risque de ces modèles multifactoriels et l'intérêt de les utiliser, une revue de la littérature des modèles 3-hit a été réalisée (soumise en octobre 2023 au *journal Neuroscience & Biobehavioral Reviews*) et est présentée ci-dessous.

#### 1.4.2. Revue

### **The 3-hit animal models of schizophrenia: improving strategy to decipher and treat the disease?**

**Solenn Percelay, Caroline Lahogue, Jean-Marie Billard, Thomas Freret, Michel Boulouard, Valentine Bouet**

Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, CYCERON, CHU Caen, COMETE UMR 1075, 14000 Caen, France

Soumise au journal *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*



Contents lists available at ScienceDirect

## Neuroscience and Biobehavioral Reviews

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/neubiorev](http://www.elsevier.com/locate/neubiorev)

## The 3-hit animal models of schizophrenia: Improving strategy to decipher and treat the disease?

Solenn Percelay<sup>1</sup>, Caroline Lahogue<sup>\*1</sup>, Jean-Marie Billard, Thomas Freret, Michel Boulouard, Valentine Bouet<sup>\*</sup>

Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, CYCERON, CHU Caen, COMETE UMR 1075, 14000 Caen, France

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Schizophrenia  
Animal models  
Multiple hit  
Genetic  
Environment  
Epigenetic

## ABSTRACT

Schizophrenia is a complex disease related to combination and interactions between genetic and environmental factors, with an epigenetic influence. After the development of the first mono-factorial animal models of schizophrenia (1-hit), that reproduced patterns of either positive, negative and/or cognitive symptoms, more complex models combining two factors (2-hit) have been developed to better fit with the multifactorial etiology of the disease. In the two past decades, a new way to design animal models of schizophrenia have emerged by adding a third hit (3-hit). This review aims to discuss the relevance of the risk factors chosen for the tuning of the 3-hit animal models, as well as the validities measurements and their contribution to schizophrenia understanding. We intended to establish a comprehensive overview to help in the choice of factors for the design of multiple-hit animal models of schizophrenia.

### 1. Introduction

In 1911, Eugen Bleuler introduced schizophrenia (SCZ) as a psychiatric disease characterized by a split mind, in continuity with Emil Kraepelin's description of dementia praecox (Bleuler, 1911). Nowadays, it is referred to as an invalidating psychiatric disorder affecting about 1% of worldwide population with a prevalence ratio of 1.42 between men and women (Aleman et al., 2003; Lee et al., 2018). SCZ is often distinguished from other psychiatric diseases (as depression or bipolar disorder) by a late age of onset (15 – 25 years old), which is lightly delayed for women, and a percentage of suicide attempts of about 5% during patient's life. Consequently, psychiatric hospitalization is often required (Palmer et al., 2005), representing a heavy social cost.

SCZ is an heterogeneous disorder with a wide range of symptoms that fluctuates between patients, leading the American Psychiatric Association to modify the class name of "schizophrenia" by "schizophrenia spectrum" between the two last versions of the Diagnostic and Statistical

Manual of mental health (DSM-4/5) (Biedermann and Fleischhacker, 2016; Fisher and Roget, 2014; Guze, 1995). For clinical diagnosis, the DSM nowadays rather considers a list of "characteristic symptoms" including delusions, hallucination, disorganized speech, catatonic behavior and negative symptoms (Fisher and Roget, 2014). SCZ symptoms have also been classified in three categories: positive symptoms (delusions, hallucinations, thought disorders), negative symptoms (anhedonia, avolition, social withdrawal) and cognitive deficits (impaired working memory and executive functions, decreased attention) (Wang et al., 2020; Winship et al., 2019). These symptoms, commonly used in preclinical SCZ-related literature (Ayhan et al., 2016; Comer et al., 2020; Dunn et al., 2020; Jones et al., 2011; Moran et al., 2016; Wang et al., 2020; Winship et al., 2019), are also accompanied by other signs such as anxiety (Achim et al., 2011; Bouet et al., 2011; Garay et al., 2015; Sun et al., 2017; Woloszynowska-Fraser et al., 2017) and sensory motor gating deficits (Khan and Powell, 2018).

Even if some factors have undoubtedly been correlated to an

*Abbreviations:* BDNF, Brain-Derived Neurotrophic Factor; CAR/C, Conditioned avoidance response; COMT, Catechol-O-methyltransferase; DISC1, Disrupted in schizophrenia 1; DSM-V, Diagnostic and Statistical Manual - Revision 5; GABA, Gamma-aminobutyric acid; GAD1, Glutamate decarboxylase 1; GAD67, Glutamate decarboxylase 67; GWAS, Genome-Wide Association Studies; HB, Hole-board task; I, Social isolation; K, Ketamine; MAP6/Ma, Microtubule-associated protein 6; MAM, Methylazoxymethanol acetate; MS/Ms, Maternal separation; NMDAR, N-Methyl-D-Aspartate receptor; NR1, Neuroregulin 1; PCP/P, Phencyclidine; Poly I, C, Polyinosinic-polycytidylic acid; PPI, Prepulse inhibition; RELN, Reelin; SCZ, Schizophrenia; Se, Selective breeding; TF, Tail-flick; THC/T, Tetrahydrocannabinol.

\* Corresponding authors.

E-mail addresses: [caroline.lahogue@unicaen.fr](mailto:caroline.lahogue@unicaen.fr) (C. Lahogue), [valentine.bouet@unicaen.fr](mailto:valentine.bouet@unicaen.fr) (V. Bouet).

<sup>1</sup> These authors contributed equally to this work

<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105526>

Received 12 October 2023; Received in revised form 8 December 2023; Accepted 23 December 2023

Available online 3 January 2024

0149-7634/© 2024 Elsevier Ltd. All rights reserved.

increased risk of SCZ, a definitive etiology of the disease remains to be strictly defined (Fig. 1).

At first, a genetic component, initially suspected by twin studies (McGue and Gottesman, 1991), is now widely admitted to bring a vulnerability to develop the disease. Numerous genome-wide association studies and comparative genomic hybridization arrays reported gene loci carrying single nucleotide polymorphism and copy number variants in schizophrenic patients (International Schizophrenia Consortium, 2009; Iyegbe and O'Reilly, 2022; Merikangas et al., 2022; Smeland et al., 2020; Smeland and Andreassen, 2022). Thus, a lot of genes have been identified to increase the risk to develop SCZ including those related to growth factors, inflammatory mechanisms and neural architecture (Shimizu et al., 2006), but also to neuronal communication involving dopaminergic, glutamatergic, serotonergic and GABAergic transmissions (Liu et al., 2019; Wahbeh and Avramopoulos, 2021). Second, a wealth of epidemiologic studies argues for a major role of environmental factors in contributing to the increased risk of SCZ, which could interfere with different developmental stages. Thus, perinatal stress appears as a critical mechanism which could result from direct body insults (prenatal infection, nutritional deficiency, obstetric complications such as hypoxia) or act indirectly via alterations of the mother's status (father death, war, ...) (Debnath et al., 2015). Also, childhood and adolescence are critical periods in which physical or sexual abuses but also urban life, migration and particularly drug consumption could represent traumatic events susceptible to facilitate the development of the disease (Davies et al., 2020; Mäki et al., 2005; Stilo and Murray, 2019). Finally, a role for epigenetic interventions defined as "any modification other than changes in DNA sequences affecting gene expression, whether those modifications have been shown to be stable or not" (Herrel et al., 2020) have been questioned more recently and first results already showed that methylation modifications of non-coding part of DNA and chromatin condensation are found in schizophrenic patients (Gusev et al., 2019; Mendizabal et al., 2019; Miller, 2022; Srivastava et al., 2021).

Preclinical models of SCZ have been developed for more than half a century and are still evolving to better understand the etiology of the disease and to improve treatments. Although mice and rats have been, and remain, the privileged species for model constructions, other non-mammalian species such as the zebrafish are increasingly used

(Campbell and Granato, 2020; Fontana et al., 2018). Although the behavioral assessment in fishes is still less complete and valuable than in rodents, economic views combined with the possibility of larger screening in fish models allow to consider higher possibilities of gene modifications and pharmacological treatments. Besides, in vitro and in silico models have also been used to better consider the patient biomaterial (Kálmán et al., 2016; Koszla et al., 2020) and understand the changes in neuronal connectivity (Chen, 1995) and these studies have been the subject of previous reviews (Deserno et al., 2017; Jeganathan and Breakspear, 2021; Murray and Anticevic, 2017; Rafi and Butler, 2020; Valton et al., 2017). Because the present review aims at focusing on the interest of increasing the number of risk factors to improve knowledge of the pathophysiological aspects and to improve treatments of SCZ, only mammal models are considered.

The first animal models of SCZ were developed in the 70 s'. By then, rats were mostly used and models tried to mimic the positive-like symptoms of the disease through the systemic administration of pharmacological agents (amphetamine, LSD) (Braf and Geyer, 1980; Gambill and Kornetsky, 1976; Stille and Sayers, 1975). In the 80 s', brain lesions models (through pharmacological or mechanical injuries) were developed to better consider the neurodevelopmental aspect of the disease (Dubach and Bowden, 1983; Kirkpatrick and Buchanan, 1990; Kline and Reid, 1985; Oades, 1982; Vilkov et al., 1983). In the 90 s', the hippocampus was highlighted as a specific brain region of interest, and became a target to induce several deficits mimicking some symptoms of SCZ, notably in rats (Halim and Swerdlow, 2000; Lipska et al., 1995; Schmajuk et al., 2000; Wan et al., 1995). Genetic advances led to a new interest for mice with the possibility to modify specific genes, particularly those highlighted as risk factors in Genome-Wide Association Studies (GWAS) (Lipska and Weinberger, 2000; Niculescu et al., 2001). Considering as a whole, these investigations indicate that numerous 1-hit SCZ models (genetic, neurodevelopmental, pharmacological, lesion...) have been developed and compared from each other. Therefore, each hit shows various SCZ-like symptoms (Banaszkiewicz et al., 2020; Białoń and Waśnik, 2022; Koszla et al., 2020; Morales-Medina et al., 2021; Navarrete et al., 2020; Wang et al., 2021). The 2000 s' represent the starting point in which the gene x environment interaction hypothesis (called GEI for Gene x Environment Interactions) has emerged with the first investigations combining two risk factors (Boucher et al.,

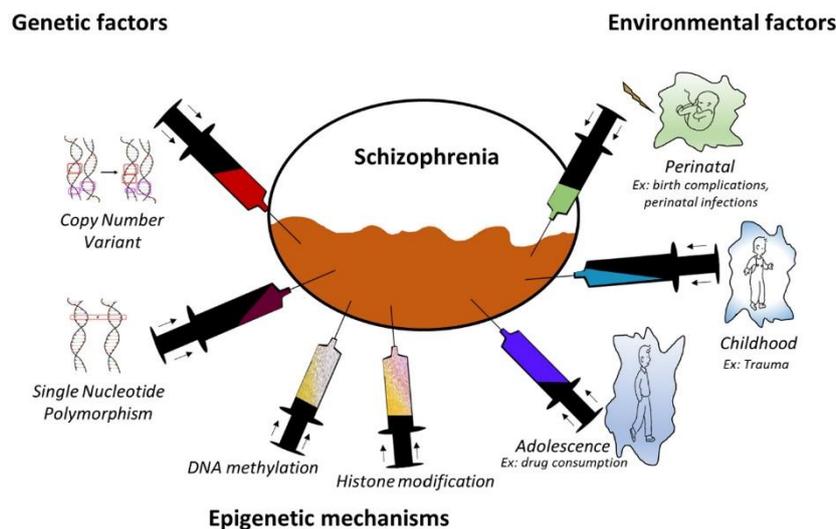


Fig. 1. General schematic view of SCZ risk factors including genetic components (left part), epigenetic contributions (such as DNA methylation or Histone modification) (middle part) and age-related environmental interventions (such as birth complications, perinatal infections, childhood trauma, or adolescence drug consumption for instance) (right part).

2007; Eells et al., 2006; Oliver and Davies, 2009). From these pioneering experiments until now, numerous 2-hit models with a wide range of paired risk factors have been constructed and their usefulness in the understanding of SCZ etiology has been reviewed in several publications (Ayhan et al., 2016; Comer et al., 2020; Dunn et al., 2020; Moran et al., 2016; Nimgaonkar et al., 2017; Wang et al., 2020).

In parallel with the necessity to improve the construction validity of SCZ models, the face validity has to improve at the same pace. Initially, even if few studies assessed social behavior (Gambill and Kornetsky, 1976; Ridley et al., 1979), only positive-like symptoms assessed through hyperlocomotion and stereotypies were considered (Borison and Diamond, 1978; Borison et al., 1977; Boullin, 1979; Sudilovsky, 1975). Thereafter, the range of behavioral measurements has extended to include more accurate social behavior, inhibition, learning and memory processes (Braff and Geyer, 1980; Ellenbroek et al., 1989; Kokkinidis and Anisman, 1981; Oades, 1982; Oliver and Davies, 2009; Weiner et al., 1984), aggressive and emotional behavior (Kline and Reid, 1985; Weiner et al., 1984). Sensory motor gating deficit became and remained a key symptom in SCZ models from 90's (Basińska, 1994; Lipska et al., 1995; Wan et al., 1995). Concomitantly, biochemical analyses and brain imaging were used to highlight functional and anatomical correlates to the disturbed behavior (Donaldson et al., 1982; Ellenbroek et al., 1989; Kline and Reid, 1985; Mamelak et al., 1985; Orzi et al., 1983; Vilkov et al., 1983). Nowadays, negative-like symptoms, cognitive deficits and sensorimotor gating deficits are the core interest to determine the face validity of animal models, as recently pointed out by Winship and collaborators (Winship et al., 2019). Through there is no doubt that the hundreds designed 1-hit and 2-hit animal models of SCZ have considerably increased our knowledge on the pathophysiology of the disease, they unfortunately have still not led to effective therapies rescuing all the deficits associated with the disorder (Dunn et al., 2020; Guerrin et al., 2021; Wang et al., 2020). This failure has then raised the question of whether the construction of the models remains insufficient to cover the multifactorial etiology of SCZ. If so, then animal models, combining more risk factors, would be more powerful and useful to improve again the construct validity (Ayhan et al., 2016; Burrows and Hannan, 2016; Misiak et al., 2018; Moran et al., 2016; Nimgaonkar et al., 2017; Smigielski et al., 2020).

This review therefore aims at considering recently designed multifactorial animal models, i.e. 3-hit. After presenting the hits selected to mimic risk factors known in human disease, as well as the validities measurements, we assess the advances and the effective contribution of this animal modeling strategy to SCZ understanding and review experimental data obtained with the different models. In addition, we attempt to consider possible approaches which could improve the validity of the 3-hit models, such as the contribution of epigenetic influences and the increased intra- and inter- group variability related to the increased number of factors.

## 2. Combined 3-hit animal models of schizophrenia

The very first 3-hit model of SCZ was published by (Chen et al., 2011) and constructed with environmental factors only. The other models described in the literature (see Table 1) are based on the multifactorial hypothesis of SCZ proposed by Ellenbroek in 2003, which postulated that a genetic susceptibility associated with early and late environmental insults is necessary to induce SCZ-related symptoms (Ellenbroek, 2003).

### 2.1. Choice of factors to improve construct validity

The large number of SCZ-related risk factors (genetic and/or environmental factors) has governed the expanded development of the design of several 1-hit and 2-hit animal models. For the 3-hit models, the same observation could arise and at least one genetic and one environmental factor has been done, except in the particular case of the

**Table 1**

Identification of construction strategies of the available 3-hit models of SCZ. The first three letters of the model names code for the type of risk factor selected for the construction ("g" for "genetic" and "e" for "environmental"), while the last three letters identify the nature of the factors: Ms: Maternal separation; C: Conditioned avoidance response training; P: Phencyclidine (PCP); K: Ketamine; D: Disc1 gene; T: Δ-9-TetraHydroCannabinol (THC); Ma: MAP6 gene; Mk: MK801 (dizocilpine); Se: Selective breeding; I: social Isolation.

Reference	Number	Model name
Chen et al. (2011)	1	eee_MsCK
Kekesi et al. (2015)	2	gee_SeIK
Büki et al. (2019)	3	
Sultana and Lee (2020)	4	gee_DMsk
Bouet et al. (2021)	5	gee_MaMsT
Perceley, (a) et al. (2021)	6	
Perceley, (b) et al. (2021)	7	gee_MaMsMk

eee\_MsCP model (see Table 1).

In order to facilitate the comparison of the currently available 3-hit models, Table 2 shows the genetic component (Factor 1, except for eee\_MsCP model), the early (mainly behavior interventions, Factor 2) and late (pharmacological treatments, Factor 3) environmental insults. In addition, the Fig. 2 resumes the specific design used in the respective investigations.

#### 2.1.1. Genetic factors

As pointed above, all 3-hit models of SCZ, excepted the very first one (Chen et al., 2011), included a genetic component consisting in either partial/total gene deletion in mice (Bouet et al., 2021; Perceley et al., 2021a, 2021b; Sultana and Lee, 2020) or behavior-selected strains (see the related Wisket section; (Adlan et al., 2022; Banki et al., 2020; Büki et al., 2022, 2019, 2018; Horvath et al., 2015, 2021a, 2021b, 2019, 2017, 2016; Kekesi et al., 2015; Petrovski et al., 2013; Szűcs et al., 2020, 2016b, 2016a).

#### 2.1.2. Genetic deletion

Even if they are not consistently found in schizophrenic patients, numerous genes alterations have been identified to increase the risk of SCZ (non-exhaustive list of genes: neuregulin1 (NRG1), disrupted in schizophrenia 1 (DISC1), catechol-o-methyltransferase (COMT), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and reelin (RELN)) (Legge et al., 2021; Moran et al., 2016; Ripke et al., 2014; Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomic, 2014). In preclinical studies, a large number of genetic modifications has been used alone (Jones et al., 2011; Wang et al., 2021) or in association with other factors (Guerrin et al., 2021; Moran et al., 2016) to investigate the SCZ-related pathophysiology and to induce behavioral impairments.

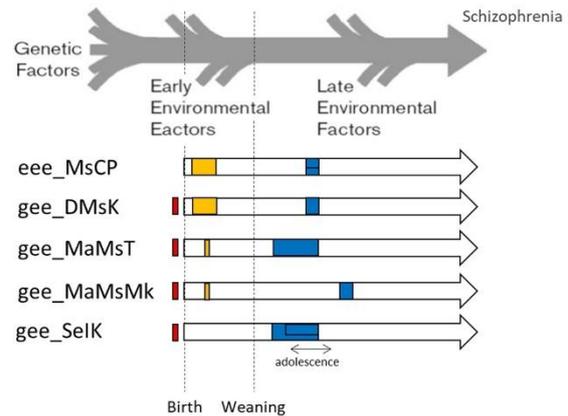
Regarding the gene selected for the design of the 3-hit models, the choice could be based on the available data in the 1-hit models. In this regard, DISC1, one of the earliest genes involved in SCZ, appears of particular interest (Callicott et al., 2005; Tomoda et al., 2016; Wang et al., 2018). In fact, DISC1 has a critical role in neuronal development during perinatal period (Jaaro-Peled, 2009; Jones et al., 2011) and its total deletion induces clear-cut SCZ-like phenotype (Clapcote et al., 2007; Clapcote and Roder, 2006; Niwa et al., 2010). In comparison, the choice of less studied Microtubule-associated protein 6 (MAP6) could seem at first sight more questionable. MAP6 is involved in neuronal cytoskeleton, architecture, synaptic plasticity, brain development (Deloulme et al., 2015; Shimizu et al., 2006) and its partial deletion induces slight cognitive and social deficits (Merenlender-Wagner et al., 2014; Volle et al., 2013). But the aim of using this strategy was then to determine if the mild less studied phenotype driven by the genetic manipulation of MAP6 could be exacerbated by early and late stressful events (Volle et al., 2013). This approach could appear more promising to investigate the multifactorial etiology of SCZ with a better construct validity since in SCZ etiology, the genetic predisposition alone is not

**Table 2**  
Comparison of the construction strategies selected for the different 3-hit models of SCZ. Same conventions as in Table 1.

Model name	Specie	Strain	Sex	N/ groupe	Factor 1
eee_MsCK	rat	Sprague-Dawley	male / female	4 - 5	Chronic maternal separation 3 h PND 3-10
gee_SelK	rat	Wistar	male / female	6-12	Strain selection with 5 functional indices (WISKET strain)
gee_DMsk	mouse	C57Bl6	?	12	DISC1 mutation (129 S:Δ DISC1)
gee_MaMsT	mouse	C57Bl6	male	7-13	MAP6 gene partial deletion in C57Bl6
gee_MaMsMk	mouse	C57Bl6	female	8-14	genetic background MAP6 gene partial deletion in C57Bl6
Model name	Specie	Strain	Sex	N/ groupe	Factor 2
eee_MsCK	rat	Sprague-Dawley	male / female	4 - 5	Conditioned avoidance response training PND 49-56
gee_SelK	rat	Wistar	male / female	6-12	Social isolation PND 22-49
gee_DMsk	mouse	C57Bl6	?	12	Chronic maternal separation 4 h/day PND 3-12
gee_MaMsT	mouse	C57Bl6	male	7-13	Acute maternal separation 24 h PND 9
gee_MaMsMk	mouse	C57Bl6	female	8-14	Acute maternal separation 24 h PND 9
Model name	Specie	Strain	Sex	N/ groupe	Factor 3
eee_MsCK	rat	Sprague-Dawley	male / female	4 - 5	Repeated PCP treatment PND 49-56, 3.0 mg/kg, sc
gee_SelK	rat	Wistar	male / female	6-12	Repeated Ketamine treatment PND 35-49, 30 mg/kg i.p.
gee_DMsk	mouse	C57Bl6	?	12	Repeated Ketamine treatment PND 45-50, 30 mg/kg i.p.
gee_MaMsT	mouse	C57Bl6	male	7-13	Repeated THC treatment PND 32-52,

**Table 2 (continued)**

Model name	Specie	Strain	Sex	N/ groupe	Factor 1
gee_MaMsMk	mouse	C57Bl6	female	8-14	8 mg/kg s.c./i.p. Repeated MK801 treatment PND 60-65, 0.05 mg/kg i.p.



**Fig. 2.** Before birth, red boxes symbolize genetic modifications while yellow and blue boxes correspond to the exposure to the early and late factors, respectively. Box sizes indicate the duration at which the factors were applied. Same conventions as in Table 1.

Comparison of the specific time course design selected in each 3-hit model with respect to the “Ellenbroek’s arrow” (adapted from Ellenbroek and Riva, 2003).

supposed to be sufficient to induce a SCZ-like phenotype.

**2.1.2.1. Selective breeding.** Another approach that leads to a genetic model of SCZ is the selective breeding. The first model based on selection of behavioral trait, and published in 1990, consisted in selecting rats for their propensity to develop catatonic syndrome (Kamyshanskaya et al., 1990). Selective breeding has been repetitively performed to select the model based on open field reaction, gnawing test and apomorphine reaction (Ellenbroek et al., 1995), apomorphine-induced prepulse inhibition (PPI) deficit reaction (del Río et al., 2014) and PPI response (Dieckmann et al., 2007). These studies are based on the idea that selective breeding could bring genetic aspects to animal model of SCZ. Another genetically-based model is Roman rats (selected on high vs low active avoidance response) which exhibit a relevant phenotype of SCZ with impulsivity, hyperlocomotion, deficits in social behavior, impaired attentional and cognitive disabilities (for a review see: Fernández-Teruel et al., 2021; Oliveras et al., 2023). A recent review supports this opinion arguing that contrary to a single gene mutation, selective breeding selects specific traits which are more relevant to mimic polygenic risks in SCZ (Guerrin et al., 2021). It is worth notice that while genetic deletion has been more investigated in mice, selective breeding in rats could be more useful since they show a higher level of brain development and could therefore be more reliable models of SCZ. In the context of 3-hit model, only the selective line “Wisket” has been investigated and specifically described in the Wisket part of this review.

**2.1.3. Environmental factors**

Several types of environmental factors have been used in 1-hit

(Koszla et al., 2020; Winship et al., 2019) and 2-hit (Guerrin et al., 2021; Khan and Powell, 2018) animal models of SCZ that can be roughly divided into neurodevelopmental stresses and pharmacological-induced insults (Kolar et al., 2021; Koszla et al., 2020; Wang et al., 2020). Another classification distinguishes five categories including early life stress, infection or immune activation, brain lesion, chronic phencyclidine (PCP) exposure, and gestational methylazoxymethanol acetate (MAM) exposure (Dunn et al., 2020). Within the neurodevelopmental stresses are included polyinosinic:polycytidylic acid (poly I:C) and MAM gestational exposure (to produce intra-uterine inflammation), maternal stress and social isolation, neonatal hippocampal lesions and perinatal hypoxia (Kolar et al., 2021; Koszla et al., 2020; Morales-Medina et al., 2021; Wang et al., 2020). Regarding the pharmacological insults, major interests have focused on glutamatergic and dopaminergic-related drugs (Kolar et al., 2021; Morales-Medina et al., 2021; Wang et al., 2020), but investigations with endocannabinoid compounds also recently emerged (Banaszkiewicz et al., 2020).

**2.1.3.1. Neurodevelopmental stresses.** Three types of early risk environmental factor have been used so far for the construction of the 3-hit models (see Table 2) including maternal separation (MS) (Bouet et al., 2021; Perceley et al., 2021a, 2021b; Sultana and Lee, 2020), social isolation (Petrovski et al., 2013) and conditioned avoidance response (CAR) (Chen et al., 2011).

MS is the most frequently selected early environmental stress used with diverse protocols to mimic childhood trauma which is recognized as a major risk factor of SCZ (Bouet et al., 2011; Popovic et al., 2019). This hit is often chosen for its ability to induce deleterious effects on late behavior abilities (particularly social) and deficits in brain neurotransmission systems, both being susceptible to be increased by an associated risk factors (Bouet et al., 2011; Ellenbroek and Riva, 2003; Marco et al., 2015). In 3-hit models, chronic MS has been tested in mice and rats (gee\_DMsk (Sultana and Lee, 2020) and eee\_MsCP (Chen et al., 2011), respectively) whereas acute MS has been only applied to mice (gee\_MaMsT (Bouet et al., 2021; Perceley et al., 2021a) and gee\_MaMsMk (Perceley et al., 2021b)). These procedures have been applied before weaning in order to maximize the putative neurodevelopmental effect. Conversely, social isolation and CAR were applied after weaning (Chen et al., 2011) and must be therefore considered as late factors in the view of the “Ellenbroek’s arrow” design (see Fig. 2). CAR protocol brings the advantage to consider inter-individual differences. Indeed, “weight” of the factor depends on the propensity of rats to escape the footstock. However, it is worth notice that statistical analyses did not bring supplementary information even if authors showed a positive correlation between number of avoidances and percent of PPI change (Chen et al., 2011).

Overall, from the perspective of construct validity, the protocol of MS seems to be the most relevant neurodevelopmental factor on the basis of its construct (timing in relation to brain development, translational aspects with childhood trauma, effects that can be modulated by further factors).

**2.1.3.2. Pharmacological factors.** In the 3-hit models available so far, the third and late environmental risk factor is often/mostly pharmacological. Glutamatergic transmission is concerned in most cases (with a specific focus on antagonists acting on the N-Methyl-D-Aspartate receptor (NMDAR) subtype of glutamate receptors), excepted for the gee\_MaMsT model in which the cannabinoid transmission was targeted. Several non-competitive NMDAR antagonists have been used including phencyclidine (PCP), ketamine and MK801 (dizocilpine) (Adell, 2020; Kehrer, 2008). This is in line with the pharmacological approach privileged in previous 1- and 2-hit models of SCZ in which glutamatergic (or dopaminergic) system was mainly considered (Kolar et al., 2021; Morales-Medina et al., 2021; Wang et al., 2021). This strategy is supported by evidences that the glutamatergic system is disrupted in SCZ

(Adell, 2020; Beck et al., 2020; Liu et al., 2016) and that subanesthetic doses of NMDAR antagonists induce psychosis-like effects in humans (Beck et al., 2020; Kalsi et al., 2011; Powers et al., 2015). In the 3-hit strategy, the gee\_MaMsMk model used sub-active dose of MK801 to allow synergistic effects with other factors. It must be noticed that few differences exist in term of ligand potency between the different antagonists that could favor one type of ligand over another (Javitt and Zukin, 1991).

In the more recent gee\_MaMsT model, a cannabinoid agonist ( $\Delta$ -9-TetraHydroCannabinol (THC)) was chronically administered during adolescence, as the third pharmacological factor. Epidemiological as well as preclinical studies supports this choice, with an increased risk of developing psychosis for high cannabis consumers (Arseneault et al., 2002; Di Forti et al., 2019; Renard et al., 2016; Rubino and Parolaro, 2014) and schizophrenic-mimicking symptoms in rodents treated with THC (Cha et al., 2006; Martín-Cuevas et al., 2023; Renard et al., 2016; Rubino et al., 2009). Gee\_MaMsT uses subcutaneous administration of active doses of THC (8 mg/kg/day) for three weeks, to induce behavioral and neurotransmitter system alterations. This protocol allows for interactive effects with COMT genetic deletion (Behan et al., 2012; O’Tuathaigh et al., 2010).

## 2.2. Face validity

### 2.2.1. Experimental limitations

One important aspect that limits the use of a 3-hit strategy is the increased number of the experimental and/or control subgroups that have to be considered, reaching eight to obtain each combination and to infer the effect of each factor. In addition, recommendations argue that males and females have to be investigated, the pathology affecting both genders (Aleman et al., 2003; Hafner et al., 1993; Lee et al., 2018; Seeman, 2019; Stevens, 2002). Altogether, 16 different experimental groups are therefore to be considered for a complete study. Considering the difficulty to conduct such a large array in terms of management, data acquisition and statistics processing, authors have made choices in the 3-hit model studies that are recapitulated in Table 3.

Table 3 shows the diversity of choices concerning the selected subgroups over the different studies. It indicates that only the full control (no intervention) and the 3-hit groups were systematically included. Concerning the gee\_MaMsT model, the first study included three groups (only the F2 +F3, 3 F and control groups) in male mice (Bouet et al., 2021) while the second included both sexes but without the F2 +F3 group (Perceley et al., 2021a).

In addition to the wide range of experimental subgroups, a large variety of items are considered to assess the face validity of SCZ models (Winship et al., 2019) (see Table 4). Regarding the behavioral aspects, positive- and negative-like symptoms, cognitive deficits and sensory motor gating have been analyzed. All items have been studied in gee\_DMsk (Sultana and Lee, 2020) and gee\_MaMsT (Bouet et al., 2021) models while only the sensory motor gating (to explore sensory motor gating deficit) was assessed in the eee\_MsCP model (Chen et al., 2011). In addition, behavioral tests are sometimes performed before applying the late factors, such as pup ultrasonic vocalizations and motor activity recordings, defecation measures, in addition to an initial PPI measurement. Conditioned avoidance training was used as late factor and as behavioral test to measure learning and memory (Chen et al., 2011). Alternately, in the gee\_MaMsMk model study, positive- and negative-like symptoms as well as cognitive deficits have been considered but not the sensory motor gating (Perceley et al., 2021b).

Although the behavior analysis is the most used approach to determine the face validity of the 3-hit models of SCZ, other biological parameters are investigated, such as glutamate decarboxylase 1 (GAD1) mRNA and protein expression levels in hippocampus and prefrontal cortex through molecular biology investigation; cortical thickness and hippocampus volume measurements through anatomical imaging techniques; axonal degeneration and demyelination of the corpus callosum

**Table 3**

Description of the experimental subgroups selected in the studies on 3-hit models. F1, F2 and F3 correspond to first, second and third factor, respectively. Crosses indicate the subgroups considered in the design of the studies.

Reference	Model name	Sex	Groups							
			Control	F1	F2	F3	F1 +F2	F1 +F3	F2 +F3	3 F
Chen et al. (2011)	eee_MsCK	♂	x	x	x	x	x	x	x	x
		♀	x	x	x	x	x	x	x	x
Kekesi et al. (2015)	gee_SeIK	♂	x	x	-	-	-	-	x	x
		♀	x	x	-	-	-	-	x	x
Büki et al. (2019)	gee_SeIK		x	-	-	-	-	-	-	x
			x	-	-	-	-	-	-	x
Büki et al. (2022)	gee_SeIK		x	-	-	-	-	-	-	x
			-	-	-	-	-	-	-	-
Sultana and Lee (2020)	gee_DMsk		x	x	x	x	x	x	x	x
Bouet et al. (2021)	gee_MaMsT	♂	x	-	-	-	-	-	x	x
		♀	-	-	-	-	-	-	-	-
Percelay, (a) et al. (2021)	gee_MaMsT	♂	x	-	-	-	-	-	-	x
		♀	x	-	-	-	-	-	-	x
Percelay, (b) et al. (2021)	gee_MaMsMk	♂	-	-	-	-	-	-	-	-
		♀	x	x	x	x	-	-	-	x

**Table 4**

Comparison of the face validity measurements performed in the 3-hit models of SCZ. Crosses indicate that the corresponding approach has been considered to characterize the model.

Model name	Positive like	Negative-like	Cognitive	PPI	Other	Non behavioral approaches
eee_MsCP	-	-	-	x	-	-
gee_SeIK	-	x	x	x	Pain sensitivity	Molecular biology Electrophysiology
gee_DMsk	x	x	x	x	Despair	-
gee_MaMsT	x	x	x	x	Affective state	Imaging Immunohistochemistry Electrophysiology
					Anxiety	
gee_MaMsMk	x	x	x	-	-	-

through diffusion tensor imaging; density of parvalbumin-containing GABAergic interneurons and pyramidal cells in hippocampus and prefrontal cortex through immunohistochemistry; and functional properties and synaptic plasticity of the CA1 hippocampal networks through ex vivo electrophysiology (see Table 4) (Büki et al., 2019; Oliveras et al., 2023; Percelay et al., 2021a).

Examination of Table 4 clearly indicates that although behavioral analyses have been systematically considered amongst studies (except for the eee\_MsCP model (Chen et al., 2011), the other items analyzed so far are miscellaneous from a study to the other limiting comparisons between models.

2.2.2. Synergistic effects of combination

The interesting point in combining factors is to know whether this could be an efficient procedure to provoke a more pronounced SCZ-related phenotype, and if a synergy effects between each factor could occur. Concerning the behavioral point of view, negative-like symptoms and cognitive deficits as well as sensory motor gating deficits (except for the gee\_DMsk model) are usually displayed by models with the combination of the three factors. Alternately, positive-like symptoms are not systematically detected and only the gee\_MaMsMk model displays the triad of -like symptoms. The gee\_MaMsMk therefore appears as the most relevant model for subsequent pharmacological researches aimed at characterizing new therapeutic drugs for several symptoms of SCZ.

Regarding non-behavioral investigations, a comparative analysis remains impossible given that the parameters assessed are not the same across the different models. For instance, the glutamatergic neurotransmission has been studied by means of electrophysiological recordings only in the gee\_MaMsT models. Besides, although the 3-hit models display both behavioral and non-behavioral deficits, some do not systematically show the expected SCZ-like symptoms. However, one has to keep in mind that SCZ symptomatology includes a multitude of

symptoms which are not all expressed by schizophrenic patients. Indeed, the DSM-V considers diagnostic of the disease only when 2 over the 5 characteristic symptoms are present (Fisher and Roget, 2014), rendering each model interesting to mimic the diversity of patients' symptomatology.

At this stage, it may be questioned whether the use of the 3-risk factor combination is indeed a relevant strategy. Actually, generated at the same time as the 3-hit subgroups, the 1-hit and 2-hit subgroups may already have robust face validity. In the gee\_DMsk model for example, the DISC1 mutation alone already affects the behavioral phenotype (decreases sociability, social novelty, increase despair), and the ketamine administration alone also alters the same behaviors (Sultana and Lee, 2020). When these two factors are combined, the same level of sociability and despair is found while the social novelty deficit is reduced.

Interestingly, it happens that some a single factors known to affect behavior, did not always show the expected SCZ-like symptoms when combined with other factors in 3-hit models. For instance, MS alone impacts social behavior (Bouet et al., 2021; Percelay et al., 2021a; Sultana and Lee, 2020) but combined with other factors did not reproduce this decrease in sociability (Percelay et al., 2021b; Sultana and Lee, 2020). In the same idea, MS alters sensory motor gating in rats (Ellenbroek and Cools, 2002) but this effect is not reproduce in eee\_MsCP model in which authors highlighted the lack of reproducibility of early MS, whatever the protocol used (chronic or acute) (Chen et al., 2011). The inconstancy of MS effects between and within protocols has already been reported (Nishi et al., 2013; Tractenberg et al., 2016). On the contrary, factors described as ineffective alone could induce deficits in combined models. For instance, the MK801 administration alone in the gee\_MaMsMk model impaired memory in the novel object recognition test but combined with other factors, the deficit was offset (Percelay et al., 2021b).

Concerning the 2-hit subgroups, intermediary phenotypes are usually observed when considered in the few available 3-hit studies (Chen et al., 2011; Perceley et al., 2021b; Sultana and Lee, 2020). However, the interpretation of behavioral alterations in 2-hit groups is often complex and may differ from one behavioral trait to another. In the gee\_DMsk model, authors conclude that all combinations may influence the behavioral phenotype but to a variable degree (Sultana and Lee, 2020). In the gee\_MaMsT model associating two last factors (MS and THC administration), an intermediary phenotype is highlighted by behavioral results (anxiety increase and sociability decrease in 3-hit but not 2-hit animals) and imaging measurements (volume of the hippocampus and radial diffusivity in the corpus callosum decreased in 3-hit but not in 2-hit animals) (Bouet et al., 2021; Perceley et al., 2021b). Conversely, some 2-hit subgroups may present less severe deficits 1-hit, questioning the existence of compensatory mechanisms. This is the case for the eee\_MsCP model in which the combination of MS with CAR restored PPI deficits induced by CAR alone (Chen et al., 2011).

2.2.3. Interpretation difficulties

As postulated for the initial eee\_MsCP 3-hit model, the addition of a third risk factor increases the degree of complexity, particularly in terms of interactions between factors. Several *scenari* are possible such as opposite effects as a first possibility. Reinforcement of synergistic effects may represent a second possibility where the three factors progressively generate the deficit. Finally, a third alternative is that the deficit observed after 2 factors regresses after the addition of the third one.

It can therefore be noticed that whatever the scenario, interactions can be classified into two major categories: *i.* synergy in which a deficit induced by factor(s) is potentiated by the next one, and *ii.* resilience/resistance in which the deficit induced by factor(s) is weakened by the next one (see Fig. 3). The interpretation of these interactions remains complex for several reasons:

- Interaction effects between factors do not appear sometimes in the same manner according to the parameter which is measured: a deficit appears for one parameter but not for another. The use of a “schizophrenia score” (see “Wisket model” section) as done in first studies facilitates the reading of interaction effects (Kekesi et al., 2015; Petrovski et al., 2013).
- It happens that individual responses distribution induces distinct interaction effects in animals. In the behavior tests of the gee\_DMsk study for instance, authors considered a bimodal distribution of animals submitted to genetic mutation and proposed an interactive effect in probability rather than in the magnitude of the observed deficits (Sultana and Lee, 2020).
- Timing of factor’s occurrence (perinatal and weaning are the sensitive periods) seems essential to produce synergistic effects (as discussed in Dunn and collaborators review about 2-hit models) (Dunn et al., 2020).

SCZ-related symptoms are particularly heterogeneous between patients, as evidenced by the evolution of diagnostic criteria in consecutive versions of the DSM (Bleuler, 1911; Dollfus et al., 2019). To achieve an isomorphism between animal models and the human pathology (the so-called face validity), one has to consider this heterogeneity between individual phenotypes. Indeed, usually, in preclinical researches, homogeneity and low variability are targeted to highlight statistical effects (for example by using only one gender, only inbred animals or highly standardized measurements). These selections are in line with data management and statistical analysis, largely based on independent mean comparisons for each measurement. In multifactorial models of SCZ, each factor brings individual response variation and therefore supplementary layer of heterogeneity between subjects. Mean comparison-based analysis struggles with this variability and 3-hit model studies generally use different methods of data analysis. Linear correlations have been sometimes used to analyze the data as in the eee\_MsCP and gee\_MaMsT models, allowing to obtain relations between the data obtained (example: significant negative correlation between radial diffusivity values in corpus callosum and sociability index) (Bouet et al., 2021; Chen et al., 2011). In the eee\_MsCP model, a significant positive correlation suggests a higher PPI improvement in rats with high avoidance level, a result smoothed by the authors since only one group of animals (2-hit MS/CAR group only) displayed this correlation. In the same way, in the gee\_MaMsT model, a significant negative correlation between integrity of corpus callosum fibers and sociability index was observed, but only in the 2-hit group. Even if this approach is consistent with the use of non-classical statistical analysis, definitive interpretation remains often ascertain. Considering this point, several studies tried to improve statistical approaches with correlation analyses (Chen et al., 2011; Perceley et al., 2021b) and total “schizophrenia score” (Kekesi et al., 2015).

Certainly, it has to be specified that the term “ synergistic ” which derives from a pharmacological context, is not clearly defined in the case of studies of 3-hit animal models. Indeed, it is often ascribed to an effect that occurs only when factors are combined. It differs from the notion of additive effect corresponding to an addition of the response of magnitude generated by factor. Additive and synergistic effects are well distinguished in epidemiological studies on SCZ as recently reviewed (Guerrin et al., 2021).

In our studies, a synergistic effect appeared only in the gee\_MaMsMk model that promotes hyperlocomotion not present in the 1-hit and 2-hit groups (Perceley et al., 2021b). In the eee\_MsCP model (Chen et al., 2011), the CAR factor (stress factor - F2) protects from deficits induced by further maternal separation (stress factor - F1). But, when PCP is applied as the third factor (F3), the deficit shown in maternally separated mice is restored. In that case, we have a retrograde action of CAR factor on MS (resilience effect). The first stress factor induces a vulnerability state, which alone does not allow to have a complete SCZ-like expected phenotype (triad of symptoms and PPI deficit) but,

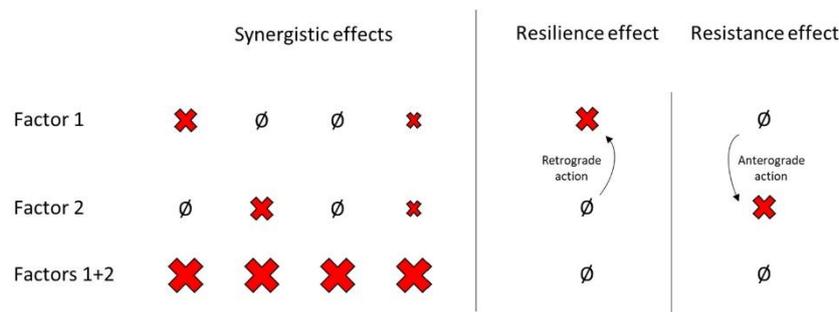


Fig. 3. Difference between synergistic, resilience and resistance effects in the case of two factors exposure. The black slashed O (∅) indicates the absence of deficit and the red cross the presence of deficit induced by the factor. The larger the red cross is, the most important the deficit is.

associated with another factor, potentiate the deficits. Nevertheless, the two environmental stressors do not result in this complete phenotype which appears only after the addition of PCP and only in the 3 F group (the synergistic effect of PCP is not present in PCP + MS or PCP+CAR groups) (Chen et al., 2011). The question may then arise: is it more relevant to choose two factors that have common or different mechanisms (the same neurotransmission system for instance) to induce a complete phenotype?

In the case of the *gee\_DMsk* model of Sultana and Lee (2020), two factors have a similar target and the startle reflex deficit was observed only in 2-hit but not 3-hit animals. Indeed, *DISC1* is a genetic factor interacting with NMDAR and regulates its function (Yan et al., 2014) and ketamine is a non-competitive antagonist of acting on the same subtype of glutamate receptors. Both provoke NMDAR hypofunction and behavioral impairments such as working memory impairment and sociability deficits. Interestingly, the deletion of *DISC1* prevents ketamine-induced deficits in the startle reflex of mice, which can be viewed as an anterograde action (resistance effect). Alternately, for other parameters, such as sociability or social novelty, the combination of *DISC1* and ketamine exacerbates deficits indicating a synergistic effect between factors. Thus, the effects of factors combination closely depend on the mechanisms involved and the parameters assessed. Focus on the same target can be an important advantage to exacerbate deficits in some cases or to induce resistance or resilience effects, thus preventing the deficits, in other cases.

2.3. Wisket model

In the literature related to 3-hit models of SCZ, the Wisket model is the most considered as attested by more than 20 publications (see Oliveira et al., 2023). In this model, a selective breeding, based on behavioral tests, is considered as genetic factor and is named herein by *gee\_SelK* (Se: selective breeding, I: social isolation, K: ketamine, Table 1). Initially, the selective breeding started in 2008 from Wistar rats of both sexes submitted to tail flick tests before social isolation combined with ketamine daily administrations (from 5 to 7 weeks of age; Fig. 4) (Büki et al., 2019; Kekesi et al., 2015; Petrovski et al., 2013). After one week of washout, animals with the highest pain sensitivity were selected for the next breeding generation. Authors improved their protocol gradually with the addition of PP test from the 3rd generation in order to add lowest PPI performances to the selection process. Finally, from the 6th generation, performances of the novel object recognition were used to select animals with impaired memory (Petrovski et al., 2013). Animals from the 15th (Petrovski et al., 2013), 17th (Kekesi et al., 2015),

21th (Büki et al., 2019) generations, and further were used for behavioral and molecular characterizations (see Fig. 4; (Adlan et al., 2022; Banki et al., 2020; Büki et al., 2022, 2019, 2018; Horvath et al., 2015, 2021a, 2021b, 2019, 2017, 2016; Kekesi et al., 2015; Petrovski et al., 2013; Szücs et al., 2020, 2016b, 2016a). Compared to the other 3-hit models, the *gee\_SelK* Wisket model therefore does not include per se an early developmental risk factor directly applied (Petrovski et al., 2013).

The choice of selective breeding process to build a 3-hit model is innovative and brings a more translational approach along with the etiology of SCZ, given that it gathers several conditions accumulated during successive generations. Conversely, this approach does not allow to distinguish the impact of a specific gene as well as the influence of each factor on the phenotype.

The first study concerning the *gee\_SelK* Wisket model included four experimental groups of male rats: control, selective breeding (Factor 1), two late factors (isolation Factor 2 + ketamine Factor 3) and 3-hit (F1 + F2 + F3) (see Table 3) (Petrovski et al., 2013). Alteration of pre-pulse inhibition was found in both selective breeding and 3-hit groups, suggesting that the breeding process is the only factor which affects sensory motor gating. The total SCZ score (a categorical management of data, based on quartile discrimination of each measurement) highlighted that selective breeding and 3-hit groups displayed similar deficits (Petrovski et al., 2013). In the Wisket model, the association of two late factors (F2 + F3) leads to an intermediary phenotype (intermediary schizophrenic score), mostly in females (Kekesi et al., 2015). This score is then secondly submitted to classical means comparisons that allows to distinguish more general groups differences. The two publications which considered the total “schizophrenia score” did not discuss the interest of this useful approach which did not seem to be embraced any longer because it is no more considered since 2016. Further analysis of the *gee\_SelK* Wisket model revealed more specific sex-dependent alterations, indicating the relevance of inclusion of both males and females (Kekesi et al., 2015). In the same line several studies included both sexes (Büki et al., 2019, 2018; Horvath et al., 2017), whereas the majority of other Wisket model publications only concerned male rats (Adlan et al., 2022; Banki et al., 2020; Büki et al., 2022, 2019, 2018; Horvath et al., 2015, 2021a, 2021b, 2019, 2017, 2016; Kekesi et al., 2015; Petrovski et al., 2013; Szücs et al., 2020, 2016b, 2016a).

Behavioral deficits displayed by Wisket rats include altered pain sensitivity (Banki et al., 2020; Kekesi et al., 2015), disrupted motor activity (Horvath et al., 2015; Kekesi et al., 2015), and altered cognition in hole board and AMBITUS task (Horvath et al., 2019, 2017; Kekesi et al., 2015), possibly linked to modifications in oscillatory pattern of

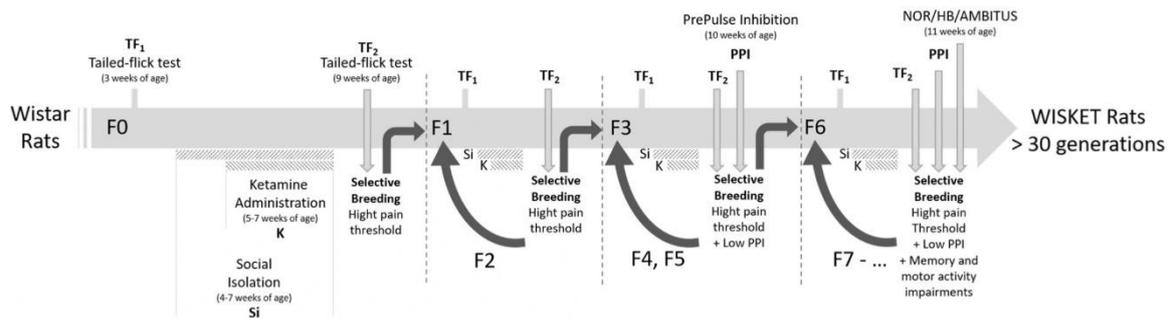


Fig. 4. Selective breeding process of WISKET rats. Male and female Wistar rats (the parental generation F0) were submitted to a first tail-flick test at 3 weeks of age (TF1) before social isolation from 4 to 7 weeks of age (Si) and ketamine administrations (30 mg/kg, i.p., 5 times/week, 15 injections in total) from 5 to 7 weeks of age (K). After one week of washout, a second tailed-flick test was performed (TF2) to select 5 animals of each sex with the highest pain threshold. Their offsprings (G1) and the next generation (G2) were submitted to the same procedure. From the third generation (F3), a prepulse inhibition test was added to the TF2 to select animals with the lower PPI level. From the 6th generation (F6), another selection test was added to determine animals with the highest memory and motor activity impairments (NOR: novel object recognition (Petrovski et al., 2013); HB: appetitively motivated cognitive hole-board task (Kekesi et al., 2015); AMBITUS: automatic recording of exploratory activity and cognitive behaviors (Horvath et al., 2017)).

sleep-wake stages (Adlan et al., 2022). Sex-dependent aggressive behavior (Büki et al., 2019), motivational deficit (Horvath et al., 2019; Büki et al., 2022), impaired pupillary control (Büki et al., 2018) and altered thermoregulation (Horvath et al., 2015) are also reported. Besides, and in addition to changes in brain structures (Büki et al., 2022), this model develops neurotransmission system alterations including modification of oxytocin receptors expression (Banki et al., 2020), GAD1 (Büki et al., 2019), mu opioid receptors expression (Szücs et al., 2016a), dopaminergic change (Horvath et al., 2021a; Szücs et al., 2020) and in cannabinoid transmission (Szücs et al., 2016b) associated with electrophysiological alterations (Adlan et al., 2022; Horvath et al., 2016).

### 3. Schizophrenia models' contributions

Because the study of the 3-hit animal models of SCZ is just emerging, we cannot augur the future impact of this strategy on advances in SCZ researches though some remarks can be drawn.

#### 3.1. Contribution to the pathophysiology of schizophrenia

The main difficulty for improving preclinical research on SCZ remains the lack of clear-cut etiology of the disease. First 1-hit animal models provided important information on the effects of genetic deregulation (through gene deletion) and those of altered neurotransmission systems (through NMDAR antagonists or dopaminergic agonists) in the pathophysiology of the disease. However, even if the use of multifactorial and neurodevelopmental models reaches a scientific consensus, the underlying processes driving the pathology still remain hypothetical. Indeed, the contribution of multifactorial models to the identification of interaction mechanisms remains limited so far and future studies would better consider this aspect. Epigenetic mechanisms could be an interesting direction for investigations, particularly when animal models are based on at least one environmental factor (see the section below) (Miller, 2022; Roth et al., 2009). Furthermore, although the 3-hit models are based on the hypothesis of a multifactorial etiology of SCZ, additive factors are not yet considered such as neuro-inflammation and intestinal dysbiosis changes that have also been associated with the development of the disease (for review see: Buckley, 2019; Socala et al., 2021).

Recently, epigenetic mechanisms have been considered as an attractive molecular avenue of researches (Ayhan et al., 2016; Khavari and Cairns, 2020; Roth et al., 2009; Smigielski et al., 2020). Looking for a better understanding the etiology of SCZ, epigenetic mechanisms were initially addressed in the 80's (Brody, 1981). In psychiatric disorders, DNA methylation changes have been observed in candidate genes (focusing on glutamatergic, dopaminergic, serotonergic and cholinergic systems) as well as in global and specific microRNA (Richetto and Meyer, 2021; Smigielski et al., 2020). Moreover, several *post-mortem* studies on schizophrenic patients have shown increase in methylation of several genes involved in brain development such as RELN which encodes the reelin protein controlling neuronal migration during development (Abdolmaleky et al., 2005) or GAD1 which encodes the 67-kDa isoform of the GABA-synthesizing enzyme glutamic acid decarboxylase (GAD67) (Huang and Akbarian, 2007). In preclinical studies, the link between psychiatric diseases and epigenetic modifications has been studied through two different ways: first, by considering the modification itself as a rodent model of SCZ (1-hit) (Grayson and Dunn, 2021; Tremolizzo et al., 2002), or by considering the modification as a specific parameter to be measured in the SCZ models (Bludau et al., 2019; Richetto and Meyer, 2021). Epigenetic processes can be influenced by environmental factors (Dolinoy et al., 2007; Sutherland and Costa, 2003). A low maternal care (decrease in linking and grooming) (Weaver et al., 2004; Zhang et al., 2010) or social isolation (Siuda et al., 2014) have been shown to induce several epigenetic modifications such as DNA methylation (Weaver et al., 2004; Zhang et al., 2010), histone methylation or histone acetylation modifications (Siuda et al., 2014).

Interestingly, the epigenetic modifications are strain-specific (Kember et al., 2012). Moreover, hypermethylation on the promoter region (Nr3C1) of the glucocorticoid receptor induced by MS or low maternal care was found in the mouse (Szyf et al., 2005; Weaver et al., 2004) but not in the rat hippocampus (Daniels et al., 2009). The impact of epigenetic modifications may be considerable when interactions between two or more risk factors in SCZ models are concerned (Ayhan et al., 2016) and could be helpful to understand resilience, resistance and synergistic effects.

#### 3.2. Contributions to drug development

The first generation of antipsychotic drugs, with chlorpromazine as a leader (commercialized in 1952), decreases patient agitation and acute symptoms of psychosis, like hallucinations (Boyd-Kimball et al., 2019). Such treatments are characterized by high affinity and competitive antagonism towards dopaminergic D2 receptors, leading to the neuroleptic activity (Creese et al., 1976; Seeman et al., 1975). Unfortunately, the first generation have sedative effects and deleterious impact on negative and cognitive symptoms. The development of new, second generation, antipsychotics, has allowed to improve the care of schizophrenic patients (Grilly, 2007; Hippus, 1999). Even if they have similar efficacy on positive symptoms, they have less side effects and somehow beneficial impact on negative and cognitive ones (Leucht et al., 2009). One can now consider that antipsychotic drugs improve positive symptoms, but are not sufficiently efficient on negative and cognitive deteriorations, still with side effects (Bost, 2016; Divac et al., 2014; Tandon, 2002), and finally that about 30% of patients resist to these treatments (Nucifora et al., 2019; Sheitman and Lieberman, 1998). Moreover, these drugs have distinct pharmacodynamic profiles, requiring dosage adjustment in relation with efficacy and patient tolerance. Although many mono factorial animal models have been developed since the 70's, the mechanisms and the causes of SCZ remain poorly understood and the contribution of 1-hit animal models to developed new treatments has not been that significant (Ellenbroek and Cools, 2002). The limits of developing new therapeutic targets seem to be now reached with mono factorial models (Kilts, 2001). Conversely, the characterization of cognitive and negative symptoms in multifactorial models represents a real improvement that will help to develop new therapeutic strategies against SCZ (Bouet et al., 2021; Büki et al., 2019; Kekesi et al., 2015; Percelay et al., 2021b; Sultana and Lee, 2020). Until now, 3-hit models are not yet currently used to test new therapies but they mostly help to better understand the pathophysiology of the disease (Moran et al., 2016). Only the Wisket model has considered the effects of clozapine on cognitive and negative impairments, but without any improvement (Horvath et al., 2021b). Clozapine can be considered as a model for antipsychotic development (for review see Nucifora et al., 2019).

### 4. Conclusion

Modeling human diseases in animals provides, in the best case, information on putative therapeutic targets and comprehension of physiopathological mechanisms. The better the models mimic the pathology, the better the advances to treat patients. Although numerous animal models have been generated over decades to mimic SCZ, efficient treatments are still lacking. Although our understanding of the SCZ-related pathophysiology has increased exponentially since the early first studies, a link between the increased complexity of animal models and the development of new effective drugs has often failed. The question therefore arose to know whether these models (1-hit, 2-hit, 3hit) are yet complex enough to mimic the disease. Established multifactorial etiology of SCZ is a strong argument to promote tuning and validation of new 3-hit animal models, with a powerful construct validity. All behavioral alterations reported in 3-hit studies are relevant and encourage to consider that this combined strategy is particularly

appropriate to model as close as possible the SCZ etiology. Recently, theoretical models considering parasite x genotype x stress interactions hypothesize the putative implication of parasitological and neuro-immunological conditions as a polygenic risk in SCZ or predictors for the onset of the disease (Contopoulos-Ioannidis et al., 2022; Meyer, 2013; Rantala et al., 2022). Thus, even if these theoretical aspects are not yet used in the 3-hit strategy, it would certainly be of interest to take them into account to improve the validity of the multifactorial models of SCZ.

Characterization of a new 3-hit model takes time and effort, particularly if we consider the number of intermediate groups. So far, only five models with different construct strategies have been investigated (Bouet et al., 2021; Chen et al., 2011; Perceley et al., 2021b; Petrovski et al., 2013; Sultana and Lee, 2020). Among them, only the Wisket model was deeply characterized, with more than 20 publications (Adlan et al., 2022; Banki et al., 2020; Büki et al., 2022, 2019, 2018; Horvath et al., 2015, 2021a, 2021b, 2019, 2017, 2016; Kekesi et al., 2015; Petrovski et al., 2013; Szűcs et al., 2020, 2016b, 2016a). The other 3-hit models still necessitate more thorough characterization to broaden the spectrum of complex SCZ models and, consequently, the spectrum of SCZ-like phenotypes as extensively as possible (Bouet et al., 2021; Chen et al., 2011; Perceley et al., 2021b, 2021a; Sultana and Lee, 2020). The combination of 3 factors takes into account the multifactorial etiology of SCZ but understanding of nature of the interactions between different factors (resilience, resistance and synergistic effects) and the underlying mechanisms represent a priority path to be considered. This will enable to develop new pharmacological strategies, at least directed to negative symptoms and cognitive deficits which are nowadays not supported, as well as to reduce adverse effects. For example, combination therapy (Koola et al., 2014; Wolff-Menzler et al., 2010) or multi-target approaches to design new drugs (Kondej et al., 2018; Stepnicki et al., 2021) are, promising strategies as recently considered in Alzheimer's disease (Albertini et al., 2021; Ismaili et al., 2017). The 3-hit models could indeed be used to test multi-target compounds considering their relevance in SCZ and the presence of negative and cognitive symptoms-like.

**CRedit authorship contribution statement**

**SP:** Writing – original draft, Writing – review & editing. **CL:** Writing – original draft, Writing – review & editing. **JMB:** Writing – review & editing. **TF:** Writing – review & editing. **MB:** Conceptualization, Writing – review & editing. **VB:** Conceptualization, Writing – review & editing.

**Declaration of Competing Interest**

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

**Acknowledgments**

We wish to thank the Federation Hospitalo-Universitaire A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P, and the Region Normandy for their financial help in developing new animal models of schizophrenia.

**References**

Abdolmaleky, H.M., Cheng, K.H., Russo, A., Smith, C.L., Faraone, S.V., Wilcox, M., Shafa, R., Glatt, S.J., Nguyen, G., Ponte, J.F., Thiagalingam, S., Tsuang, M.T., 2005. Hypermethylation of the reelin (RELN) promoter in the brain of schizophrenic patients: A preliminary report (B). *Am. J. Med. Genet. - Neuropsychiatr. Genet.* 134, 60–66. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.30140>.

Achim, A.M., Maziade, M., Raymond, É., Olivier, D., Mérette, C., Roy, M.A., 2011. How prevalent are anxiety disorders in schizophrenia? a meta-analysis and critical review on a significant association. *Schizophr. Bull.* 37, 811–821. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp148>.

Adell, A., 2020. Brain NMDA receptors in schizophrenia and depression. *Biomolecules* 10, 1–27. <https://doi.org/10.3390/biom10060947>.

Adlan, L.G., Csordás-Nagy, M., Bodosi, B., Kalnár, G., Nyúl, L.G., Nagy, A., Kekesi, G., Büki, A., Horvath, G., 2022. Sleep-wake rhythm and oscillatory pattern analysis in a

multiple hit schizophrenia rat model (Wisket). *Front. Behav. Neurosci.* 15 <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.799271>.

Albertini, C., Salerno, A., de Sena Murteira Pinheiro, P., Bolognesi, M.L., 2021. From combinations to multitarget directed ligands: a continuum in Alzheimer's disease polypharmacology. *Med. Res. Rev.* 41, 2606–2633. <https://doi.org/10.1002/med.21699>.

Aleman, A., Kahn, R.S., Selten, J.P., 2003. Sex differences in the risk of schizophrenia evidence from meta-analysis. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 565–571. <https://doi.org/10.1111/j.1464-0597.1985.tb01327.x>.

Arseneault, L., Cannon, M., Poulton, R., Murray, R., Caspi, A., Moffitt, T.E., 2002. Cannabis use in adolescence and risk for adult psychosis: longitudinal prospective study. *Br. Med. J.* 325, 1212–1213. <https://doi.org/10.1136/bmj.325.7374.1212>.

Ayhan, Y., McFarland, R., Pletnikov, M.V., 2016. Animal models of gene-environment interaction in schizophrenia: a dimensional perspective. *Prog. Neurobiol.* 136, 1–27. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.10.002>.

Banaszkiewicz, I., Biala, G., Kruk-Slonka, M., 2020. Contribution of CB2 receptors in schizophrenia-related symptoms in various animal models: short review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 114, 158–171. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.04.020>.

Banki, L., Biki, A., Horvath, G., Kekesi, G., Kis, G., Somogyvári, F., Jancsó, G., Vécsei, L., Varga, E., Tuboly, G., 2020. Distinct changes in chronic pain sensitivity and oxytocin receptor expression in a new rat model (Wisket) of schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 714, 134561 <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134561>.

Basinska, A., 1994. Sensory overload and schizophrenia: sensory gating as a measure of dysfunction of stimuli filtration. *Psychiatr. Pol.* 28, 171–182.

Beck, K., Hindley, G., Borgan, F., Ginstet, C., McCutcheon, R., Brugger, S., Driesen, N., Ranganathan, M., D'Souza, D.C., Taylor, M., Krystal, J.H., Howes, O.D., 2020. Association of ketamine with psychiatric symptoms and implications for its therapeutic use and for understanding schizophrenia: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw. Open* 3, e204693. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.4693>.

Behan, A.T., Hryniewiecka, M., O'Tuathigh, C.M.P., Kinsella, A., Cannon, M., Karayiorgou, M., Gogos, J.A., Waddington, J.L., Cotter, D.R., 2012. Chronic adolescent exposure to delta 9 tetrahydrocannabinol in COMT mutant mice: impact on indices of dopaminergic, endocannabinoid and GABAergic pathways. *Neuropsychopharmacology* 37, 1773–1783. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.24>.

Biala, M., Wasik, A., 2022. Advantages and limitations of animal schizophrenia models. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 5968. <https://doi.org/10.3390/ijms23115968>.

Biedermann, F., Fleischhacker, W.W., 2016. Psychotic disorders in DSM-5 and ICD-11. *CNS Spectr.* <https://doi.org/10.1017/S1092852916000316>.

Bleuler, E., 1911. *Dementia Praecox ou groupe des schizophrénies*. [Dementia Praecox oder Gruppe der Schizophrenien] [1993].

Bludau, A., Royer, M., Meister, G., Neumann, I.D., Menon, R., 2019. Epigenetic regulation of the social brain. *Trends Neurosci.* 42, 471–484. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2019.04.001>.

Borison, R., Diamond, B., 1978. A new animal model for schizophrenia: interactions with adrenergic mechanisms. *Biol. Psychiatry* 13, 217–225 [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(78\)90431-3](https://doi.org/10.1016/0006-3223(78)90431-3).

Borison, R.L., Havdala, H.S., Diamond, B.L., 1977. Chronic phenylethylamine stereotypy in rats: a new animal model for schizophrenia? *Life Sci.* (1), 117–122. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(77\)90431-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(77)90431-3).

Bost, A., 2016. Pharmacologie des antipsychotiques: vers une adaptation individuelle du traitement de la schizophrénie.

Boucher, A.A., Arnold, J.C., Duffy, L., Schofield, P.R., Micheau, J., Karl, T., 2007. Heterozygous neuregulin 1 mice are more sensitive to the behavioural effects of Δ9-tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology* 192, 325–336. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0721-3>.

Bouet, V., Lecrux, B., Tran, G., Freret, T., 2011. Effect of pre- versus post-weaning environmental disturbances on social behaviour in mice. *Neurosci. Lett.* 488, 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.11.033>.

Bouet, V., Perceley, S., Leroux, E., Diarra, B., Léger, M., Delcroix, N., Andrieux, A., Dollfus, S., Freret, T., Boulouard, M., 2021. A new 3-hit mouse model of schizophrenia built on genetic, early and late factors. *Schizophr. Res.* 228, 519–528. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.11.043>.

Boullin, D., 1979. Biochemical methodology for studying affective disorders. *Encephale* 5, 521–531.

Boyd-Kimball, D., Gonczy, K., Lewis, B., Mason, T., Siliiko, N., Wolfe, J., 2019. Classics in chemical neuroscience: chlorpromazine. *ACS Chem. Neurosci.* 10, 79–88. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.8b00258>.

Braff, D., Geyer, M., 1980. Acute and chronic LSD effects on rat startle: data supporting an LSD-rat model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 15, 909–916.

Brody, E.B., 1981. Can mother-infant interaction produce vulnerability to schizophrenia? *J. Nerv. Ment. Dis.* 169, 72–81. <https://doi.org/10.1097/00005053-198102000-00002>.

Buckley, P.F., 2019. Neuroinflammation and schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rep.* 21, 72 <https://doi.org/10.1007/s11920-019-1050-z>.

Büki, A., Kalnár, G., Kekesi, G., Benedek, G., Nyúl, L.G., Horvath, G., 2018. Impaired pupillary control in "schizophrenia-like" WISKET rats. *Auton. Neurosci. Basic Clin.* 213, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2018.05.007>.

Büki, A., Horvath, G., Benedek, G., Ducza, E., Kekesi, G., 2019. Impaired GAD1 expression in schizophrenia-related WISKET rat model with sex-dependent aggressive behavior and motivational deficit. *Genes Brain Behav.* 18, 1–12. <https://doi.org/10.1111/gbb.12507>.

Büki, A., Bohár, Z., Kekesi, G., Vécsei, L., Horvath, G., 2022. Wisket rat model of schizophrenia: Impaired motivation and, altered brain structure, but no anhedonia. *Physiol. Behav.* 244 <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113651>.

- Burrows, E.L., Hannan, A.J., 2016. Cognitive endophenotypes, gene environment interactions and experience-dependent plasticity in animal models of schizophrenia. *Biol. Psychol.* 116, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2015.11.015>.
- Callicott, J.H., Straub, R.E., Pezawas, L., Egan, M.F., Mattay, V.S., Hariri, A.R., Verchinski, B.A., Meyer-Lindenberg, A., Balkissoon, R., Kolachana, B., Goldberg, T. E., Weinberger, D.R., 2005. Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 8627–8632. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500515102>.
- Campbell, P.D., Granato, M., 2020. Zebrafish as a tool to study schizophrenia-associated copy number variants. *DMM Dis. Model. Mech.* 13 <https://doi.org/10.1242/dmm.043877>.
- Cha, Y.M., White, A.M., Kuhn, C.M., Wilson, W.A., Swartzwelder, H.S., 2006. Differential effects of delta9-THC on learning in adolescent and adult rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 83, 448–455. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.03.006>.
- Chen, E.Y.H., 1995. A neural network model of cortical information processing in schizophrenia II – role of hippocampal cortical interaction: a review and a model. *Can. J. Psychiatry* 40, 21–26. <https://doi.org/10.1177/070674379504000107>.
- Chen, J., Wang, Z., Li, M., 2011. Multiple “hits” during postnatal and early adulthood periods disrupt the normal development of sensorimotor gating ability in rats. *J. Psychopharmacol.* 25, 379–392. <https://doi.org/10.1177/0269881109354929>.
- Clapcote, S.J., Roder, J.C., 2006. Deletion polymorphism of Discl1 is common to all 129 mouse substrains: implications for gene-targeting studies of brain function. *Genetics* 173, 2407–2410. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.060749>.
- Clapcote, S.J., Lipina, T.V., Millar, J.K., Mackie, S., Christie, S., Ogawa, F., Lerch, J.P., Trimble, K., Uchiyama, M., Sakuraba, Y., Kaneda, H., Shiroishi, T., Houslay, M.D., Henkelman, R.M., Sled, J.G., Gondo, Y., Porteous, D.J., Roder, J.C., 2007. Behavioral phenotypes of Discl1 missense mutations in mice. *Neuron* 54, 387–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.04.015>.
- Comer, A.L., Carrier, M., Tremblay, M.-É., Cruz-Martín, A., 2020. The inflamed brain in schizophrenia: the convergence of genetic and environmental risk factors that lead to uncontrolled neuroinflammation. *Front. Cell. Neurosci.* 14, 274 <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00274>.
- Contopoulos-Ioannidis, D.G., Gianniki, M., Ai-Nhi Truong, A., Montoya, J.G., 2022. Toxoplasmosis and schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of prevalence and associations and future directions. *Psychiatr. Res. Clin. Pract.* 4, 48–60. <https://doi.org/10.1176/appi.prcp.20210041>.
- Creese, I., Burt, D.R., Snyder, S.H., 1976. Dopamine Receptor Binding Predicts Clinical and Pharmacological Potencies of Antischizophrenic Drugs Author (s): Ian Creese, David R. Burt and Solomon H. Snyder Published by: American Association for the Advancement of Science Stable URL: (<http://www>) 192, 481–483.
- Grilly, J., 2007. The history of clozapine and its emergence in the US market: a review and analysis. *Hist. Psychiatry* 18, 39–60. <https://doi.org/10.1177/0957154X07070335>.
- Daniels, W.M.U., Fairbairn, L.R., Van Tilburg, G., McEvoy, C.R.E., Zigmond, M.J., Russell, V.A., Stein, D.J., 2009. Maternal separation alters nerve growth factor and corticosterone levels but not the DNA methylation status of the exon 17 glucocorticoid receptor promoter region. *Metab. Brain Dis.* 24, 615–627. <https://doi.org/10.1007/s11011-009-9163-4>.
- Davies, C., Segre, G., Estradé, A., Radua, J., De Micheli, A., Provenzani, U., Oliver, D., Salazar de Pablo, G., Ramella-Cravaro, V., Besozzi, M., Dazzan, P., Miele, M., Caputo, G., Spallarossa, C., Crossland, G., Ilyas, A., Spada, G., Politi, P., Murray, R. M., McGuire, P., Fusar-Poli, P., 2020. Prenatal and perinatal risk and protective factors for psychosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Psychiatry* 7, 399–410. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30057-2](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30057-2).
- Debnath, M., Venkatasubramanian, G., Berk, M., 2015. Fetal programming of schizophrenia: Select mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 49, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.003>.
- Deloume, J.C., Gory-Fauré, S., Mauconduit, F., Chauvet, S., Jonckheere, J., Boulan, B., Mire, E., Xue, J., Jany, M., Maucuer, C., Deparis, A.A., Montigon, O., Daoust, A., Barbier, E.L., Bosc, C., Deglon, N., Brocard, J., Denarier, E., Le Brun, I., Pernet-Gallay, K., Vilgrain, I., Robinson, P.J., Lahrech, H., Mann, F., Andrieux, A., 2015. Microtubule-associated protein 6 mediates neuronal connectivity through Semaphorin 3E dependent signalling for axonal growth. *Nat. Commun.* 6 <https://doi.org/10.1038/ncomms8246>.
- Deserno, L., Heinz, A., Schlagenhaut, F., 2017. Computational approaches to schizophrenia: a perspective on negative symptoms. *Schizophr. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.10.004>.
- Di Forti, M., Quattrone, D., Freeman, T.P., Tripoli, G., Gayer-Anderson, C., Quigley, H., Rodriguez, V., Jongsma, H.E., Ferraro, L., La Cascia, C., La Barbera, D., Tarricone, I., Berardi, D., Szöke, A., Arango, C., Tortelli, A., Velthorst, E., Bernardo, Miguel, Del-Ben, C.M., Menezes, P.R., Seltén, J.P., Jones, P.B., Kirkbride, J.B., Rutten, B.P., de Haan, L., Sham, P.C., van Os, J., Lewis, C.M., Lynskey, M., Morgan, C., Murray, R.M., Amoretti, S., Arrojo, M., Baudin, G., Beards, S., Bernardo, Miquel, Bobes, J., Bonetto, C., Cabrera, B., Carracedo, A., Charpeaud, T., Costas, J., Cristofalo, D., Cuadrado, P., Díaz Caneja, C.M., Ferchout, A., Franke, N., Frijda, F., García Bernardo, E., García-Portilla, P., González, E., Hubbard, K., Jamain, S., Jiménez-López, E., Leboyer, M., López Montoya, G., Lorente Rovira, E., Marcelino Loureiro, C., Marrazzo, G., Martínez, C., Matteis, M., Messchaert, E., Moltó, M.D., Nacher, J., Olmeda, M.S., Parellada, M., González Peñas, J., Pignon, B., Rapado, M., Richard, J.R., Rodríguez Solano, J.J., Roldán Díaz, L., Ruggeri, M., Sáiz, P.A., Sánchez, E., Sanjuán, J., Sartorio, C., Schürhoff, F., Seminerio, F., Shuhama, R., Sidel, I., Stilo, S.A., Termorshuizen, F., Tosato, S., Tronche, A.M., van Dam, D., van der Ven, E., 2019. The contribution of cannabis use to variation in the incidence of psychotic disorder across Europe (EU-GEI): a multicentre case-control study. *Lancet Psychiatry* 6, 427–436. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(19\)30048-3](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(19)30048-3).
- Dieckmann, M., Freudenberg, F., Klein, S., Koch, M., Schwabe, K., 2007. Disturbed social behavior and motivation in rats selectively bred for deficient sensorimotor gating. *Schizophr. Res.* 97, 250–253. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2007.08.007>.
- Divac, N., Prostran, M., Jakovcević, I., Cerovac, N., 2014. Second generation antipsychotics and extrapyramidal adverse effects. *Biomed. Res. Int.* 2014 <https://doi.org/10.1155/2014/656370>.
- Dolinoy, D.C., Weidman, J.R., Jirtle, R.L., 2007. Epigenetic gene regulation: linking early developmental environment to adult disease. *Reprod. Toxicol.* 23, 297–307. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.08.012>.
- Dollfus, S., Delouche, C., Hervochon, C., Mach, C., Bourgeois, V., Rothamel, M., Tréhou, M., Vandeveld, A., Guillin, O., Morello, R., 2019. Specificity and sensitivity of the self assessment of negative symptoms (SNS) in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 211, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.07.012>.
- Donaldson, J., McGregor, D., LaBella, F., 1982. Manganese neurotoxicity: a model for free radical mediated neurodegeneration? *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 60, 1398–1405. <https://doi.org/10.1139/y82-208>.
- Dubach, M., Bowden, D., 1983. Response to intracerebral dopamine injection as a model of schizophrenic symptomatology. *Prog. Clin. Biol. Res.* 131, 157–184.
- Dunn, A.L., Michie, P.T., Hodgson, D.M., Hams, L., 2020. Adolescent cannabinoid exposure interacts with other risk factors in schizophrenia: a review of the evidence from animal models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 116, 202–220. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2020.06.028>.
- Eells, J.B., Mislis, J.A., Nikodem, V.M., 2006. Early postnatal isolation reduces dopamine levels, elevates dopamine turnover and specifically disrupts prepulse inhibition in Nurr1-null heterozygous mice. *Neuroscience* 140, 1117–1126. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.12.065>.
- Ellenbroek, B., Willemsen, A., Cools, A., 1989. Are antagonists of dopamine D1 receptors drugs that attenuate both positive and negative symptoms of schizophrenia? A pilot study in Java monkeys. *Neuropsychopharmacology* 2, 191–199. [https://doi.org/10.1016/0893-133x\(89\)90022-5](https://doi.org/10.1016/0893-133x(89)90022-5).
- Ellenbroek, B.A., 2003. Animal models in the genomic era: possibilities and limitations with special emphasis on schizophrenia. *Behav. Pharmacol.* 14, 409–417. <https://doi.org/10.1097/01.fbp.0000087736.21047.3c>.
- Ellenbroek, B.A., Cools, A.R., 2002. Early maternal deprivation and prepulse inhibition: the role of the postdeprivation environment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73, 177–184. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)00794-3](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)00794-3).
- Ellenbroek, B.A., Riva, M.A., 2003. Early maternal deprivation as an animal model for schizophrenia. *Clin. Neurosci. Res.* 3, 297–302. [https://doi.org/10.1016/S1566-2772\(03\)00090-2](https://doi.org/10.1016/S1566-2772(03)00090-2).
- Ellenbroek, B.A., Geyer, M.A., Cools, A.R., 1995. The behavior of APO-SUS rats in animal models with construct validity for schizophrenia. *J. Neurosci.* 15, 7604–7611. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.15-11-07604.1995>.
- Fernández-Teruel, A., Oliveras, I., Cañete, T., Río-Álamos, C., Tapias-Espinosa, C., Sampedro Viana, D., Sánchez González, A., Sanna, F., Torrubia, R., González Maso, J., Driscoll, P., Morón, I., Torres, C., Aznar, S., Tobaña, A., Corda, M.G., Giorgi, O., 2021. Neurobehavioral and neurodevelopmental profiles of a heuristic genetic model of differential schizophrenia and addiction-relevant features: The RHA vs. RLA rats. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 131, 597–617. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.09.042>.
- Fisher, G., Roget, N., 2014. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, in: *Encyclopedia of Substance Abuse Prevention, Treatment, and Recovery*. American Psychiatric Pub. <https://doi.org/10.4135/9781412964500.n104>.
- Fontana, B.D., Mezzomo, N.J., Kalueff, A.V., Rosenberg, D.B., 2018. The developing utility of zebrafish models of neurological and neuropsychiatric disorders: a critical review. *Exp. Neurol.* 299, 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.004>.
- Gambill, J., Kometsky, C., 1976. Effects of chronic d-amphetamine on social behavior of the rat: implications for an animal model of paranoid schizophrenia. *Psychopharmacol.* 50, 215–223. <https://doi.org/10.1007/bf00426835>.
- Garay, R.P., Samalin, L., Haneq, A., Llorca, P.M., 2015. Investigational drugs for anxiety in patients with schizophrenia. *Expert Opin. Investig. Drugs* 24, 507–517. <https://doi.org/10.1517/13543784.2014.987339>.
- Grayson, D.R., Dunn, J.T., 2021. Laboratory epigenetic models of schizophrenia. *Epigenetics Psychiatry INC.* <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823577-5.00017-9>.
- Guerrin, C.G.J., Doorduyn, J., Sommer, I.E., de Vries, E.F.J., 2021. The dual hit hypothesis of schizophrenia: evidence from animal models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 131, 1150–1168. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.10.025>.
- Gusev, F.E., Reshetov, D.A., Mitchell, A.C., Andreeva, T.V., Dincer, A., Grigorenko, A.P., Fedonin, G., Halene, T., Aliseychik, M., Filippova, E., Weng, Z., Akbarian, S., Rogava, E.L., 2019. Chromatin profiling of cortical neurons identifies individual epigenetic signatures in schizophrenia. *Transl. Psychiatry* 9, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0596-1>.
- Guze, S., 1995. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 1228–1228 *Am. J. Psychiatry* 152. <https://doi.org/10.1176/ajp.152.8.1228>.
- Hafner, H., Riecher-Rössler, A., Der Heiden, W.A., Maurer, K., Fätkfnheuer, B., Laöffler, W., 1993. Generating and testing a causal explanation of the gender difference in age at first onset of schizophrenia. *Psychol. Med.* 23, 925–940. <https://doi.org/10.1017/S0033291700026398>.
- Halim, N., Swerdlow, N., 2000. Distributed neurodegenerative changes 2–28 days after ventral hippocampal excitotoxic lesions in rats. *Brain Res.* 873, 60–74. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02497-5](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02497-5).
- Herrel, A., Joly, D., Danchin, E., 2020. Epigenetics in ecology and evolution. *Funct. Ecol.* 34, 381–384. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13494>.
- Hippius, H., 1999. A historical perspective of clozapine. *J. Clin. Psychiatry* 60, 22–23.

- Horvath, G., Kekesi, G., Petrovski, Z., Benedek, G., 2015. Abnormal motor activity and thermoregulation in a schizophrenia rat model for translational science. *PLoS One* 10, 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143751>.
- Horvath, G., Petrovski, Z., Kekesi, G., Tuboly, G., Bodosi, B., Horvath, J., Gombkötő, P., Benedek, G., Nagy, A., 2016. Electrophysiological alterations in a complex rat model of schizophrenia. *Behav. Brain Res.* 307, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.03.051>.
- Horvath, G., Liszli, P., Kekesi, G., Büki, A., Benedek, G., 2017. Characterization of exploratory activity and learning ability of healthy and “schizophrenia-like” rats in a square corridor system (AMBITUS). *Physiol. Behav.* 169, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.11.039>.
- Horvath, G., Liszli, P., Kekesi, G., Büki, A., Benedek, G., 2019. Cognitive training improves the disturbed behavioral architecture of schizophrenia-like rats, “Wisket”. *Physiol. Behav.* 201, 70–82. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.12.011>.
- Horvath, G., Adam, G., Tuboly, G., Kekesi, G., Büki, A., Ducza, E., Szücs, E., Benyhe, S., Benedek, G., 2021a. Caffeine – treat or trigger? Disparate behavioral and long term dopaminergic changes in control and schizophrenia-like Wisket rats. *Physiol. Behav.* 236 <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113410>.
- Horvath, G., Kis, G., Kekesi, G., Büki, A., Adlan, L.G., Szücs, E., Heni, H.E.I., Benyhe, S., 2021b. Interaction of clozapine with metformin in a schizophrenia rat model. *Sci. Rep.* 11 (1), 12. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96478-2>.
- Huang, H.S., Akbarian, S., 2007. GAD1 mRNA expression and DNA methylation in prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *PLoS One* 2, 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000809>.
- International Schizophrenia Consortium, 2009. Common polygenic variation contributes to risk of schizophrenia that overlaps with bipolar disorder. *Int. Nat.* 460, 748–752. <https://doi.org/10.3406/inhly.1992.11011>.
- Ismaili, L., Refouvet, B., Bencheikroun, M., Brogi, S., Brindisi, M., Gemma, S., Campiani, G., Filipic, S., Agbaba, D., Esteban, G., Unzeta, M., Nikolic, K., Butini, S., Marco-Contelles, J., 2017. Multitarget compounds bearing tacrine- and donepezil-like structural and functional motifs for the potential treatment of Alzheimer’s disease. *Prog. Neurobiol.* 151, 4–34. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2015.12.003>.
- Iyegbe, C.O., O’Reilly, P.F., 2022. Genetic origins of schizophrenia find common ground. *Nature* 604, 433–435. <https://doi.org/10.1038/d41586-022-00773-5>.
- Jaaro-Peled, H., 2009. Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models. *Progress in Brain Research*. Elsevier, [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(09\)17909-8](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(09)17909-8).
- Javitt, D.C., Zukin, S.R., 1991. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 1301–1308. <https://doi.org/10.1176/ajp.148.10.1301>.
- Jeganathan, J., Breakpear, M., 2021. An active inference perspective on the negative symptoms of schizophrenia. *Lancet Psychiatry* 8, 732–738. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30527-7](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30527-7).
- Jones, C., Watson, D., Fone, K., 2011. Animal models of schizophrenia. *Br. J. Pharmacol.* 164, 1162–1194. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x>.
- Kálmán, S., Garbett, K.A., Janka, Z., Mirmics, K., 2016. Human dermal fibroblasts in psychiatry research. *Neuroscience*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.01.067>.
- Kalsi, S.S., Wood, D.M., Dargan, P.I., 2011. The epidemiology and patterns of acute and chronic toxicity associated with recreational ketamine use. *Emerg. Health Threats J.* 4 <https://doi.org/10.3402/ehjt.v4i0.7107>.
- Kamyshanskaya, N.S., Gorokin, V.Z., Voitenko, N.N., 1990. Multiple forms of rat brain monoamine oxidase in experimental catatonias. *Vopr. Med. Khim.* 36, 32–34.
- Kehrer, C., 2008. Altered excitatory-inhibitory balance in the NMDA-hypofunction model of schizophrenia. *Front. Mol. Neurosci.* 1 <https://doi.org/10.3389/fnro.02.006.2008>.
- Kekesi, G., Petrovski, Z., Benedek, G., Horvath, G., 2015. Sex specific alterations in behavioral and cognitive functions in a “three hit” animal model of schizophrenia. *Behav. Brain Res.* 284, 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.015>.
- Kenner, R.L., Dempster, E.L., Lee, T.H.A., Schalkwyk, L.C., Mill, J., Fernandes, C., 2012. Maternal separation is associated with strain-specific responses to stress and epigenetic alterations to Nr3c1, Avp, and Nr4a1 in mouse. *Brain Behav.* 2, 455–467. <https://doi.org/10.1002/brb3.69>.
- Khan, A., Powell, S.B., 2018. Sensorimotor gating deficits in “two-hit” models of schizophrenia risk factors. *Schizophr. Res.* 198, 68–83. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.10.009>.
- Khavari, B., Cairns, M.J., 2020. Epigenomic dysregulation in schizophrenia: in search of disease etiology and biomarkers. *Cells* 9, 1–27. <https://doi.org/10.3390/cells9081837>.
- Kilts, C.D., 2001. The changing roles and targets for animal models of schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 50, 845–855. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(01\)01286-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(01)01286-0).
- Kirkpatrick, B., Buchanan, R., 1990. The neural basis of the deficit syndrome of schizophrenia. *J. Nerv. Ment. Dis.* 178, 545–555. <https://doi.org/10.1097/00005053-199009000-00001>.
- Kline, J.J., Reid, K., 1985. The acute periventricular injury syndrome: a possible animal model for psychotic disease. *Psychopharmacol. (Berl.)* 87, 292–297. <https://doi.org/10.1007/bf00432710> [Indexed for MEDLINE].
- Kokkinidis, L., Anisman, H., 1981. Amphetamine psychosis and schizophrenia: a dual model. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 5, 449–461. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(81\)90015-4](https://doi.org/10.1016/0149-7634(81)90015-4).
- Kolar, D., Kleteckova, L., Brozka, H., Vales, K., 2021. Mini-review: brain energy metabolism and its role in animal models of depression, bipolar disorder, schizophrenia and autism. *Neurosci. Lett.* 760, 136003 <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.136003>.
- Kondej, M., Stepnicki, P., Kaczor, A.A., 2018. Multi-target approach for drug discovery against schizophrenia. *Int. J. Mol. Sci.* 19 <https://doi.org/10.3390/ijms19103105>.
- Koola, M.M., Buchanan, R.W., Pillai, A., Aitchison, K.J., Weinberger, D.R., Aaronson, S. T., Dickerson, F.B., 2014. Potential role of the combination of galantamine and memantine to improve cognition in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 157, 84–89. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2014.04.037>.
- Kozsla, O., Targowska-Duda, K.M., Kedzierska, E., Kaczor, A.A., 2020. In vitro and in vivo models for the investigation of potential drugs against schizophrenia. *Biomolecules* 10 (1), 24. <https://doi.org/10.3390/biom10010160>.
- Lee, C.-T., Yueh Hsiao, C., Fu Lee, J., Chen, Y.C., Ndi Nfor, O., Huang, J.Y., Wang, L., Chang Ho, C., Po Liaw, Y., 2018. Relationship between schizophrenia and low-income based on age and sex: results from a nation wide population based longitudinal study. *Neuropsychiatry* 08, 1000–1006. <https://doi.org/10.4172/neuropsychiatry.1000426>.
- Legge, S.E., Santoro, M.L., Periyasamy, S., Okewole, A., Arsalan, A., Kowalec, K., 2021. Genetic architecture of schizophrenia: a review of major advancements. *Psychol. Med.* 51, 2168–2177. <https://doi.org/10.1017/S0033291720005334>.
- Leucht, S., Corves, C., Arbreiter, 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. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(08\)61764-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(08)61764-X).
- Lipska, B., Swerdlow, N., Geyer, M., Jaskiw, G., Braff, D., Weinberger, D.R., 1995. Neonatal excitotoxic hippocampal damage in rats causes post-pubertal changes in prepulse inhibition of startle and its disruption by apomorphine. *Psychopharmacol.* 122, 35–43. <https://doi.org/10.1007/bf02246439>.
- Lipska, B.K., Weinberger, D.R., 2000. To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. *Neuropsychopharmacology* 23, 223–239. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00137-8](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00137-8).
- Liu, C., Kanazawa, T., Tian, Y., Mohamed Saini, S., Mancuso, S., Mostaid, M.S., Takahashi, A., Zhang, D., Zhang, F., Yu, H., Doo Shin, H., Stub Cheong, H., Ikeda, M., Kubo, M., Iwata, N., Woo, S.-I., Yue, W., Kamatani, Y., Shi, Y., Li, Z., Everall, I., Pantelis, C., Bousman, C., 2019. The schizophrenia genetics knowledgebase: a comprehensive update of findings from candidate gene studies. *Transl. Psychiatry* 9, 205. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0532-4>.
- Liu, Y., Lin, D., Wu, B., Zhou, W., 2016. Ketamine abuse potential and use disorder. *Brain Res. Bull.* 126, 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.05.016>.
- Mäki, P., Veijola, J., Jones, P.B., Murray, G.K., Koponen, H., Tienari, P., Miettunen, J., Tanskanen, P., Wahlberg, K.E., Koskinen, J., Launonen, E., Isohanni, M., 2005. Predictors of schizophrenia – a review, 1–15. *Br. Med. Bull.* 73–74. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldh046>.
- Mamelak, M., Chiu, S., Mishra, R., 1985. Brain adenylate cyclase activity in the amphetamine sensitized rat. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 9, 721–724. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(85\)90048-x](https://doi.org/10.1016/0278-5846(85)90048-x).
- Marco, E.M., Llorente, R., López-gallardo, M., Mela, V., Llorente-berzal, Á., Prada, C., Viveros, M., 2015. The maternal deprivation animal model revisited. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 51, 151–163. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.01.015>.
- Martín-Cuevas, C., Ramos-Herrero, V.D., Crespo-Facorro, B., Sánchez-Hidalgo, A.C., 2023. Prenatal risk factors and postnatal cannabis exposure: Assessing dual models of schizophrenia-like rodents. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 154, 105409 <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2023.105409>.
- McGue, M., Gottesman, I.I., 1991. The genetic epidemiology of schizophrenia and the design of linkage studies. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 240, 174–181. <https://doi.org/10.1007/BF02190760>.
- Mendizabal, I., Berto, S., Usui, N., Toriumi, K., Chatterjee, P., Douglas, C., Huh, I., Jeong, H., Layman, T., Tanminga, C.A., Preuss, T.M., Konopka, G., Yi, S.V., 2019. Cell type-specific epigenetic links to schizophrenia risk in the brain. *Genome Biol.* 20 (1), 21. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1747-7>.
- Merenlender-Wagner, A., Shemer, Z., Toulouni, O., Lagoudaki, R., Giladi, E., Andrieux, A., Grigoriadis, N.C., Gozes, I., 2014. New horizons in schizophrenia treatment: autophagy protection is coupled with behavioral improvements in a mouse model of schizophrenia. *Autophagy* 10, 2324–2332. <https://doi.org/10.4161/15548627.2014.984274>.
- Merikangas, A.K., Shelly, M., Knighton, A., Kotler, N., Tanenbaum, N., Almsy, L., 2022. What genes are differentially expressed in individuals with schizophrenia? A systematic review. *Mol. Psychiatry* 27, 1373–1383. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01420-7>.
- Meyer, U., 2013. Developmental neuroinflammation and schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 42, 20–34. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2011.11.003>.
- Miller, C.L., 2022. The epigenetics of psychosis: a structured review with representative loci. *Biomedicines* 10. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10030561>.
- Misiak, B., Stramecki, F., Gawęda, Ł., Prochwicz, K., Sasiadek, M.M., Moustafa, A.A., Frydecka, D., 2018. Interactions between variation in candidate genes and environmental factors in the etiology of schizophrenia and bipolar disorder: a systematic review. *Mol. Neurobiol.* 55, 5075–5100. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0708-y>.
- Morales-Medina, J.C., Aguilar-Alonso, P., Di Cerbo, A., Iannitti, T., Flores, G., 2021. New insights on nitric oxide: focus on animal models of schizophrenia. *Behav. Brain Res.* <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113304>.
- Moran, P., Stokes, J., Marr, J., Bock, G., Desbonnet, L., Waddington, J., O’Tuathigh, C., 2016. Gene × environment interactions in schizophrenia: evidence from genetic mouse models. *Neural Plast.* 2016, 2173748 <https://doi.org/10.1155/2016/2173748>.
- Murray, J.D., Anticevic, A., 2017. Toward understanding thalamocortical dysfunction in schizophrenia through computational models of neural circuit dynamics. *Schizophr. Res.* 180, 70–77. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.10.021>.
- Navarrete, F., García-Gutiérrez, M.S., Jurado-Barba, R., Rubio, G., Gasparyan, A., Austrich-Olivares, A., Manzanera, J., 2020. Endocannabinoid system components as

- potential biomarkers in psychiatry. *Front. Psychiatry* 11, 1–30. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2020.00315>.
- Niculescu, A.B., Segal, D.S., Kuczenski, R., Barrett, T., Hauger, R.L., Kelson, J.R., 2001. Identifying a series of candidate genes for mania and psychosis: A convergent functional genomics approach. *Physiol. Genom.* 2001 83–91. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.2000.4.1.83>.
- Nimgaonkar, V.L., Prasad, K.M., Chowdari, K.V., Severance, E.G., Yolken, R.H., 2017. The complement system: a gateway to gene-environment interactions in schizophrenia pathogenesis. *Mol. Psychiatry* 22, 1554–1561. <https://doi.org/10.1038/mp.2017.151>.
- Nishi, M., Horii-Hayashi, N., Sasagawa, T., Matsunaga, W., 2013. Effects of early life stress on brain activity: Implications from maternal separation model in rodents. *Gen. Comp. Endocrinol.* 181, 306–309. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2012.09.024>.
- Niwa, M., Kamiya, A., Murai, R., Kubo, K. ichiro, Gruber, A.J., Tomita, K., Lu, L., Tomisato, S., Jaaro Peled, H., Seshadri, S., Hiyama, H., Huang, B., Kohda, K., Noda, Y., O'Donnell, P., Nakajima, K., Sawa, A., Nabeshima, T., 2010. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron* 65, 480–489. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.019>.
- Nucifora, F.C., Woznica, E., Lee, B.J., Cascella, N., Sawa, A., 2019. Treatment resistant schizophrenia: clinical, biological, and therapeutic perspectives. *Neurobiol. Dis.* 131, 104257. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.08.016>.
- O'Tuathigh, C.M., Hryniewiecka, M., Behan, A., Tighe, O., Coughlan, C., Desbonnet, L., 2010. Chronic adolescent exposure to delta 9 tetrahydrocannabinol in COMT knock-out mice: impact on phenotypes relevant to psychosis. *Neuropsychopharmacology* 35, 2262–2273. <https://doi.org/10.1038/npp.2010.100>.
- Oades, R., 1982. Search strategies on a hole-board are impaired in rats with ventral tegmental damage: animal model for tests of thought disorder. *Biol. Psychiatry* 17, 243–258.
- Oliver, P.L., Davies, K.E., 2009. Interaction between environmental and genetic factors modulates schizophrenic endophenotypes in the Snap 25 mouse mutant blind drunk. *Hum. Mol. Genet.* 18, 4576–4589. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp425>.
- Oliveras, I., Cañete, T., Sampedro-Viana, D., Río-Álamos, C., Tobeña, A., Corda, M.G., Giorgi, O., Fernández Teruel, A., 2023. Neurobehavioral Profiles of Six Genetically-based Rat Models of Schizophrenia-related Symptoms. *Curr. Neuropharmacol.* 21, 1934–1952. <https://doi.org/10.2174/1570159X21666230221093644>.
- Orzi, F., Dow Edwards, D., Jehle, J., Kennedy, C., Sokoloff, L., 1983. Comparative effects of acute and chronic administration of caffeine on local cerebral glucose utilization in the conscious rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 3, 154–160.
- Palmer, B.A., Pankratz, V.S., Bostwick, J.M., 2005. The lifetime risk of suicide in schizophrenia: a reexamination. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 247–253. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.62.3.247>.
- Perceley, S., Billard, J.M., Freret, T., Andrieux, A., Boulouard, M., Bouet, V., 2021a. Functional dysregulations in ca1 hippocampal networks of a 3-hit mouse model of schizophrenia. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms22052644>.
- Perceley, S., Freret, T., Turnbull, N., Bouet, V., Boulouard, M., 2021b. Combination of MAP6 deficit, maternal separation and MKR01 in female mice: a 3-hit animal model of neurodevelopmental disorder with cognitive deficits. *Behav. Brain Res.* 413, 113473. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113473>.
- Petrovski, Z., Adam, G., Tuboly, G., Kekesi, G., Benedek, G., Keri, S., Horvath, G., 2013. Characterization of gene-environment interactions by behavioral profiling of selectively bred rats: the effect of NMDA receptor inhibition and social isolation. *Behav. Brain Res.* 240, 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.11.022>.
- Popovic, D., Schmitt, A., Kaurani, L., Senner, F., Papiol, S., Malchow, B., Fischer, A., Schulze, T.G., Koutsouleris, N., Falkai, P., 2019. Childhood trauma in schizophrenia: current findings and research perspectives. *Front. Neurosci.* 13, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00274>.
- Powers, A.R., Gancos, M.G., Finn, E.S., Morgan, P.T., Corlett, P.R., 2015. Ketamine-Induced Hallucinations. *Psychopathology* 48, 376–385. <https://doi.org/10.1159/000438675>.
- Rafi, S.K., Butler, M.G., 2020. The 15q11.2 bp1-bp2 microdeletion (burnside-butler) syndrome: In silico analyses of the four coding genes reveal functional associations with neurodevelopmental phenotypes. *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21093296>.
- Rantala, M.J., Luoto, S., Borráz-León, J.I., Kranis, I., 2022. Schizophrenia: the new etiologic synthesis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 142, 104894. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104894>.
- Renard, J., Rushlow, W.J., Laviolette, S.R., 2016. What can rats tell us about adolescent cannabis exposure? Insights from. *Can. J. Psychiatry* 61, 328–334. <https://doi.org/10.1177/0706743716645288>.
- Richetto, J., Meyer, U., 2021. Epigenetic modifications in schizophrenia and related disorders: molecular scars of environmental exposures and source of phenotypic variability. *Biol. Psychiatry* 89, 215–226. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.03.008>.
- Ridley, R., Baker, H., Scraggs, P., 1979. The time course of the behavioral effects of amphetamine and their reversal by haloperidol in a primate species. *Biol. Psychiatry* 14, 753–765.
- del Río, C., Oliveras, I., Cañete, T., Blázquez, G., Tobeña, A., Fernández Teruel, A., 2014. Genetic rat models of schizophrenia-relevant symptoms. *World J. Neurosci.* 04, 261–278. <https://doi.org/10.4236/wjns.2014.43030>.
- Ripke, S., Neale, B.M., Corvin, A., Walters, J.T.R., Farh, K.H., Holmans, P.A., Lee, P., Bulik-Sullivan, B., Collier, D.A., Huang, H., Pers, T.H., Agartz, I., Aggerbo, E., Albus, M., Alexander, M., Amin, F., Bacanu, S.A., Begemann, M., Belliveau, R.A., Bene, J., Bergen, S.E., Bevilacqua, E., Bigdeli, T.B., Black, D.W., Bruggeman, R., Buccola, N.G., Buckner, R.L., Byerley, W., Cahn, W., Cai, G., Campion, D., Cantor, R.M., Carr, V.J., Carrera, N., Catts, S.V., Chambert, K.D., Chan, R.C.K., Chen, R.Y.L., Chen, E.Y.H., Cheng, W., Cheung, E.F.C., Chong, S.A., Cloninger, C.R., Cohen, D., Cohen, N., Cormican, P., Craddock, N., Crowley, J.J., Curtis, D., Davidson, M., Davis, K.L., Degenhardt, F., Del Favero, J., Demontis, D., Dikeos, D., Dinan, T., Djurovic, S., Donohoe, G., Drapeau, E., Duan, J., Dudbridge, F., Dumishi, N., Eichhammer, P., Eriksson, J., Escott Price, V., Essioux, L., Fanous, A.H., Farrell, M.S., Frank, J., Franke, L., Freedman, R., Freiner, N.B., Friedl, M., Friedman, J.I., Fromer, M., Genovese, G., Georgieva, L., Giegling, I., Giusti-Rodríguez, P., Godard, S., Goldstein, J.I., Golimbet, V., Gopal, S., Gratten, J., De Haan, L., Hammer, C., Hamshere, M.L., Hansen, M., Hansen, T., Haroutunian, V., Hartmann, A.M., Henskens, F.A., Herms, S., Hirschhorn, J.N., Hoffmann, P., Hofman, A., Hollegaard, M.V., Hougaard, D.M., Ikeda, M., Ijeda, A., Kahn, R.S., Kalaydjieva, L., Karachanak-Yankova, S., Karjalainen, J., Kavanagh, D., Keller, M.C., Kennedy, J.L., Khrunin, A., Kim, Y., Klivins, J., Knowles, J.A., Konte, B., Kucinskas, V., Kucinskiene, Z.A., Kuzelova Ptackova, H., Kähler, A.K., Laurent, C., Keong, J.L.C., Lee, S.H., Legge, S.E., Lerer, B., Li, M., Li, T., Liang, K.Y., Lerman, J., Limborska, S., Loughland, C.M., Lubinski, J., Lönnqvist, J., Macek, M., Magnusson, P.K.E., Maher, B.S., Maier, W., Mallet, J., Marsal, S., Mattheisen, M., Mattingsdal, M., McCarley, R.W., McDonald, C., McIntosh, A.M., Meier, S., Meijer, C. J., Melegli, B., Melle, I., Mesholam-Gately, R.I., Metspalu, A., Michie, P.T., Milani, L., Milanova, V., Mokrab, Y., Morris, D.W., Mors, O., Murphy, K.C., Murray, R.M., Myrnes, I., Müller-Myhsok, B., Nelis, M., Nenadic, I., Nertney, D.A., Nestadt, G., Nicodemus, K.K., Nikitina Zake, L., Nisenbaum, L., Nordin, A., O'Callaghan, E., O'Dushlaine, C., O'Neill, F.A., Oh, S.Y., Olincy, A., Olsen, L., Van Os, J., Pantelis, C., Papadimitriou, G.N., Papiol, S., Parkhomenko, E., Pato, M.T., Paunio, T., Pejovic-Milovancevic, M., Perkins, D.O., Pietiläinen, O., Pimm, J., Pocklington, A.J., Powell, J., Price, A., Pulver, A.E., Purcell, S.M., Quedest, D., Rasmussen, H.B., Reichenberg, A., Reiners, M.A., Richards, A.L., Roffman, J.L., Roussos, P., Ruderfer, D.M., Salomaa, V., Sanders, A.R., Schall, U., Schubert, C.R., Schulze, T.G., Schwab, S.G., Scolnick, E.M., Scott, R.J., Seidman, L.J., Shi, J., Sigurdsson, E., Silagade, T., Silverman, J.M., Sim, K., Slonimsky, P., Smoller, J.W., So, H.C., Spencer, C.C.A., Stahl, E.A., Stefansson, H., Steinberg, S., Stogmann, E., Straub, R.E., Strengman, E., Strohmaier, J., Stroup, T.S., Subramaniam, M., Suvisaari, J., Svrakic, D.M., Szatkiewicz, J.P., Söderman, E., Thirumalai, S., Toncheva, D., Tosato, S., Vejjala, J., Waddington, J., Walsh, D., Wang, D., Wang, Q., Webb, B.T., Weiser, M., Wildenauer, D.B., Williams, N.M., Williams, S., Witt, S.H., Wolen, A.R., Wong, E.H.M., Wormley, B.K., Xi, H.S., Zai, C.C., Zheng, X., Zimprich, F., Wray, N.R., Stefansson, K., Visscher, P.M., Adolfsson, R., Andreassen, O.A., Blackwood, D.H.R., Branon, E., Buxbaum, J.D., Børglum, A.D., Cichon, S., Darvasi, A., Domenici, E., Ehrenreich, H., Esko, T., Gejman, P.V., Gill, M., Gurling, H., Hultman, C.M., Iwata, N., Jablensky, A.V., Jönsson, E.G., Kendler, K.S., Kirov, G., Knight, J., Lata, T., Levinson, D.F., Li, Q.S., Liu, J., Malhotra, A.K., McCarroll, S.A., McQuillin, A., Moran, J.L., Mortensen, P.B., Mowry, B.J., Nöthen, M.M., Ophoff, R.A., Owen, M.J., Palotie, A., Pato, C.N., Petryshen, T.L., Posthuma, D., Rietschel, M., Riley, B.P., Rujescu, D., Sham, P.C., Sklar, P., St Clair, D., Weinberger, D.R., Wendland, J.R., Werge, T., Daly, M.J., Sullivan, P.F., O'Donovan, M.C., 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511, 421–427. <https://doi.org/10.1038/nature13595>.
- Roth, T.L., Lubin, F.D., Sodhi, M., Kleinman, J.E., 2009. Epigenetic mechanisms in schizophrenia. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 1790, 869–877. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.06.009>.
- Rubino, T., Parolaro, D., 2014. Cannabis abuse in adolescence and the risk of psychosis: a brief review of the preclinical evidence. *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry* 52, 41–44. <https://doi.org/10.1016/j.pnpb.2013.07.020>.
- Rubino, T., Realini, N., Braidà, D., Guidi, S., Capurro, V., Viganò, D., Guidali, C., Pinter, M., Sala, M., Bartesaghi, R., Parolaro, D., 2009. Changes in hippocampal morphology and neuroplasticity induced by adolescent THC treatment are associated with cognitive impairment in adulthood. *Hippocampus* 19, 763–772. <https://doi.org/10.1002/hipo.20554>.
- Schizophrenia Working Group of the Psychiatric Genomic, 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511, 421–427. <https://doi.org/10.1038/nature13595>.
- Schnajuk, N., Christiansen, B., Cox, L., 2000. Haloperidol reinstates latent inhibition impaired by hippocampal lesions: data and theory. *Behav. Neurosci.* 114, 659–670. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.114.4.659>.
- Seeman, M.V., 2019. Does gender influence outcome in schizophrenia? *Psychiatr. Q.* 90, 173–184. <https://doi.org/10.1007/s1126-018-9619-y>.
- Seeman, P., Chau Wong, M., Tedesco, J., Wong, K., 1975. Brain receptors for antipsychotic drugs and dopamine: direct binding assays. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 4376–4380. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.11.4376>.
- Sheitman, B.B., Lieberman, J.A., 1998. The natural history and pathophysiology of treatment resistant schizophrenia. *J. Psychiatr. Res.* 32, 143–150. [https://doi.org/10.1016/S0022-3956\(97\)00052-6](https://doi.org/10.1016/S0022-3956(97)00052-6).
- Shimizu, H., Iwayama, Y., Yamada, K., Toyota, T., Minabe, Y., Nakamura, K., Nakajima, M., Hattori, E., Mori, N., Osumi, N., Yoshikawa, T., 2006. Genetic and expression analyses of the STOP (MAP6) gene in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 84, 244–252. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2006.03.017>.
- Siuda, D., Wu, Z., Chen, Y., Guo, L., Linke, M., Zechner, U., Xia, N., Reifensberg, G., Kleinert, H., Forsternann, U., Li, H., 2014. Social isolation-induced epigenetic changes in midbrain of adult mice. *J. Physiol. Pharmacol.* 65, 247–255.
- Sneland, O.B., Andreassen, O.A., 2022. Schizophrenia: genetic insights with clinical potential. *Nat. Rev. Neurol.* 18, 129–130. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00613-6>.

- Smeland, O.B., Frei, O., Dale, A.M., Andreassen, O.A., 2020. The polygenic architecture of schizophrenia — rethinking pathogenesis and nosology. *Nat. Rev. Neurol.* <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0364-0>.
- Smigielski, P., Jagannath, V., Rössler, W., Walitza, S., Grünblatt, E., 2020. Epigenetic mechanisms in schizophrenia and other psychotic disorders: a systematic review of empirical human findings. *Mol. Psychiatry* 25, 1718–1748. <https://doi.org/10.1038/s41380-019-0601-3>.
- Socala, K., Doboszewska, U., Szopa, A., Serefko, A., Włodarczyk, M., Zielińska, A., Poleszak, E., Fichna, J., Wlaź, P., 2021. The role of microbiota-gut-brain axis in neuropsychiatric and neurological disorders. *Pharmacol. Res.* 172, 105840 <https://doi.org/10.1016/j.pls.2021.105840>.
- Srivastava, A., Dada, O., Qian, J., Al Chalabi, N., Fatemi, A.B., Gerretsen, P., Graff, A., De Luca, V., 2021. Epigenetics of Schizophrenia. *Psychiatry Res.* 305, 114218 <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2021.114218>.
- Stepnicki, P., Kondej, M., Koszła, O., Żuk, J., Kaczor, A.A., 2021. Multi-targeted drug design strategies for the treatment of schizophrenia. *Expert Opin. Drug Discov.* 16, 101–114. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1816962>.
- Stevens, J.R., 2002. Schizophrenia: reproductive hormones and the brain. *Am. J. Psychiatry* 159, 713–719. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.159.5.713>.
- Stille, G., Sayers, A., 1975. Die Immobilisationsreaktion der Ratte als tierexperimentelles Modell für die Katatonie. *Pharmacopsychiatry* 8, 105–114. <https://doi.org/10.1055/s-00028-1094448>.
- Stilo, S.A., Murray, R.M., 2019. Non-genetic factors in schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rep.* 21, 100.
- Sudilovsky, A., 1975. Effects of disulfiram on the amphetamine-induced behavioral syndrome in the cat as a model of psychosis. *Natl Inst Drug Abus. Res Monogr Ser.* 3, 109–135. <https://doi.org/DOI:10.1037/e467662004-001>.
- Sultana, R., Lee, C.C., 2020. Expression of behavioral phenotypes in genetic and environmental mouse models of schizophrenia. *Front. Behav. Neurosci.* 14, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.00029>.
- Sun, L., Min, L., Zhou, H., Li, M., Shao, F., Wang, W., 2017. Adolescent social isolation affects schizophrenia-like behavior and astrocyte biomarkers in the PFC of adult rats. *Behav. Brain Res.* 333, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.07.011>.
- Sutherland, J.E., Costa, M., 2003. Epigenetics and the environment. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 151–160. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb05970.x>.
- Szűcs, E., Büki, A., Kékesi, G., Horváth, G., Benyhe, S., 2016a. Mu Opioid (MOP) receptor mediated G-protein signaling is impaired in specific brain regions in a rat model of schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 619, 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.02.060>.
- Szűcs, E., Dvoráček, S., Tömböly, C., Büki, A., Kékesi, G., Horváth, G., Benyhe, S., 2016b. Decreased CB receptor binding and cannabinoid signaling in three brain regions of a rat model of schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 633, 87–93. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.09.020>.
- Szűcs, E., Ducza, E., Büki, A., Kékesi, G., Benyhe, S., Horváth, G., 2020. Characterization of dopamine D2 receptor binding, expression and signaling in different brain regions of control and schizophrenia-model Wistar rats. *Brain Res.* 1748, 147074 <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147074>.
- Szyf, M., Weaver, I.C.G., Champagne, F.A., Diorio, J., Meaney, M.J., 2005. Maternal programming of steroid receptor expression and phenotype through DNA methylation in the rat. *Front. Neuroendocrinol.* 26, 139–162. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2005.10.002>.
- Tandon, R., 2002. Safety and tolerability: how do newer generation “atypical” antipsychotics compare? *Psychiatr. Q.* 73, 297–311. <https://doi.org/10.1023/A:1020464017021>.
- Tomoda, T., Sumitomo, A., Jaaro-Peled, H., Sawada, A., 2016. Utility and validity of DISC1 mouse models in biological psychiatry. *Neuroscience.* <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.12.061>.
- Tractenberg, S.G., Levandowski, M.L., de Azeredo, L.A., Orso, R., Roithmann, L.G., Hoffmann, E.S., Brenhouse, H., Grassi-Oliveira, R., 2016. An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68, 489–503. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.021>.
- Tremolizzo, L., Carboni, G., Ruzicka, W.B., Mitchell, C.P., Sugaya, I., Tuetting, P., Sharma, R., Grayson, D.R., Costa, E., Guidotti, A., 2002. An epigenetic mouse model for molecular and behavioral neuropathologies related to schizophrenia vulnerability. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 17095–17100. <https://doi.org/10.1073/pnas.262658999>.
- Valton, V., Romaniuk, L., Douglas Steele, J., Lawrie, S., Seriès, P., 2017. Comprehensive review: computational modelling of schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 83, 631–646. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.08.022>.
- Vilkov, G., Minoranskaia, A., Kolmakova, T., 1983. Changes in catecholamine metabolism in the brains of rabbits after treatment with anti-brain antibodies and lithium ions. *Zh. Nevropatol. Psikhiatr. Im. S S Korsakova* 83, 1395–1398.
- Volle, J., Brocard, J., Saoud, M., Gory-Faure, S., Brunelin, J., Andrieux, A., Suaud-Chagny, M.-F., 2013. Reduced expression of STOP/MAP6 in mice leads to cognitive deficits. *Schizophr. Bull.* 39, 969–978. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs113>.
- Wahbeh, M.H., Avramopoulos, D., 2021. Gene-environment interactions in schizophrenia: a literature review. *Genes.* <https://doi.org/10.3390/genes12121850>.
- Wan, F., Geyer, M., Swerdlow, N., 1995. Presynaptic dopamine-glutamate interactions in the nucleus accumbens regulate sensorimotor gating. *Psychopharmacology* 120, 433–441. <https://doi.org/10.1007/bf02245815>.
- Wang, D., Levine, J.L.S., Avila-Quintero, V., Bloch, M., Kaffman, A., 2020. Systematic review and meta-analysis: effects of maternal separation on anxiety-like behavior in rodents. *Transl. Psychiatry* 10. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0856-0>.
- Wang, H.-Y., Liu, Y., Yan, J.-W., Hu, X.-L., Zhu, D.-M., Xu, X.-T., Li, X.-S., 2018. Gene polymorphisms of DISC1 is associated with schizophrenia: evidence from a meta-analysis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 81, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.10.008>.
- Wang, P., Li, M., Zhao, A., Ma, J., 2021. Application of animal experimental models in the research of schizophrenia. *Am. J. Med. Genet. Part B, Neuropsychiatr. Genet. Publ. Int. Soc. Psychiatr. Genet.* 186, 209–227. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32863>.
- Weaver, I.C.G., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M., Meaney, M.J., 2004. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat. Neurosci.* 7, 847–854. <https://doi.org/10.1038/nn1276>.
- Weiner, I., Lubow, R., Feldon, J., 1984. Abolition of the expression but not the acquisition of latent inhibition by chronic amphetamine in rats. *Psychopharmacol.* 83, 194–199. <https://doi.org/10.1007/bf00429734>.
- Winship, I.R., Dursun, S.M., Baker, G.B., Balista, P.A., Kandratavicius, L., Maia de Oliveira, J.P., Hallak, J., Howland, J.G., 2019. An overview of animal models related to schizophrenia. *Can. J. Psychiatry* 64, 5–17. <https://doi.org/10.1177/0706743718773728>.
- Wolff-Menzler, C., Hasan, A., Malchow, B., Falkai, P., Wobrock, T., 2010. Combination therapy in the treatment of schizophrenia. *Pharmacopsychiatry* 43, 122–129. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1249097>.
- Wolozynowska-Fraser, M.U., Wulff, P., Riedel, G., 2017. Parvalbumin-containing GABA cells and schizophrenia: experimental model based on targeted gene delivery through adeno-associated viruses. *Behav. Pharmacol.* 28, 630–641. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000360>.
- Zhang, T.Y., Hellstrom, L.C., Bagot, R.C., Wen, X., Diorio, J., Meaney, M.J., 2010. Maternal care and DNA methylation of a glutamic acid decarboxylase 1 promoter in rat hippocampus. *J. Neurosci.* 30, 13130–13137. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1039-10.2010>.

### 1.4.3. Choix des facteurs de risque

Comme discuté dans la revue, le choix des facteurs de risque est important et en fonction de l'association choisie, les déficits observés ne sont pas nécessairement les mêmes. Dans cette partie d'introduction, seul un résumé des principaux facteurs utilisés dans les modèles 2-hit sera détaillé.

#### ***Premier facteur : vulnérabilité génétique***

Comme décrit dans la partie 1.1.1 de cette introduction, de nombreux gènes ont été identifiés comme facteurs de vulnérabilité de la SCZ. Certains de ces gènes ont été étudiés dans les modèles précliniques comme les gènes *DISC1*, *Nurr1* ou encore *NRG1* qui sont les plus utilisés (voir Tableau 2). La délétion du gène *DISC1*, un des premiers gènes décrits comme étant impliqué dans la SCZ, induit chez l'animal une hyperactivité, des déficits de mémoire de travail, d'inhibition (filtrage sensoriel) ainsi, qu'une anhédonie (Clapcote et al., 2007; Clapcote and Roder, 2006; Jaaro-Peled, 2009; Niwa et al., 2010). Bien que non encore utilisé dans les modèles 2-hit de SCZ, une inactivation de la SR induit un phénotype comportemental pertinent (Balu, 2016; Balu et al., 2013; Coyle and Balu, 2018; Hagiwara et al., 2013). En effet, Hagiwara et al. (2013) ont montré qu'après injection d'un inhibiteur de la SR, le phénazine methosulfate, les souris présentaient des déficits cognitifs dans le test de la reconnaissance d'objet ou encore du test *prepulse inhibition* (PPI) mesurant l'inhibition du réflexe de sursaut. Des modèles génétiques induisant une délétion du gène de la SR ont également été développés et présentent des déficits mnésiques et une hyperactivité associée, au niveau pathophysiologique, à des perturbations de la balance excitation / inhibition au niveau de l'hippocampe (Basu et al., 2009; Jami et al., 2021; Ploux et al., 2021).

**Tableau 2. Résumé de différents modèles animaux 2-hit de schizophrénie ayant comme premier facteur un facteur génétique.**

Le Tableau détaille le choix du premier facteur (1<sup>er</sup> hit) et du second (2<sup>ème</sup> hit) ainsi que la souche et le sexe utilisés. Poly I:C : *Polyinosinic-polycytidylic acid* ; CSD : *chronic social defeat* ; DISC1 : *disrupted in schizophrenia 1* ; GD : *gestational Day* ; HRM : *Melanin-possessing hairless mice* ; I.P : intrapéritonéale ; NRG1 : neuréguline 1 ; Nurr1 : *nuclear receptor-related transcription factor 1* ; PND : *postnatal day* ; S.C : Sous cutanée ; THC : delta-9-tétrahydrocannabinol . Adapté de (Guerrin et al., 2021).

Référence	Premier hit	Deuxième hit	Souche Sexe
Lipina et al., 2013	DISC1 hétérozygote	Poly I : C (2.5 mg/kg, GD9)	C57BL/6J ♂
Ibi et al., 2010	DISC1 hétérozygote	Poly I:C (S.C, 5 mg/kg, PND2 – 6)	C57BL/6J ♂
Fry et al., 2020	DISC1 hétérozygote	Isolement social (semaine 5 – 8)	C57BL/6J ♂
Abazyan et al., 2014	DISC1 hétérozygote	Régime alimentaire à base de plomb Dès la naissance	mDISC1 ♂♀
Haque et al., 2012	DISC1 hétérozygote	CSD quotidien de la semaine 9 – 11	C57BL/6J ♂
Jouroukhin et al., 2019	Expression de la protéine dominante négative DISC1 dans les astrocytes	THC (8 mg/kg, 1 injection par jour de PND30 – 51)	C57BL/6J ♂♀
Vuillermot et al., 2012	Nurr1 hétérozygote	Poly I:C (2 mg/kg, GD17)	C57BL/6J ♂
Eells et al., 2006	Nurr1 hétérozygote	Isolation sociale PND21	Nurr1-null
O’Leary et al., 2014	NRG1 hétérozygote	Poly I:C (I.P, 5 mg/kg, GD9)	C57BL/6J ♂♀
Boucher et al., 2007	NRG1 hétérozygote	THC (I.P, 5-10 mg/kg 30 min avant le début du test)	C57BL/6J ♂
Long et al., 2013	NRG1 hétérozygote	THC (I.P, 10 mg/kg PND31 – 52)	C57BL/6J ♂
Boucher et al., 2011	NRG1 hétérozygote	Cannabis (CP55,940) (I.P, 10 mg/kg, 15 j)	C57BL/6J ♂
Schroeder et al., 2015	Reelin hétérozygote	Corticostérone (50 mg/L) PND6 à PND 9	C57BL/6J et HRM ♂♀
Howell and Pillai, 2016	Reelin hétérozygote	Hypoxie (E7, 9 % oxygène, 2 h)	C57BL/6J et HRM

### **Deuxième facteur : facteur environnemental**

Plusieurs facteurs environnementaux connus comme facteurs de risque dans la SCZ peuvent être reproduit chez l'animal (Guerrin et al., 2021; Khan & Powell, 2018). Les stress neurodéveloppementaux les plus fréquemment utilisés sont l'isolement social et la séparation maternelle (Čater and Majdič, 2022; Fabricius et al., 2008; Powell and Swerdlow, 2023). La durée d'application de ces facteurs stressants et la période choisie (âge des animaux) pour les induire varient d'une étude à une autre (voir Tableau 3). D'autres facteurs environnementaux ont également été utilisés, notamment l'administration de certaines drogues comme le THC, la PCP ou le MK-801 (Amani et al., 2013; Carey et al., 1998; Curzon and Decker, 1998).

**Tableau 3. Résumé de différents modèles animaux 2-hit de la schizophrénie ayant comme premier facteur un facteur environnemental.**

Le Tableau détail le choix du premier facteur (premier hit) et du second (deuxième hit) ainsi que de l'espèce et du sexe utilisée pour développer des modèles 2-hit. Poly I:C : Polyinosinic-polycytidylic acid ; THC : delta-9-tétrahydrocannabinol ; GD : *gestational Day* ; I.P: intrapéritonéale ; SM : séparation maternelle ; PCP : phencyclidine ; PCP ; PND : *postnatal day* ; S.C : souscutanée Adapté de (Guerrin et al. 2021).

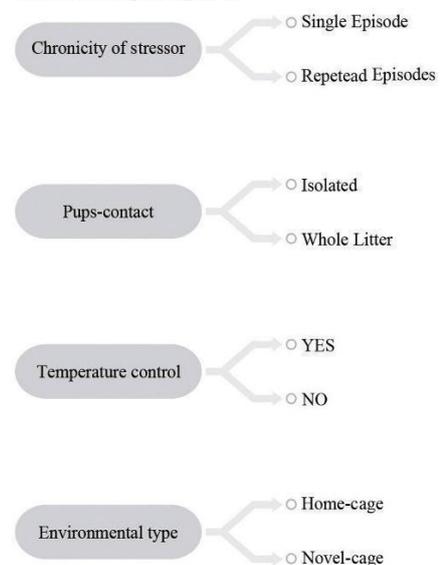
Référence	Premier hit	Deuxième hit	Souche Sexe
Gaskin et al., 2016, 2014; Hamieh et al., 2021; Shortall et al., 2020; Watson et al., 2016	PCP (10 mg/kg, PND7, 9, 11)	Isolation sociale (PND23)	Lister-Hooded ♂
Lim et al., 2012	MK-801 (I.P, 0.2 mg/kg, PND7 – 10)	Isolation sociale (PND21)	Sprague-Dawley ♂
Liu et al., 2017	MK-801 (I.P, 0.5 mg/kg, PND7 – 10)	Isolation sociale (PND21)	Sprague-Dawley ♂
Gilbert-Juan et al., 2013	MK-801 (I.P, 1 mg/kg, PND7)	Isolation sociale (PND21)	Lister-Hooded ♂
Ashby et al., 2010; Hawken et al., 2013; Simpson et al., 2012	Isolation sociale (PND21)	MK-801 (I.P, 0.5 mg/kg, 2x / J, PND56 – PND63)	Lister-Hooded ♂
Vargas et al., 2016	SM24 h PND3	Isolation sociale (PND21)	Wistar ♂♀
Ellenbroek & Cools, 2002	SM24 h PND9	Isolation sociale (PND21)	Wistar ♂
Choy et al., 2009	SM24 h PND9	100 mg corticostérone (S.C implant, semaine 8 – 10)	Wistar ♂
Klug and van den Buuse, 2012	SMPND2 – 14 3 h/j	Cannabis (CP55,940) (I.P, 0.2 mg/kg, semaine 8 – 10)	Wistar ♂♀
Morel et al., 2009	SMPND1 – 14 3 h/j	Cannabis (dronabinol) (I.P, 5 - 10 mg/kg PND35-48)	Long-Evans ♂
Zamberletti et al., 2012	SM24 h PND9	THC (PND35-45, 2.5-10 mg/kg)	Sprague-Dawley ♂♀
Chang et al., 2020	Poly I:C (2 mg/kg) GD9	Isolation sociale PND28 à PND56	C57BL/6J ♂
Desbonnet et al., 2022	Poly I:C (5 mg/kg) GD12.5ème	Isolation sociale à partir du PND25	C57BL/6J ♂♀
Lukasz et al., 2013	Isolement sociale (PND25)	Poly I:C (20 mg/kg) PND38 à PND 46	Wistar ♂

La séparation maternelle (SM) permet de mimer la négligence et les traumatismes durant l'enfance et les protocoles de SM varie d'une étude à une étude (pour revue : Tractenberg et al., 2016) (Figure 9). Ce stress précoce va induire à la fois des modifications fonctionnelles notamment en lien avec l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Van Bodegom et al., 2017) et comportementales notamment par une augmentation d'un comportement d'anxiété ou dépressif associé à des déficits de sociabilité (Bondar et al., 2018; Bouet et al., 2011; Ellenbroek & Cools, 2002; Millstein & Holmes, 2007). La Figure 9 issue de l'article de Tractenberg et al. (2016) résume les différents protocoles retrouvés dans les études.

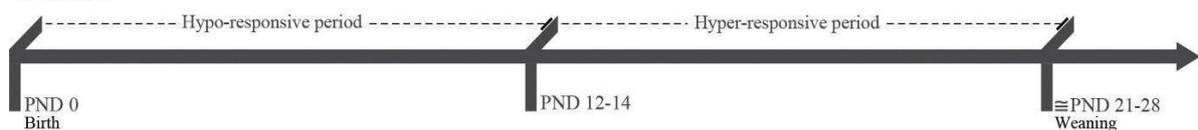
**A. Maternal Separation models**

TYPE OF POSTNATAL STRESS PROCEDURES	ABBREVIATION	DEFINITION OF POSTNATAL STRESS PROCEDURE
Non-Handled	NH	Pups remain together, undisturbed, in contact with their dam. No cage changes, cleaning or handling are provided until weaning day.
Animal/Standard Facility Rearing	AFR	Pups remain together constantly in contact with their dam, but cage changes, cleaning or handling are provided.
Early Handling	EH	Brief physical manipulation of the pups by the experimenter for a brief period of time < 5 min
Brief Maternal Separation	BMS	Pups are separated for their dams for a brief period, e.g., ≥ 10 min and < 60min.
Prolonged Maternal Separation	MS	Pups are separated for their dams for a significant period of time, e.g., ≥ 60 min and < 480 min.
Maternal Deprivation	MD	Pups are deprived for maternal care up to 24h. Pups could return to their dams to feeding for a limited period

**B. Methodological options**



**C. Timeline**



**Figure 9. Résumé des différents modèles de stress précoce induit dans les modèles animaux de la schizophrénie.**

Cinq différents modèles de séparation maternelle sont couramment retrouvés dans les études. Le modèle “non-handled”, “Animal/standard facility Rearing”, “Early Handling”, “Brief Maternal Separation”, “Prolonged Maternal Separation”, “Maternal Deprivation”. Ces protocoles diffèrent par la durée de la séparation, le contact avec la mère, l’environnement (cages changées régulièrement etc.). Le moment d’application varie également d’un protocole à un autre ainsi que certaines méthodologies. Issue de (Tractenberg et al., 2016)

#### **1.4.4. Contribution des modèles 2-hit aux développements de nouveaux médicaments**

Le développement de nouveaux modèles permet dans un premier temps de mieux caractériser les possibles interactions entre les différents facteurs de risque de la SCZ. Parallèlement, ils apportent aussi une meilleure compréhension des mécanismes de la maladie et de leur développement. Qu'ils soient mono- ou multi-factoriels, ces modèles miment un aspect de la maladie et contribue au développement de nouveaux médicaments contre des symptômes spécifiques.

A ce jour, peu d'études ont évalué les effets d'antipsychotiques dans les modèles 2-hit. Hamieh et al. (2021) ont par exemple tester les effets d'un traitement par la clozapine sur l'hyperactivité, les déficits de sociabilité et de reconnaissance sociale dans un modèle d'administration néonatale de PCP combinée à un isolement social chez le rat. Dans un modèle combinant une délétion génétique du gène synthétisant la Protéine associée aux synaptosomes, 25kDa (*synaptosomal associated protein* ; SNAP25) avec un stress prénatal induit dès le jour embryonnaire 14 (E14) au jour E22 (Kinnunen et al., 2003), une amélioration des déficits d'inhibition sensorielle a été observé suite à un traitement par la clozapine et l'halopéridol (Oliver and Davies, 2009). Deslauriers et al. (2016) ont également montré dans un modèle neurodéveloppemental poly I : C (induit au 12<sup>ème</sup> jour gestationnel) combiné avec un isolement social (21<sup>ème</sup> jour de vie post-natal) une amélioration des déficits d'inhibition sensorielle par la clozapine.

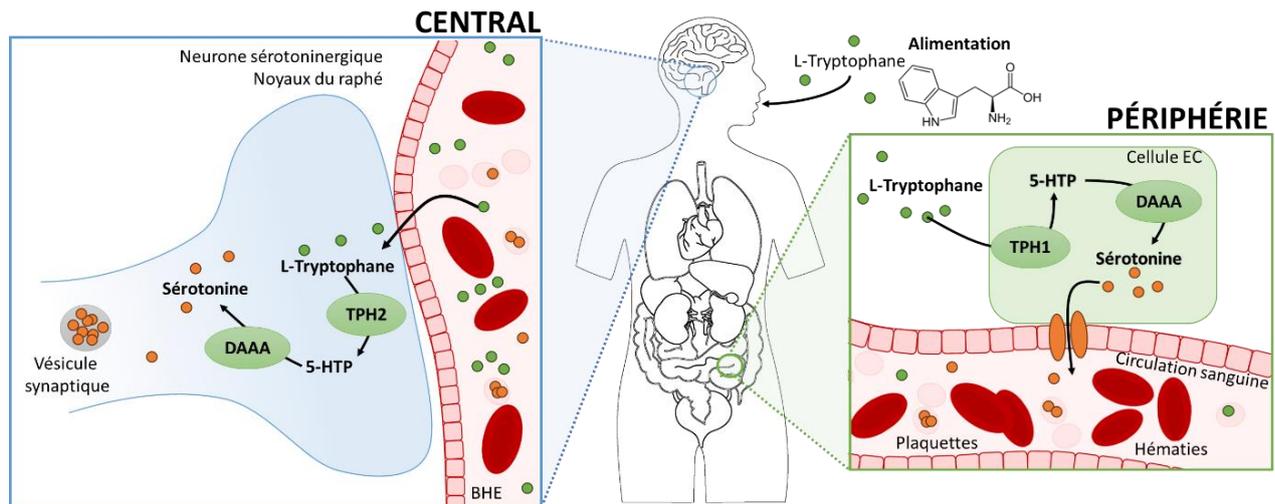
En ce qui concerne le développement de nouvelles cibles, comme viser les 5-HT6R, peu d'études ont utiliser les modèles 2-hit. L'équipe de Shortall et al. (2020) a par exemple évalué les effets du blocage des 5-HT6R par l'antagoniste SB-399885, mais n'a mis en évidence aucun effet bénéfique de ce blocage sur les déficits de reconnaissance d'un modèle 2-hit combinant une administration de PCP avec un isolement social. Les auteurs en ont conclu que le modèle manquait de sensibilité vis-à-vis du blocage des 5-HT6R d'où l'absence d'effet bénéfique. Ainsi, il semble nécessaire d'à la fois améliorer les modèles de SCZ mais, aussi de mieux caractériser les nouvelles cibles thérapeutiques.

## Chapitre II : Le système sérotoninergique

La sérotonine, ou 5-hydroxytryptamine (5-HT), est une monoamine découverte dans les cellules entérochromaffines de l'intestin en 1936 par Erspamer puis, mise en évidence dans le système nerveux central (SNC) des mammifères en 1953 (Mawe and Hoffman, 2013; Twarog and Page, 1953).

### 2.1. Métabolisme de la sérotonine

Produite à la fois en périphérie (au niveau du foie et du tractus gastro-intestinal) et dans le SNC, la biosynthèse de sérotonine débute à partir de l'acide aminé essentiel le L-tryptophane apporté par l'alimentation (Figure 10). Deux étapes sont ensuite nécessaires pour la production de sérotonine : la première consiste en l'hydroxylation du tryptophane en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par l'enzyme *tryptophane hydroxylase* (TPH) puis la seconde qui est une décarboxylation du 5-HTP par l'*acide aminé décarboxylase* (décarboxylation des acides aminés L-aromatiques ou DAAA) en présence de pyridoxal-phosphate. Deux isomorphes de la TPH ont été identifiées, la TPH1, présente au niveau périphérique notamment au niveau de la glande pinéale et la TPH2 exprimée majoritairement dans le SNC au niveau des noyaux du raphé (Matthes and Bader, 2018; McKinney et al., 2005; Walther and Bader, 2003). Dans le SNC, la synthèse de sérotonine dépend étroitement de la quantité de tryptophane puisqu'en effet, la sérotonine ne passe pas la barrière hémato-encéphalique (BHE), seul le tryptophane le peut. La sérotonine produite est stockée dans des vésicules synaptiques grâce à des transporteurs des monoamines vésiculaires (*Vesicular Monoamine Transporter* ou VMAT) au niveau des terminaisons pré-synaptiques (Eiden et al., 2004) (Figure 10). C'est lors de l'arrivée de potentiels d'action au niveau de ces terminaisons que la sérotonine est libérée par exocytose dans la fente synaptique permettant sa fixation sur des récepteurs pré- ou post-synaptiques spécifiques (Hjorth et al., 2000; Sangkuhl et al., 2009; Stahl, 1998). La fixation sur des autorécepteurs conduit à un rétrocontrôle négatif sur la libération et sur la synthèse de la sérotonine. La sérotonine est également recaptée par l'élément pré-synaptique grâce à des transporteurs spécifiques (*Serotonin Transporter* ou SERT) et est de nouveau stockée dans des vésicules ou dégradée. La dégradation se fait par l'action de la monoamine oxydase de type A (MAO-A) ou de type B (MAO-B) produisant l'acide 5-hydroxy-indol-acétique (5-HIAA) qui est ensuite excrété dans les urines.



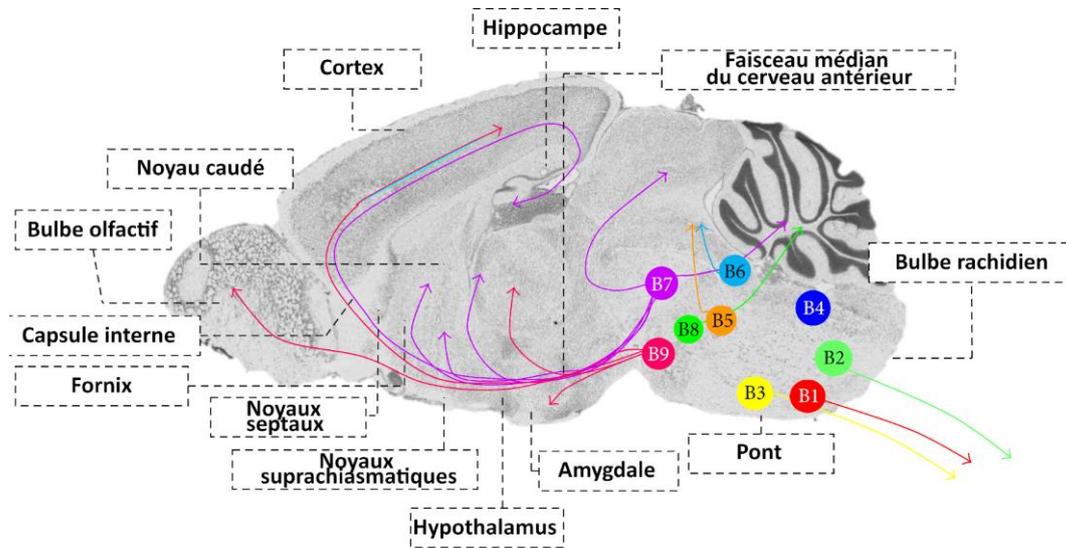
**Figure 10. Représentation des voies de biosynthèse centrale et périphérique de la sérotonine.**

Dans l'encadré vert, la voie de synthèse de la sérotonine en périphérie au niveau des cellules entérochromaffine (EC). La biosynthèse commence par l'hydroxylation du L-Tryptophane, apporté par l'alimentation, en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par l'enzyme tryptophane hydroxylase 1 (TPH1) puis de la décarboxylation du 5-HTP par l'acide aminé décarboxylase (DAAA) pour devenir de la sérotonine. La sérotonine passe ensuite dans la circulation sanguine par l'intermédiaire d'un transporteur avant d'être stockée dans les plaquettes sanguines. Au niveau central (encadré bleu), le L-tryptophane présent dans la circulation sanguine passe la barrière hémato-encéphalique (BHE) et se retrouve au niveau des neurones sérotoninergiques des noyaux du raphé. Le L-tryptophane est ensuite hydroxylé par la TPH2 en 5-HTP qui est à son tour décarboxylé pour devenir la sérotonine. Cette dernière est ensuite stockée dans des vésicules synaptiques.

## 2.2. Voies sérotoninergiques

Le système sérotoninergique central prend son origine au niveau des noyaux du raphé situés le long du tronc cérébral (Jacobs and Azmitia, 1992). Les noyaux du raphé comprennent 9 noyaux, de B1 le plus postérieur à B9 le plus antérieur, dont leurs axones vont se projeter vers différentes aires cérébrales (Dahlström and Fuxe, 1964). Le groupe inférieur (constitué des groupes caudal bulbaire et crânial pontique), se compose du noyau raphé *obscurus* (B2), des noyaux du raphé *pallidus* (B1 et B4), du noyau du raphé Magnus (B3), des neurones de la moelle ventrolatérale (B1 et B3) et de l'*area postrema* (B4) et projettent vers la moelle épinière par des voies descendantes, le tronc cérébral ainsi que vers le cervelet. Le groupe supérieur (constitué des groupes crânial pontique et mésencéphalique), se compose du noyau caudal linéaire (B8), des noyaux du raphé médian (B8 et B5), des noyaux du raphé dorsal (B6 et B7) et du noyau pontique et de la région supra lemniscale (B9) et projettent vers différentes régions du SNC incluant le striatum, le bulbe olfactif, l'amygdale, le septum, l'hypothalamus, le thalamus et l'hippocampe (Charnay and Léger, 2010; Dahlström and Fuxe, 1964). Ces voies

sérotoninergiques sont communes à plusieurs espèces dont les primates, humains et non-humains et les rongeurs (Jacobs and Azmitia, 1992; Maddaloni et al., 2017) (Figure 11).



**Figure 11. Représentation des voies de signalisation centrales du système sérotoninergique.**

Coupe sagittale d'un cerveau de rats. B1 : neurones de la moelle ventrolatérales et noyaux du raphé *pallidus* ; B2 noyau raphé obscurs *obscurus* ; B3 : noyau du raphé Magnus et neurones de la moelle ventrolatérales ; B4 : noyaux du raphé pallidus et neurones de l'*area postrema* ; B5 : noyaux du raphé médian ; B6 et B7 : noyaux du raphé dorsal ; B8 : noyaux du raphé médian et noyau caudal linéaire ; B9 : noyaux pontiques et de la région supra lemniscale. Adapté de (Acevedo-Triana et al., 2017).

### 2.3. Récepteurs à la sérotonine

Initialement classés en 1957 en deux catégories (D pour les récepteurs bloqués par la dibenzylamine et M pour ceux bloqués par la morphine) (Gaddum and Picarelli, 1957), les récepteurs sérotoninergiques (5-HT<sub>R</sub>) sont aujourd'hui classés en 7 types et 14 sous-types : 5-HT<sub>1R</sub> (1A, 1B/1D, 1E, 1F), 5-HT<sub>2R</sub> (2A, 2B, 2C), 5-HT<sub>3R</sub> (3A, 3B), 5-HT<sub>4R</sub>, 5-HT<sub>5R</sub> (5A, 5B), 5-HT<sub>6R</sub> et 5-HT<sub>7R</sub> (Bockaert et al., 2010). Ces récepteurs ont été classés en fonction du degré d'homologie de leurs séquences génomiques, de leurs propriétés pharmacologiques et des mécanismes de transduction auxquels ils sont couplés (Bockaert et al., 2010) (Tableau 4). Tous les récepteurs, à l'exception du 5-HT<sub>3R</sub>, sont métabotropiques (récepteurs couplés aux protéines G, RCPG). Les 5-HT<sub>1R</sub> (1A, 1B/1D, 1E, 1F) et 5-HT<sub>5A</sub> sont couplés à une protéine G<sub>i/o</sub> inhibant l'adénylate cyclase (AC) et conduisant à une dégradation de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPc). Les 5-HT<sub>2R</sub> (2A, 2B, 2C) sont couplés à une protéine G<sub>q/11</sub> ce qui permet l'activation de la phospholipase C (PLC) et l'augmentation de l'hydrolyse de l'inositolphosphate (PIP<sub>2</sub>). Les 5-HT<sub>4R</sub>, 5-HT<sub>6R</sub> et 5-HT<sub>7R</sub> sont couplés à une protéine G<sub>s</sub> qui active l'AC conduisant à une augmentation de l'AMPc et à l'activation de la protéine kinase A

(PKA) (Masson et al., 2012). Ces récepteurs sont situés dans un grand nombre de régions cérébrales résumées dans le Tableau 4.

**Tableau 4. Tableau récapitulatif des différentes familles de récepteurs à la sérotonine (5-HT) dans le système nerveux central.**

Liste non exhaustive. (-) : inhibition ; (+) : activation

<b>Famille (Sous-type)</b>	<b>Mécanisme</b>	<b>Distribution centrale</b>	<b>Localisation cellulaire</b>
5-HT1R (1A, 1B/1D, 1E, 1F)	Inhibiteur G <sub>i/o</sub> (-) Adénylate Cyclase	Striatum, hippocampe, noyaux du raphé, ganglion de la base, cortex cingulaire, entorhinal et frontal, hypothalamus et thalamus	Pré- et post-synaptique
5-HT2R (2A, 2B, 2C)	Excitateur G <sub>q/11</sub> (+) Phospholipase C	Amygdale, hypothalamus, cervelet, ganglion de la base, hippocampe, thalamus, plexus choroïde, cortex cérébral (cingulaire et entorhinal)	Post-synaptique
5-HT3R (3A, 2B, 3C, 3D, 3E)	Excitateur Ionotropique	Amygdale, hippocampe, moelle épinière, tronc cérébral, cortex cérébral	Post-synaptique
5-HT4R	Excitateur G <sub>s</sub> (+)Adénylate Cyclase	Cortex préfrontal, amygdale, ganglion de la base, hippocampe, substance noire, septum, tubercules olfactif	Post-synaptique
5-HT5R (5A, 5B)	Inhibiteur G <sub>i/o</sub> (-)Adénylate cyclase	Cortex cérébral, cervelet, hippocampe, tubercules olfactifs	Post-synaptique
<b>5-HT6R</b>	<b>Excitateur G<sub>s</sub> (+) Adénylate Cyclase</b>	<b>Amygdale, tubercules olfactifs, plexus choroïde, hippocampe, cervelet, hypothalamus, thalamus, noyaux accumbens, gyrus denté</b>	<b>Post-synaptique</b>
5-HT7R	Excitateur G <sub>s</sub> (+)Adénylate Cyclase	Cortex cérébral, amygdale, hippocampe, hypothalamus, thalamus, hippocampe	Post-synaptique

## 2.4. Rôles physiopathologiques de la sérotonine

La large distribution des projections sérotoninergiques explique l'implication de la sérotonine dans de nombreux processus physiologiques avec des rôles à la fois en périphérie, notamment au niveau intestinal, et dans le SNC (Martin et al., 2017; Sharp and Barnes, 2020).

Au niveau périphérique, la sérotonine est synthétisée par les cellules entérochromaffine de la muqueuse gastro-intestinale jouant un rôle important dans l'homéostasie intestinale (Koopman et al., 2021; Reigstad et al., 2015). Elle est ainsi impliquée dans le syndrome du côlon irritable. En se liant aux 5-HT3R et 5-HT4R, la sérotonine va jouer un rôle dans le fonctionnement digestif par une modulation du péristaltisme intestinal (Young et al., 2015). Elle a également un rôle de facteur de croissance en intervenant dans le développement du système nerveux entérique (De Vadder et al., 2018; Valverde et al., 2000). Environ 90-95 % de la sérotonine est localisée en périphérie, stockée dans les plaquettes sanguines grâce à la

présence des SERT à leur membrane (Spohn and Mawe, 2017). En se fixant sur les 5-HT<sub>1R</sub> des muscles lisses vasculaires, la sérotonine entraîne une vasoconstriction d'où son rôle important dans la physiopathologie de la migraine (Dussor, 2014). En effet, lors d'une crise migraineuse ou de céphalées, une libération de neurotransmetteurs (notamment la sérotonine) au niveau des terminaisons nerveuses, stimule les artères de la dure mère et provoque une libération de neuropeptides au niveau des vaisseaux sanguins. Ces neuropeptides provoquent alors une inflammation puis une vasodilatation des artères ce qui provoque des douleurs (Hamel, 2007). Des agonistes des 5-HT<sub>1BR/1DR</sub>, les triptans, sont utilisés dans le cadre des traitements antimigraineux (Johnston and Rapoport, 2010).

Au niveau central, la sérotonine joue un rôle essentiel dans le développement de l'embryon et du SNC (Romero-Reyes et al., 2021; Sodhi and Sanders-Bush, 2004). Elle agit en effet sur la neurogenèse, la synaptogenèse, la migration cellulaire ou encore la différenciation neuronale (Djavadian, 2004). A l'âge adulte, la sérotonine régule différentes fonctions telles que le cycle veille/sommeil (Portas et al., 2000), le comportement alimentaire (Leibowitz and Alexander, 1998), la thermorégulation (Ishiwata et al., 2017), la nociception (Bardin, 2011), le comportement sexuel (Olivier et al., 2011) et les processus cognitifs (Bacqué-Cazenave et al., 2020).

Par son implication dans de nombreuses fonctions cérébrales et sa localisation dans différentes structures, la sérotonine est associée à plusieurs pathologies neurologiques et psychiatriques. Une perturbation de la neurotransmission sérotoninergique, notamment une diminution de la concentration en sérotonine dans le cerveau, conduit au développement de diverses maladies mentales, comme la dépression, l'anxiété, la SCZ et les troubles du spectre autistique (Pourhamzeh et al., 2022; Stein and Andrews, 2015). Des inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine permettent de retrouver des niveaux normaux en sérotonine et sont couramment utilisés dans le cadre de la dépression (Joshi, 2018). Concernant la SCZ, la majorité des neuroleptiques atypiques sont antagonistes des 5-HT<sub>2AR</sub> (clozapine, olanzapine, rispéridone, aripiprazole) et/ou agonistes des 5-HT<sub>1AR</sub> (clozapine, aripiprazole) en plus de leurs actions sur d'autres types de récepteurs (notamment dopaminergique) (Brindisi et al., 2014; Meltzer et al., 2003). Des agonistes 5-HT<sub>4R</sub> sont également développés dans le cadre de maladies neurologiques comprenant des troubles de la mémoire comme la maladie d'Alzheimer (King et al., 2008; Roux et al., 2021). Des études précliniques ont montré que

l'activation des 5-HT<sub>4</sub>R par des agonistes améliorerait les performances d'apprentissage et les processus mnésiques chez le rat (Lelong et al., 2001; Quiedeville et al., 2015). Les 5-HT<sub>7</sub>R quant à eux semblent être impliqués dans de nombreuses fonctions comme l'apprentissage, la mémoire ou la nociception et le développement de ligands spécifiques semblent être une piste intéressante pour le traitement de certaines pathologies comme la dépression, l'épilepsie, l'anxiété ou encore la SCZ (Hedlund et al., 2005; Hrnjadovic et al., 2021; Nikiforuk, 2015). Néanmoins, il est nécessaire de développer de nouveaux ligands plus spécifiques afin d'étudier davantage l'implication de ces récepteurs dans ces troubles (Hedlund, 2009; Leopoldo et al., 2011). Enfin, depuis le début des années 2000, les 5-HT<sub>6</sub>R ont montré un intérêt croissant pour le traitement des troubles cognitifs associés au vieillissement où à des maladies comme la SCZ ou la maladie d'Alzheimer (Benhamú et al., 2014; Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; de Bruin and Kruse, 2015; King et al., 2008; Quiedeville et al., 2015, 2014). Dans le cadre de mes travaux de thèse, nous nous sommes intéressés à ce sous-type de récepteur comme cible thérapeutique d'intérêt dans la SCZ.

## **2.5. Récepteurs 5-HT<sub>6</sub>**

Clonés pour la première fois chez le rat en 1993 (Monsma et al., 1993; Ruat et al., 1993) puis quelques années après chez l'Homme (Kohen et al., 1996) et la souris (Kohen et al., 2001), les 5-HT<sub>6</sub>R appartiennent à la superfamille des RCPG. La protéine humaine est codée par le gène *htr6* présent sur le chromosome 1 (1p36.13) et compte 440 acides aminés (masse moléculaire chez l'Homme : 46,8 kDa). Ce gène se trouve sur le chromosome 5 chez le rat et le chromosome 4 chez la souris. La protéine 5-HT<sub>6</sub>R présente chez la souris est homologue à 97 % à celle du rat et à 89 % à celle de l'Homme (Woolley et al., 2004).

### **2.5.1. Distribution cérébrale et localisation cellulaire**

La particularité des 5-HT<sub>6</sub>R est leur expression quasi-exclusive au niveau du SNC et très faible en périphérie. Seule une très faible expression des ARN messagers (ARNm) codant pour les 5-HT<sub>6</sub>R est retrouvée au niveau de l'estomac, des glandes surrénales, du thymus et de la rate (Barnes et al., 2021; Pierce et al., 1996). Cette très faible expression en périphérie fait de ce type de récepteur une cible thérapeutique idéale puisque son activation n'entraîne que très peu d'effets secondaires périphériques. Au niveau central, des études d'hybridation *in situ* et de réactions de polymérase en chaîne (PCR) ont mis en évidence la présence d'ARNm codant pour les 5-HT<sub>6</sub>R dans de nombreuses régions cérébrales incluant le bulbe olfactif, le striatum,

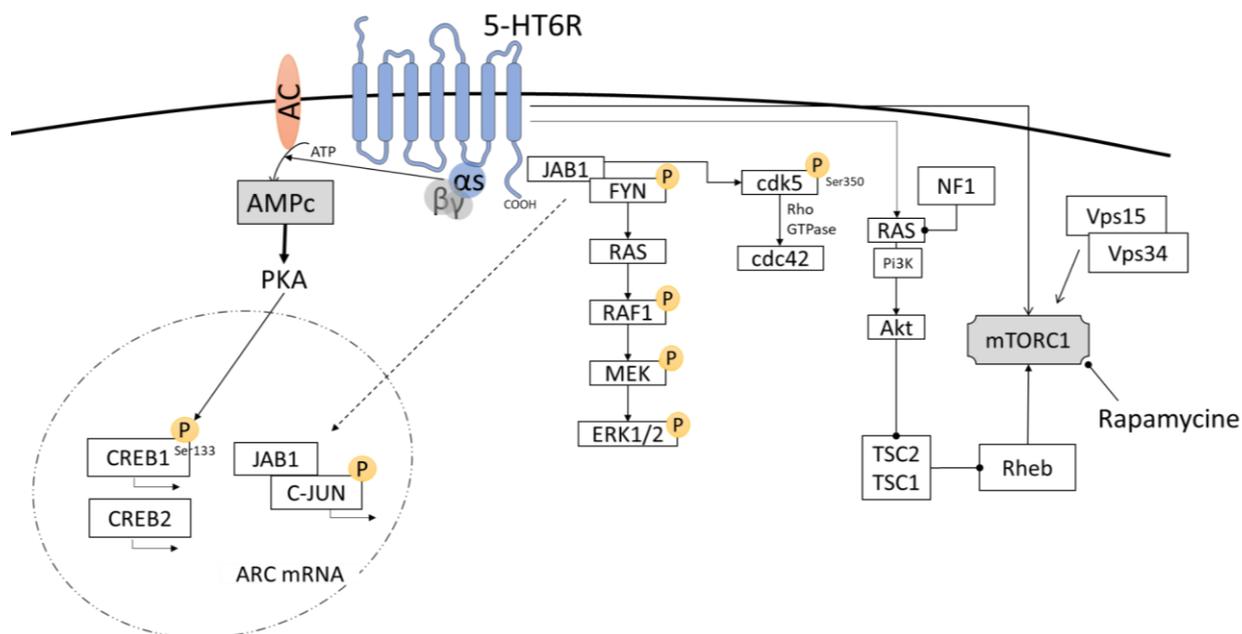
l'hippocampe, le cervelet, l'hypothalamus, les tubercules olfactifs, l'amygdale ainsi que le cortex chez le rat (Barnes et al., 2021; Dupuy et al., 2023; Gérard et al., 1996; Helboe et al., 2015; Monsma et al., 1993; Roberts et al., 2002), chez la souris (Barnes et al., 2021; Dupuy et al., 2023; Hirst et al., 2003) ainsi que chez l'Homme (Barnes et al., 2021; Hirst et al., 2003; Roberts et al., 2002).

A ce jour, quelques études ont pu mettre en évidence la localisation cellulaire et subcellulaire de ces récepteurs et les interactions entre les 5-HT<sub>6</sub>R et d'autres systèmes de neurotransmission. C'est notamment à la suite de lésions spécifiques des neurones sérotoninergiques par la 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT) que l'équipe de Gérard et al. (1996) a mis en évidence que les 5-HT<sub>6</sub>R étaient situés au niveau postsynaptique sur des neurones sérotoninergiques. Des lésions du noyau basal magnocellulaire, principale origine des projections cholinergiques vers le néocortex, ne modifient pas l'expression des ARNm ni de la protéine suggérant que les 5-HT<sub>6</sub>R sont faiblement exprimés sur les neurones cholinergiques (Marcos et al., 2006, 2008; Riemer et al., 2003; Woolley et al., 2004). D'autre part, aucune modification de la fixation d'un radioligand, le [125I]SB-258585, sur les 5-HT<sub>6</sub>R n'est retrouvée à la suite de lésions de la voie dopaminergique nigro-striée, suggérant également que les 5-HT<sub>6</sub>R ne sont pas présents sur les neurones dopaminergiques, au moins au niveau du striatum (Roberts et al., 2002). Des études de microdialyse ont montré que le blocage sélectif des 5-HT<sub>6</sub>R par des antagonistes provoquait une augmentation du niveau de glutamate et d'acétylcholine chez le rat au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal (Dawson et al., 2000; Dawson et al., 2001; Hirst et al., 2006; Mørk et al., 2017) ainsi que du niveau de dopamine et de norépinéphrine dans l'hippocampe (Lacroix et al., 2004; Li et al., 2007; Mørk et al., 2017). De manière intéressante, l'activation des 5-HT<sub>6</sub>R par des agonistes induit une augmentation du niveau de GABA au niveau de l'amygdale, de l'hippocampe et du striatum (Schechter et al., 2008). L'ensemble de ces résultats suggère une localisation préférentielle des 5-HT<sub>6</sub>R sur des interneurones GABAergiques et des neurones glutamatergiques. Des études ont également montré une co-localisation des 5-HT<sub>6</sub>R avec des neurones GABAergiques et glutamatergiques dans le striatum et l'hippocampe principalement (Helboe et al., 2015; Woolley et al., 2004). Il a notamment été montré que les 5-HT<sub>6</sub>R étaient co-localisés avec l'enzyme de synthèse du GABA, la glutamate décarboxylase (GAD67 et GAD65) ainsi qu'avec un transporteur vésiculaire du glutamate (*Vesicular glutamate*

*transporter 1* ou *vGlut1*) (Helboe et al., 2015; Woolley et al., 2004). Ainsi, il a été suggéré que les 5-HT6R permettaient la modulation des systèmes glutamatergiques, dopaminergiques et cholinergiques en agissant sur l'inhibition induite par les interneurons GABAergiques. Au niveau sub-cellulaire, les 5-HT6R ont été identifiés sur les épines dendritiques (Gérard et al., 1997; Lesiak et al., 2018; Ruat et al., 1993) ainsi que, plus récemment, au niveau des cils primaires des neurones (Brodsky et al., 2017; Dupuy et al., 2023; Lesiak et al., 2018).

### **2.5.2. Mécanisme de transduction**

Le 5-HT6R est un récepteur métabotrope couplé à une protéine  $G_{\alpha s}$  (Bockaert et al., 2021; Chaumont-Dubel et al., 2020) et qui présente une activité constitutive (Chaumont-Dubel et al., 2020; Deraredj Nadim et al., 2016; Doucet et al., 2021; Duhr et al., 2014). La stimulation du récepteur induit une activité de l'AC permettant une production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) intracellulaire (Ruat et al., 1993). L'augmentation d'AMPC induit une activation de la protéine kinase A (PKA) entraînant l'activation du facteur de transcription CREB (*cAMP Responding Element*) (Marcos et al., 2010; Sheng et al., 1991; Silva et al., 1998). D'autres interactions ont été mises en évidence notamment des interactions entre les 5-HT6R et les protéines ERK1/2 (*Extracellular signal-regulated kinases*) (Riccioni et al., 2011; Yun et al., 2007). L'activation des 5-HT6R induit une interaction entre la protéine Jab1 (*Jun activation domain-binding protein-1*) et la protéine Fyn avec le domaine C-terminal des récepteurs (Riccioni et al., 2011; Yun et al., 2010, 2007). L'autophosphorylation de Fyn va induire *in fine* une phosphorylation des protéines ERK1/2 permettant une activation des 5-HT6R ainsi qu'une augmentation de leurs expressions à la membrane des cellules. Par ailleurs, cette interaction va entraîner une translocation de Jab1 dans le noyau ce qui va induire une phosphorylation de la protéine c-Jun. L'équipe de Meffre (2012) (Meffre et al., 2012) ont mis en évidence l'interaction des 5-HT6R avec la protéine mTORC1 (*mammalian Target Of Rapamycin Complex 1*). La voie mTOR est connue pour être impliquée dans divers processus neurodéveloppementaux et dans certaines pathologies (Meffre et al., 2012; Szwed et al., 2021). Cette voie fait intervenir la voie de transduction Pi3K (*phosphatidylinositol 3 (OH-kinase) -AKT-mTOR*) (Ersahin et al., 2015). Enfin, plus récemment, l'équipe de Duhr et al. (2014) ont montré des interactions entre les 5-HT6R et la voie cdk5 (*cyclin-dependent kinase 5*), connue pour être impliquée dans la croissance et la différenciation neuronale (Figure 12) (Chaumont-Dubel et al., 2020; Duhr et al., 2014).



**Figure 12. Voies de transduction intracellulaire des récepteurs à la sérotonine de type 6.**

Le couplage des 5-HT6R avec la protéine G $\alpha$ s permet l'activation de l'AC puis la production d'AMPc et l'activation de la PKA. La PKA va par la suite phosphoryler les protéines CREB1. D'autre part, le 5-HT6R est associé à d'autres voies de signalisation indépendante de la protéine G. La première est la phosphorylation des protéines Fyn entraînant une cascade d'activation des protéines RAS, RAF1, MEK jusqu'à activer ERK1/2. La deuxième voie concerne l'activation de la protéine JAB1 dans le noyau qui conduit à la phosphorylation de C-jun. A la membrane, l'activation de JAB1 conduit aussi à la phosphorylation de cdk5 puis de cdc42. Enfin, la dernière voie concernée est celle du complexe mTORC1 via la voie PI3K/AKT/mTOR. AC : Adénylate cyclase ; Cdk5 : Cyclin-dependent kinase 5 ; Cdc42 : Cell division control protein 42 ; CREB : cAMP response element-binding protein ; ERK1/2 : Extracellular signal-regulated kinase 1/2 ; PKA : Protéine kinase A ; Jab1 : Jun activation domain-binding protein-1 ; MEK : Mitogen-activated protein kinase kinase ; mTORC1 : Complex 1 of mammalian target of rapamycin ; PI3K : Phosphatidylinositol 3-OH-kinase ; Raf1 : Rapidly accelerated fibrosarcoma kinase 1 ; Rheb : Ras homolog enriched protein ; TSC1/2 : Tuberous sclerosis complex 1/2.

### 2.5.3. Modulateurs pharmacologiques

Comme décrit précédemment, les 5-HT6R sont retrouvés dans de nombreuses régions cérébrales conférant ainsi à ces récepteurs des rôles physiopathologiques multiples (voir 2.6). Afin de mettre en évidence les fonctions de ce récepteur, des agents sélectifs des 5-HT6R ont été développés et notamment des antagonistes sélectifs présentés dans Le Tableau 5. Les premiers antagonistes développés ont été le Ro 04-6790 et Ro 63-0563 synthétisés par Roche et le SB-271046 synthétisé par SmithKline. Bien qu'ils aient une très bonne sélectivité pour les 5-HT6R, leur passage de la barrière hémato-encéphalique (BHE) reste limité. D'autres antagonistes ont alors été synthétisés, notamment le SB-257134, le SB-742457 ou encore le Ro 43-68554 qui passent davantage la BHE mais qui présentent une sélectivité moindre. L'antagoniste SB-258585, quant à lui, a été utilisé comme radioligand afin de cartographier la

localisation des 5-HT<sub>6</sub>R dans le cerveau (Hirst et al., 2000; Roberts et al., 2002). Certains de ces ligands initialement qualifiés d'antagonistes sont maintenant également considérés comme des agonistes inverses à la suite de la découverte d'une activité intrinsèque, c'est le cas par exemple du Ro 04-6790 et du SB-271046 (Deraredj Nadim et al., 2016; Romero et al., 2006). Plusieurs antagonistes ont été testés lors d'essais cliniques, notamment, les antagonistes SB-742457 (Intepirdine) et Lu-AE58054 (Idalopirdine), afin d'évaluer leurs effets sur les déficits cognitifs de la maladie d'Alzheimer (à des stades légers à modérés). Ces agents n'ont pas présenté les effets positifs attendus lors de la phase III (Lang et al., 2021; Mullard, 2016) (Tableau 5).

En parallèle, quelques agonistes des 5-HT<sub>6</sub>R ont été développés comme le WAY-181187 et le WAY-208466 (Schechter et al., 2008), l'EMD 386088 (Mattsson et al., 2005), les E-6837 et E-6837 (Romero et al., 2006) ou encore le ST1936 (Valentini et al., 2011). Ces agonistes ont notamment été étudiés dans le cadre de traitement contre l'anxiété et la dépression (Jastrzębska-Więsek et al., 2016; Nikiforuk et al., 2011; Wesolowska, 2010).

**Tableau 5. Tableau récapitulatif des principaux antagonistes sélectifs des 5-HT6R.**

\* Sélectivité pour le 5-HT6R par rapport à d'autres récepteurs (nombre entre parenthèses). ? : non déterminé ; BHE : barrière hémato-encéphalique.

Composés N° Cas	pKi			pA2	BHE	Sélectivité 5-HT6R*	Principaux effets dans des modèles pré-cliniques	Références
	Homme	Rat	Souris					
Ro 04-6790 202466-68-0	7.26	7.35	< 4	6.75	< 1%	100 × (23)	Induit des étirements et bâillements. Améliore la rétention dans la piscine de Morris. Réverse des déficits induits par la scopolamine et le MK-801	Bentley et al., 1999; Bös et al., 2001; Sleight et al., 1998; M L Woolley et al., 2001; Marie L Woolley et al., 2003
Ro 63-0563	7.91	7.91	?	7.10	< 1%	100 × (69)	Pas d'effets cognitifs décrits dans la littérature	Boess et al., 1998; Sleight et al., 1998
Ro 43-68554 478082-99-4	?	9.4	?	8.2	> 80 %	50 × (35)	Améliore la discrimination d'objets nouveaux dans un test de reconnaissance d'objet. Réverse les déficits induit par la scopolamine (reconnaissance d'objets, sociabilité, reconnaissance sociale, apprentissage par évitement passif	Lieben et al., 2005; Schreiber et al., 2007
<b>SB-271046 209481-24-3</b>	<b>9.09</b>	<b>9.15</b>	<b>8.91</b>	<b>8.71</b>	<b>10 %</b>	<b>200 × (55)</b>	<b>Biodisponibilité orale &gt;80%. Réverse les déficits induits par la scopolamine (piscine de Morris, évitement passif, sociabilité) Réverse les déficits induits par le MK-801 (reconnaissance d'objet). Effets anti-dépresseur et anxiolytique.</b>	Bromidge et al., 1999; Da Silva Costa-Aze et al., 2011, 2012; Foley et al., 2004; Geng et al., 2018; Loiseau et al., 2008; Marcos et al., 2008; Quiedeville et al., 2015, 2014; Routledge et al., 2000; Suárez-Santiago et al., 2017, 2022
SB-258585 209480-63-7	8.74	8.64	7.95	?	< 1 %	100 × (13)	Radioligand : [125I]-SB-258585 Effets anti-dépresseur et anxiolytique Réverse les déficits de mémoire sociale induite par la PCP	Hirst et al., 2000; Meffre et al., 2012; Wesotowska & Nikiforuk, 2007
SB-399885 402713-80-8	9.11	8.81	?	7.85	?	200 × (72)	Biodisponibilité orale 52 % Réverse les déficits mnésiques induit par la scopolamine ou le MK-801. Améliore la reconnaissance sociale	Hirst et al., 2006; Hirst et al., 2003; Perez-García & Meneses, 2005
SB-357134 219963-52-7	8.59	8.85	7.21	7.63	19 %	200 × (72)	Biodisponibilité orale 65 % Prévient les déficits mnésiques induits par la scopolamine ou le MK-801	Bromidge et al., 2001; Perez-García & Meneses, 2005; Stean et al., 2002)
Intepirdine (SB-742457) 607742-69-8	9.6	9.6	?	?	50 %	100 ×	Essais cliniques : NCT02910102 ; NCT02585934 ; NCT02586909 Biodisponibilité orale 76 %	de Bruin et al., 2013; Lang et al., 2021; Neill et al., 2010
Idalopirdine (Lu AE58054) HY-14338A	9.08	?	?	?	?	50 × (70)	Essais cliniques : NCT01019421 ; NCT02006641 ; NCT02006654	Arnt et al., 2010; Arnt & Olsen, 2011; Mullard, 2016

## **2.6. Intérêt des 5-HT6R comme cible thérapeutique**

Le développement d'antagonistes sélectifs des 5-HT6R a permis de mettre en évidence l'implication de ces récepteurs dans certains processus cognitifs comme la mémoire (Fone, 2008). Ainsi, les ligands 5-HT6R ont pu être testés pour le traitement des déficits cognitifs retrouvés dans certaines maladies comme la maladie d'Alzheimer, l'anxiété, la dépression et la SCZ (Meneses et al., 2011).

### **2.6.1. Maladie d'Alzheimer**

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative dans laquelle les patients présentent comme principal symptôme des troubles de la mémoire. Au vu de l'implication des 5-HT6R dans les processus cognitifs et plus particulièrement mnésiques (Codony et al., 2011), de nombreuses études précliniques et cliniques ont évalué les effets des antagonistes des 5-HT6R comme traitement du déclin de la mémoire associé à la maladie (Ramírez, 2013). Chez l'animal, dans un modèle d'amnésie induite par la scopolamine (antagoniste compétitif des récepteurs muscariniques), des effets bénéfiques ont été observés lors du test de reconnaissance d'objets (Hirst et al., 2006; Schreiber et al., 2007), du test d'évitement passif (Foley et al., 2004; Schreiber et al., 2007), du test de reconnaissance sociale (Loiseau et al., 2008; Schreiber et al., 2007) ou encore du test d'alternance spontanée (Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011). Le blocage des 5-HT6R permet aussi d'améliorer les déficits induits par le MK-801 dans ces tests (King et al., 2004; Marcos et al., 2008). Quelques antagonistes 5-HT6R ont été étudiés lors d'essais cliniques. C'est en particulier le cas de l'intepirdine (SB-742457) et de l'idalopirdine (Lu AE58054). Cependant, malgré les effets positifs observés lors des deux premières phases, ces antagonistes n'ont pas montré d'effets positifs en phase III (Khoury et al., 2018; Lang et al., 2021; Mullard, 2016).

### **2.6.2. Anxiété et dépression**

Quelques études précliniques ont mis en évidence des effets de type anxiolytique et antidépresseur à la suite du blocage des 5-HT6R. Lors d'une administration aiguë, Le SB-399885 permettrait d'augmenter de manière dose-dépendante le temps passé dans les bras ouverts d'un labyrinthe en croix surélevée chez le rat (Khoury et al., 2018; Wesółowska and Nikiforuk, 2007). Wesółowska & Nikiforuk (2007) ont également montré des effets antidépresseur de ce ligand, administré par voie intra-hippocampique, qui a diminué le temps

d'immobilité des animaux dans le test de la nage forcée et de la suspension par la queue. Concernant le SB-271046, après administration I.P, un effet similaire, à savoir une diminution du temps d'immobilité, a été observé lors du test de la nage forcée mais, pas lors du test de suspension par la queue (Hirano et al., 2009). L'équipe de Suárez-Santiago et al. (2017) a, quant à elle, montré que le SB-271046 réduisait le temps d'immobilité des souris ayant reçu un traitement chronique de kétamine aussi bien lors du test de la nage forcée que de la suspension par la queue. Cependant, bien que le SB-271046 et le SB-399885 ont des effets antidépresseurs, ils sont néanmoins plus faibles que ceux observés par un traitement à l'imipramine, un inhibiteur non sélectif de la recapture des monoamines, utilisé comme antidépresseur de référence (Hirano et al., 2009). Administré dans la région du CA1 de l'hippocampe, le SB-258585 diminuerait lui aussi le temps d'immobilité lors du test de la nage forcée chez le rat, effet comparable à ceux observés en présence de l'imipramine (Wesołowska et al., 2007).

### **2.6.3. Schizophrénie**

Comme décrit dans la première partie de cette introduction, la SCZ est une maladie hétérogène dans laquelle certains patients peuvent présenter des symptômes résistants aux traitements médicamenteux actuels (Correll and Howes, 2021). Depuis ces deux dernières décennies, cibler les récepteurs 5-HT<sub>6R</sub> présente un intérêt croissant pour le traitement de ces symptômes. Certains antipsychotiques atypiques, comme la clozapine et l'olanzapine, ont une certaine affinité pour les 5-HT<sub>6R</sub> (Glatt et al., 1995; Hirano et al., 2011). Une étude pharmacocinétique de Hirano et al. (2011) montre que le taux d'occupation des 5-HT<sub>6R</sub> équivaut respectivement à 88 % et 97 % après une administration orale de chlorpromazine et de clozapine. Cependant, ces antipsychotiques ciblent également d'autres types de récepteurs, notamment cholinergiques, provoquant ainsi des effets secondaires conséquents (Divac et al., 2014; Rajagopalan et al., 2019). Ainsi, certains ligands des 5-HT<sub>6R</sub> ont été testés lors d'études précliniques sur des modèles animaux de la maladie au vu des effets pro-cognitifs observés avec ces molécules (voir Tableau 6). Dans un modèle d'hypofonctionnement glutamatergique induit par le MK-801 ou la PCP, l'antagoniste SB-271046 reverse les déficits de la mémoire spatiale en piscine de Morris (Marcos et al., 2008) et les déficits observés lors du test de peur conditionnée (Woods et al., 2012) mais, pas ceux associés à la reconnaissance d'objet (King et al., 2004). L'antagoniste Ro 43-68554 quant à lui

ne permettrait pas d'améliorer les déficits cognitifs observés lors du test d'alternance spontanée pour la mémoire de travail, ni durant les tests de mémoire spatiale et de reconnaissance d'objets dans le modèle MK-801 (Gravius et al., 2011). Néanmoins, dans un modèle de séparation maternelle chez le rat, le SB-271046 améliore les déficits de mémoire dans le test de reconnaissance d'objets (Marcos et al., 2008). De même pour le Ro 04-6790 dans un modèle d'isolement social, sur les performances d'apprentissage dans le test de la piscine de Morris (Fone, 2008). Des études de de Bruin et al. (2016, 2010) montrent qu'un autre antagoniste, le SLV augmente de manière significative les performances de mémoire de travail dans le test d'alternance spontanée avec le modèle MK-801. Des résultats divergents ont été observés concernant le test du PPI mesurant le filtrage sensoriel par l'inhibition du réflexe de sursaut chez l'animal. En effet, administrés seuls les antagonistes Ro 43-68554 et SB-271046 ne permettent pas de contrebalancer les déficits observés dans le test du PPI après administration de MK-801 ou de PCP ni dans un modèle de lésion néonatale de l'hippocampe ventral (Leng et al., 2003; Pouzet et al., 2002; Schreiber et al., 2007). Cependant, en combinaison avec des antipsychotiques atypiques comme la clozapine ou la rispéridone, le SB-271046 améliore de manière significative ces déficits d'inhibition (Fijał et al., 2014).

En parallèle, l'efficacité de certains agonistes ont également été évalué sur des modèles animaux. Des traitements aigus de l'agoniste E-6837 ou de l'agoniste E-6801 a permis d'améliorer les déficits induit par la kétamine ou la scopolamine (Kendall et al., 2011; Rychtyk et al., 2019; Suárez-Santiago et al., 2022, 2017). Cependant, un autre agoniste, l'EMD 386088, semble quant à lui ne pas avoir d'effets procognitifs marqués et à l'inverse altérer les processus mnésiques (Amodeo et al., 2018; Nikiforuk et al., 2013). Toutefois, les effets de cet agoniste sur la mémoire semble dépendre de la dose utilisée (Amodeo et al., 2018; Meneses et al., 2011).

En résumé, seules quelques études ont évalué les effets des antagonistes 5-HT6R sur des modèles en lien avec la SCZ. En fonction des protocoles et des tests utilisés, le blocage des 5-HT6R engendre des effets différents. Par ailleurs, les modèles étudiés sont majoritairement des modèles monofactoriels trop éloignés, peut-être, de la physiopathologie de la maladie.

**Tableau 6. Résumé des effets du blocage des récepteurs 5-HT6R dans différents modèles animaux monofactoriels de SCZ.**

+ : effet bénéfique sur les déficits, - pas d'effet. Adapté de (de Bruin and Kruse, 2015)

		Antagonistes	Ro 43-68554	Ro 04-6790	SB-271046	SB-399885	SB-258585	
Mesures	Tests	Modèles	+ : améliore les déficits observés - pas d'effets sur les déficits observés					
<b>Symptômes de type déficitaires</b>								
Sociabilité	Test de sociabilité	Scopolamine	+					
		PCP néonatal					+	
	Test de reconnaissance sociale	Scopolamine	+			+		+
		WAY-181187 (Agoniste)				+		+
<b>Déficits de type cognitifs</b>								
Mémoire de travail	Alternance spontanée	Scopolamine				+		
		Animaux âgés				+		
		MK-801	-	+				-
Apprentissage et mémoire à long terme	Piscine de Morris	Scopolamine	-			+		+
		MK-801	-			+		-
		Animaux âgés				+	+	
		8-OH-DPAT			+			
	Test de reconnaissance d'objets	Scopolamine	+	+		+	+	+
		Animaux âgés				+		
		Séparation maternelle				+		
		MK-801	-	+		-		
	Peur conditionnée	Scopolamine	+	-		-/+		-
		MK-801	-			+		-
	Évitement passif	Scopolamine	+			+		
	<b>Autres déficits</b>							
Filtrage sensoriel	PPI	Amphétamine	-					
		PCP	-	-				
		MK-801	-			- / +	+	
		Lésion néo-natale de l'hippocampe ventral	-					
		Apomorphine			-			

## **Objectifs**

A la suite de cette introduction de thèse, il apparaît que le développement de nouveaux modèles multifactoriels soit maintenant nécessaire pour se rapprocher davantage de l'étiologie actuelle de la SCZ. En effet, les nombreuses études épidémiologiques ont permis de mettre en évidence de multiples facteurs de risque qui peuvent être reproduits chez l'animal, afin d'améliorer considérablement la validité de construction des modèles. Cette amélioration permettra une meilleure transposabilité entre les études animales et humaines ce qui fait certainement encore défaut au développement de nouveaux médicaments et à l'évaluation de nouvelles cibles thérapeutiques. Les antipsychotiques actuels ne prennent en charge que partiellement la symptomatologie de la SCZ en agissant particulièrement sur les symptômes productifs et moins sur les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs. Le développement de nouveaux médicaments doit obligatoirement se faire par l'utilisation de modèles animaux complexes et pertinents et qui présentent ces déficits.

Une des pistes thérapeutiques intéressantes pour améliorer les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs est de viser les récepteurs à la sérotonine de type 6 au vu des effets bénéfiques du blocage de ces récepteurs sur les fonctions cognitives. Dans ce contexte, il semble pertinent de s'intéresser à cette piste thérapeutique dans la cadre de la SCZ et de mesurer les effets de la modulation des 5-HT6R dans l'amélioration des symptômes déficitaires et les déficits cognitifs.

C'est dans ce cadre que s'inscrit ma thèse qui présente deux objectifs principaux :

- Évaluer la pertinence d'un nouveau modèle animal multifactoriel (2-hit) de SCZ qui se base sur la combinaison de deux facteurs de risque : une altération génétique du gène de la sérine racémase, associée à un stress précoce induit par une séparation maternelle de 24 h au 9<sup>ème</sup> jour de vie post-natal.
- Etudier l'intérêt de la modulation des 5-HT6R pour améliorer les déficits du modèle 2-hit. Cette modulation consiste en un blocage sélectif chronique des 5-HT6R par un antagoniste, le SB-271046.

La validité d'apparence du modèle a été étudiée à l'aide d'études comportementales permettant à la fois d'évaluer les symptômes de type productif (mesure de l'activité locomotrice), de type déficitaire (tests de comportement social) et les déficits cognitifs (test d'apprentissage et de mémoire) ainsi que le niveau d'anxiété et le filtrage sensoriel (par le test

d'inhibition du réflexe de sursaut) (article 1). Afin de mettre en évidence de possible altération de la plasticité fonctionnelle au niveau des synapses CA3-CA1 hippocampiques, une étude électrophysiologique *ex vivo* a été réalisée dans ce même modèle.

Concernant le second objectif, le SB-271046 est un antagoniste sélectif avec une très bonne affinité pour le 5-HT6R (voir le Tableau 5). Il a été utilisé afin de bloquer de manière spécifique les 5-HT6R et d'observer les effets de ce blocage sur les déficits du modèle 2-hit. Après un traitement sub-chronique de deux semaines, des études comportementales ont été réalisées : mesure de l'activité locomotrice, de sociabilité et de reconnaissance sociale, de mémoire de travail et d'anxiété. Ces tests ont été réalisés à deux âges différents, 3-4 mois puis 9-10 mois afin d'évaluer la chronicité des déficits du modèle 2-hit et de l'efficacité du traitement à deux âges différents. Les mêmes études électrophysiologiques *ex-vivo* que celles décrites précédemment ont été réalisées dans le but de caractériser les mécanismes sous-jacents de la modulation des 5-HT6R.

# **Méthodologie générale**

### **3.1. Animaux : conditions d'hébergement**

L'ensemble des souris, mâles et femelles, âgées entre 3 et 10 mois a été fournies par notre établissement local (Centre Universitaire de Ressources Biologiques, Université de Caen, Caen, France) et a comme fond génétique C57BL/6J. Les souris juvéniles mâles âgées de 3 semaines utilisées pour le test de sociabilité et de reconnaissance sociale proviennent du laboratoire Janvier (53940, Le Genest-Saint-Isle). Les souris ont été hébergées dans des cages en polycarbonate (N=5 par cage de taille 32 x 16 x 13 cm<sup>3</sup>) dans des conditions standards contrôlées comprenant un cycle lumière-obscurité inversé de 12h – 12h (lumière à 19h30), une température et hygrométrie stables (22°C ± 2 °C ; 50 ± 10 %). Les animaux ont eu un accès à l'eau et à la nourriture illimités et les cages ont été enrichies d'un abri en carton et de papier kraft. L'ensemble des expériences a été réalisé en conformité avec la directive du Conseil de l'Union Européenne et approuvé par le Comité d'Ethique Normandie en Matière d'Expérimentation Animale (CENOMEXA, demande d'autorisation de projet 2010/63/UE, Project n°2020121013375130 v2 et n°2022032815413897 v3).

#### **3.1.1. Groupes expérimentaux**

Pour la plupart des expérimentations, quatre groupes expérimentaux ont été sélectionnés :

- Le groupe témoin C57BL/6J ou souris Wild-type (WT)
- Le groupe ayant subi une délétion génétique de l'enzyme sérine racémase (SR-KO)
- Le groupe ayant subi une séparation maternelle (SM)
- Le groupe soumis à la combinaison de la délétion génétique et de la séparation maternelle (2-hit)

La construction génétique des souris SR-KO est celle introduite par Basu et al. (2009) et consiste en la délétion du premier exon du gène *SR* provoquant une déplétion en D-sérine de plus de 90% chez ces souris (Ploux et al., 2020).

Concernant la séparation maternelle, le protocole est issu des travaux de Bouet et al. (2011) et d'Ellenbroek et al. (1998). En résumé, neuf jours après la naissance des souriceaux (PND9), les mères appartenant aux groupes SM et 2-hit étaient transférées pendant 24h (9h – 9h le lendemain) dans une cage standard positionnée à côté de celle des petits. Ce protocole est connu pour induire un stress important chez les souriceaux (hypothermie, hypoglycémie, appels vains par ultrasons etc.). Les souris des groupes témoin et SR-KO étaient également

retirées et transférées dans une cage pendant seulement 20 secondes avant d'être de nouveau placées dans la cage d'origine.

L'ensemble des souris utilisées ont été identifiées à l'aide d'une puce positionnée sur le dos de l'animal en sous-cutanée. Cette puce sera injectée en une seule fois sous anesthésie générale par Isoflurane (5 % - 2.5 %) dans un mélange de O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>O (0.3/0.7).

### 3.1.2. Génotypage

Afin de confirmer le génotype des souris, un génotypage a été réalisé après prélèvement de poils avec bulbe au niveau de la joue. Le prélèvement de poils a été réalisé durant le puçage des souris. L'ADN a été extrait en plaçant l'échantillon dans 90 µL d'une solution de NaOH (50 nM) pendant 10 min avant d'ajouter 10 µL de Tris HCL 1M (Ph 8.0) pour neutraliser l'effet basique. Une PCR a ensuite été réalisée avec les amorces *serine ko forward* « GAA TTT CCT CCT GTT AAG TGA ATC TTC C » et *serine ko reverse* « ACG TGG GAA CCT GCT GGA TTC T ». La révélation s'est faite dans un gel d'agarose par électrophorèse, et les résultats de cette analyse figurent en annexe 1.

### 3.1.3. Traitements pharmacologiques

L'antagoniste compétitif des 5-HT<sub>6</sub>R, le SB-271046 (chlorhydrate de 5-chloro-N-(4-méthoxy-3-piperazin-1-yl-phényl)-3-méthyl-2-benzothiophène sulfonamide), a été synthétisé par le Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie (CERMN, Caen France). Il s'agit d'un antagoniste avec une bonne sélectivité pour les 5-HT<sub>6</sub>R (sélectivité > facteur 200) et qui possède une grande affinité (pK<sub>i</sub>=8,9 chez l'Homme, pK<sub>i</sub>=9,3 chez le rat et pK<sub>i</sub>=8,9 chez la souris). En outre, son passage de la barrière hématoencéphalique est de l'ordre de 10% (S M Bromidge et al., 1999; Hirst et al., 2003; Romero et al., 2006; Routledge et al., 2000). L'ensemble des traitements pharmacologiques utilisés pour les études comportementales et électrophysiologiques est détaillé dans le Tableau 7.

**Tableau 7. Tableau récapitulatif des différentes substances et des protocoles utilisés lors des études.**

I.P : intrapéritonéale ; AMPA : acide aminométhylphosphonique ; GABA : acide  $\gamma$ -aminobutyrique ; NMDA : N-méthyl-D-aspartate.

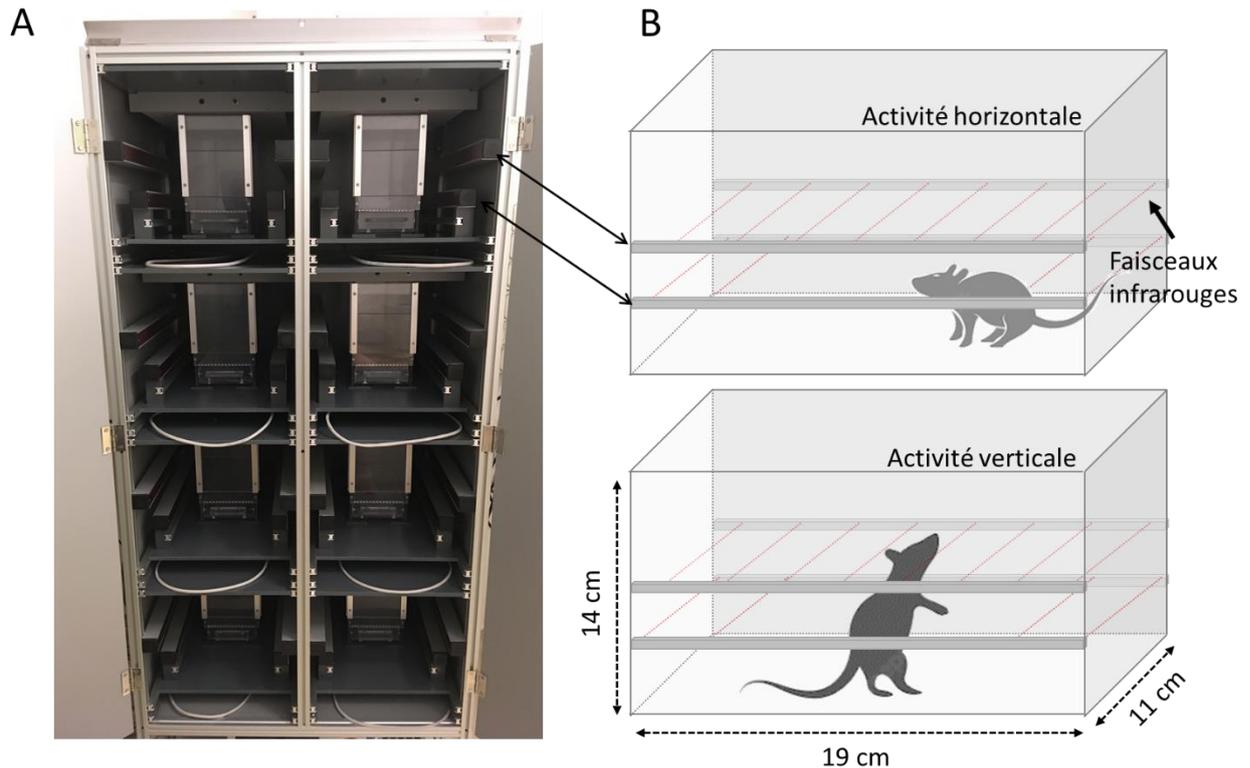
Substance	Activité (N° CAS)	Concentration	Nature et durée du traitement	Fournisseur
<b>SB-271046</b> (5-Chloro-3-méthylbenzo[b]thiophene-2-sulphonic acid (4-methoxy-3-piperazin-1-yl-phenyl)-amide monohydrochloride)	Antagoniste / agoniste inverse des récepteurs 5-HT6R (209481-24-3)	<i>In vivo</i> : 10 mg/kg Electrophysiologie <i>Ex vivo</i> : 0.1 $\mu$ M, 1 $\mu$ M et 10 $\mu$ M	<i>In vivo</i> : 60 min avant les tests, traitement chronique (I.P) 14 jours <i>Ex vivo</i> : 15 min	CERMN (Caen, France)
<b>NBQX disodium salt</b> (2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoylbenzo(F)quinoxaline)	Antagoniste des récepteurs AMPA et Kainate (479347-86-9)	<i>Ex vivo</i> : 10 $\mu$ M	<i>Ex vivo</i> : 15 min	Tocris Bioscience® (Bristol, UK)
<b>Bicuculline methochloride</b>	Antagoniste des récepteurs GABAA (40709-69-1)	<i>Ex vivo</i> : 10 $\mu$ M	<i>Ex vivo</i> : 15 min	Sigma-Aldrich® (Lyon, France)
<b>D-sérine</b> (acide 2-amino-3-hydroxypropanoïque)	Co-agoniste des NMDAR (312-84-5)	<i>Ex vivo</i> : 100 $\mu$ M	<i>Ex vivo</i> : 15 min	Tocris Bioscience® (Bristol, UK)

### 3.2. Tests comportementaux

Les tests comportementaux ont été effectués entre 8h et 18h. Une semaine avant le début des expériences, les souris ont été habituées à l'expérimentateur ainsi qu'aux différents gestes techniques (contention, injection) afin de réduire le stress lié à la manipulation. Elles ont également été placées dans la pièce expérimentale 30 minutes avant le début des tests afin de limiter le stress lié au changement d'environnement.

#### 3.2.1. Actimétrie

L'activité motrice spontanée a été mesurée dans un dispositif d'actimétrie (Imetronic®, France). Les souris ont été placées dans une cage standard (19 × 11 × 14 cm), équipée de deux niveaux de rayons infrarouges (l'un contenant 4 faisceaux infrarouges et l'autre au-dessus 8) individuellement pendant 30 minutes sans lumière (0 lux) (Figure 13). Le nombre d'interruptions des faisceaux infrarouges par l'animal suite à ses mouvements a été automatiquement enregistré, et permet la mesure de l'activité motrice spontanée (Since et al., 2013). Ce dispositif a permis de mesurer simultanément l'activité motrice de huit souris.



**Figure 13. Dispositif d'actimétrie.**

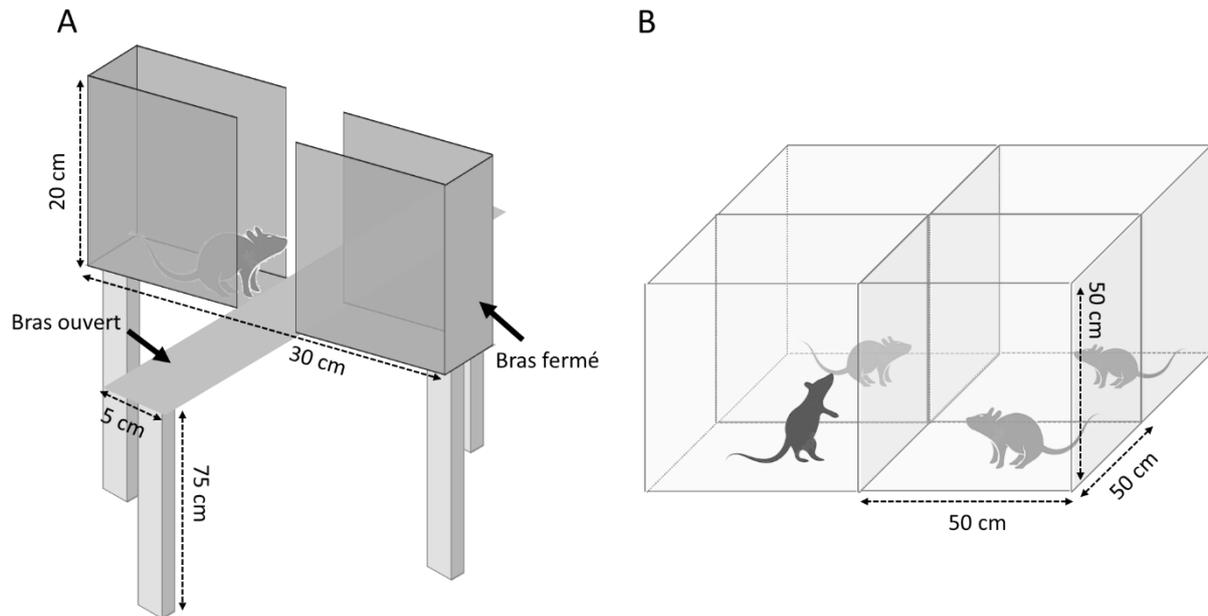
(A) Photographie du dispositif à 8 chambres disponible au laboratoire. (B) Schéma représentant les faisceaux infrarouges disposés de part et d'autre de la cage pour détecter l'activité motrice.

### 3.2.2. Labyrinthe en croix surélevée

Le labyrinthe en croix placé à 75 cm au-dessus du sol était composé de deux bras ouverts (30 × 5 cm) et de deux bras fermés opposés (30 × 5 × 20 cm) en Plexiglass® gris (Figure 14A). Pendant une durée de test de 5 minutes (30 lux), le temps passé dans les bras ouverts et fermés et le nombre d'entrées dans les bras ont été enregistrés. Ces paramètres nous ont permis d'évaluer un comportement de type anxieux.

### 3.2.3. Openfield

Le dispositif consiste en 4 arènes (50 x 50 x 50 cm) comprenant un plancher infrarouge qui permet d'enregistrer l'activité des animaux sans luminosité (0 lux) (Figure 14B). Ce dispositif permet de mesurer non seulement l'activité motrice spontanée des animaux dans un endroit inconnu, relativement stressant, mais aussi le comportement de type anxieux en évaluant le thigmotactisme (voir Prut & Belzung, 2003). L'activité a été mesurée par *video tracking* (NOLDUS®, Ethovision) qui permet de mesurer simultanément l'activité de quatre souris.



**Figure 14. Dispositifs utilisés pour évaluer le niveau d'anxiété et l'activité spontanée des souris.**  
 (A) Labyrinthe en croix surélevé. (B) Openfield comprenant 4 arènes.

### 3.2.4. Test de sociabilité

La sociabilité et la reconnaissance sociale des souris ont été évaluées à l'aide d'un dispositif composé de trois compartiments interconnectés (27 × 18 × 21 cm) séparés les uns des autres par des parois transparentes (Figure 15). Dans les compartiments latéraux, deux petites cages cylindriques (8.5 cm × 16 cm) étaient positionnées permettant d'assurer un contact visuel, auditif et olfactif entre les deux souris (Moy et al., 2004). Pour évaluer le comportement de sociabilité, la souris testée était placée dans le compartiment central. Une souris mâle C57BL/6J âgée de 3 – 4 semaines (souris stimulus inconnue de la souris testée) était placée au hasard dans l'un des deux compartiments latéraux de la cage. Le temps passé dans chaque compartiment (proche et loin de la souris stimulus) était collecté pendant 10 minutes avant de replacer la souris dans sa cage d'origine. Un indice de sociabilité a ensuite été calculé comme suit :

*Index de sociabilité :*

$$\frac{(\text{Temps passé à proximité de la souris stimulus}) - (\text{temps passé loin de la souris stimulus})}{(\text{Temps passé à proximité de la souris stimulus}) + (\text{temps passé loin de la souris stimulus})} \times 100$$

Un indice supérieur à 50 % indique une préférence pour le compartiment où se trouve la souris stimulus et sera considéré comme une sociabilité significative

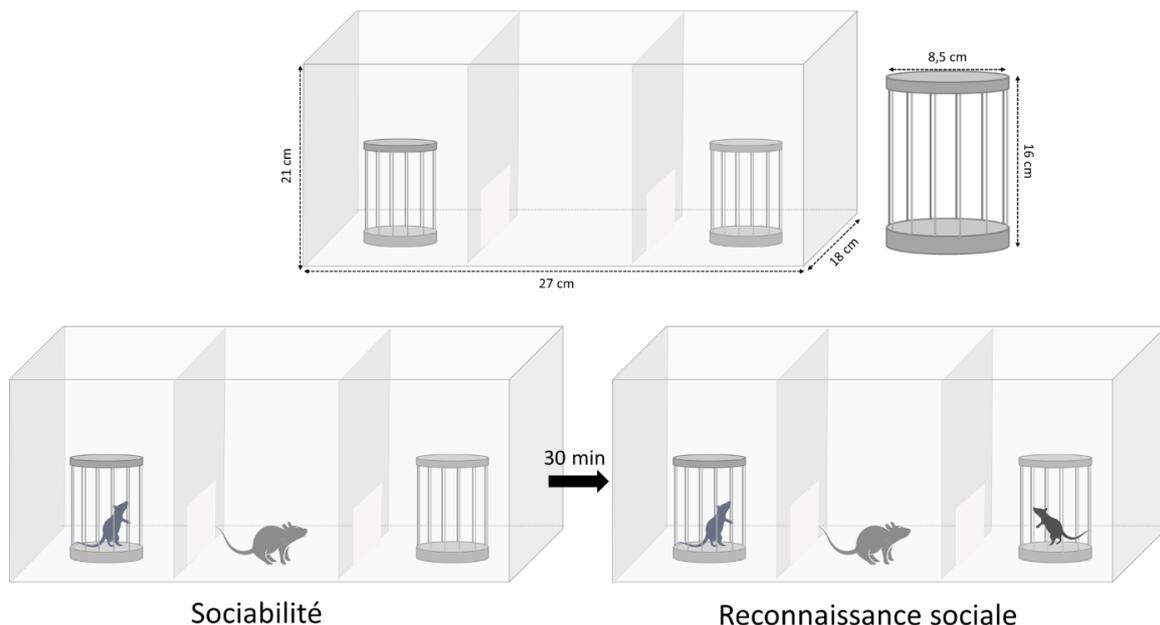
## | Méthodologie générale

Pour évaluer la reconnaissance sociale, la souris testée était replacée après 30 minutes, dans les mêmes conditions, tandis qu'une nouvelle souris stimulus était placée dans la chambre latérale opposée. Le temps passé dans chaque compartiment (proche de la souris précédente et proche de la nouvelle souris stimulus) a été recueilli pendant 10 minutes et un indice de reconnaissance sociale a été calculé comme suit :

*Index de reconnaissance sociale:*

$$\frac{(\text{Temps passé à proximité de la nouvelle souris stimulus}) - (\text{temps passé loin de la nouvelle souris stimulus})}{(\text{Temps passé à proximité de la nouvelle souris stimulus}) + (\text{temps passé loin de la nouvelle souris stimulus})} \times 100$$

Un indice supérieur à 50 % indique une préférence pour le compartiment où se trouve la nouvelle souris stimulus par rapport à celui qui contient la souris précédemment rencontrée et reflète une mémoire de reconnaissance sociale significative. Ce test est basé sur la préférence des souris pour la nouveauté et permet de mettre en évidence des altérations de comportements sociaux qui caractérisent certains symptômes de la SCZ.



**Figure 15. Dispositifs pour tester la sociabilité et la reconnaissance sociale des souris.**

### 3.2.5. Test d'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y

Le test de l'alternance spontanée permet d'évaluer la mémoire spatiale de travail chez le rongeur à l'aide d'une session unique dans un labyrinthe en Y. Le labyrinthe est en Plexiglass® gris et est composé de trois bras identiques (22 x 6.5 x 10 cm<sup>3</sup>) et d'une zone centrale (Figure 16A). Le labyrinthe était disposé au centre d'une pièce expérimentale avec une luminosité réduite à 30 lux au centre du labyrinthe et 15 lux dans les trois bras. La souris était déposée à l'extrémité du bras A, museau contre la paroi et laissée 8 minutes dans le labyrinthe. Le nombre d'entrées dans les différents bras a été noté manuellement, les quatre pattes de la souris devant franchir le bras. La distance parcourue est considérée comme un indicateur de l'activité exploratoire. Une alternance est définie lorsque les trois différents bras ont été visités de manière consécutive. Le pourcentage d'alternance a ensuite été calculé comme suit :

$$\% \text{ d'alternance} = \frac{\text{nombre d'alternances}}{\text{Nombre total d'entrée} - 2} * 100$$

### 3.2.6. Inhibition du réflexe de sursaut

L'inhibition du réflexe de sursaut (*prepulse inhibition*, PPI) permet d'évaluer la qualité du filtrage sensoriel. Ce réflexe correspond à une réponse motrice, un sursaut, engendré par un stimulus sonore appelé *pulse* qui peut être ou pas inhibé par un autre stimulus, appelé *prepulse* moins puissant, délivré 20 ms plus tôt. L'inhibition du réflexe de sursaut peut être mesurée à l'aide du dispositif *Startle reflex* (Imetronic®, France). Pour cela, les souris étaient placées dans une chambre insonorisée grise, sur une plateforme centrale cylindrique surmontant un capteur piézoélectrique, permettant de mesurer de manière très sensible le poids des souris (Figure 16B). La variation du poids a été utilisée pour calculer l'amplitude du réflexe de sursaut. L'acclimatation au bruit de fond (bruit blanc à 60 dB diffusé dans l'enceinte en continu) et au dispositif (enceinte fermée et sans lumière) durait 10 minutes suivi d'une série de 30 *pulses* à 110 dB, permettant ainsi aux souris de s'habituer au test et de diminuer la variabilité interindividuelle. La phase de test a duré en moyenne 25 minutes, les souris étant soumises à 5 types d'essais avec un intervalle inter-essai de 10 à 20 s : absence de *pulse* (*silence*), *pulse* seul (110 dB, 40 ms), *prepulse* (76, 80 ou 84 dB, 20 ms présenté 50 ms avant le *pulse*) + *pulse* (110 dB, 40 ms). Chaque essai était présenté 10 fois dans un ordre randomisé. Un pourcentage d'inhibition a ensuite été calculé comme suit :

$$\% inhibition = 1 - \frac{Sursaut_{prepulse+pulse}}{Sursaut_{pulse\ seul}} * 100$$

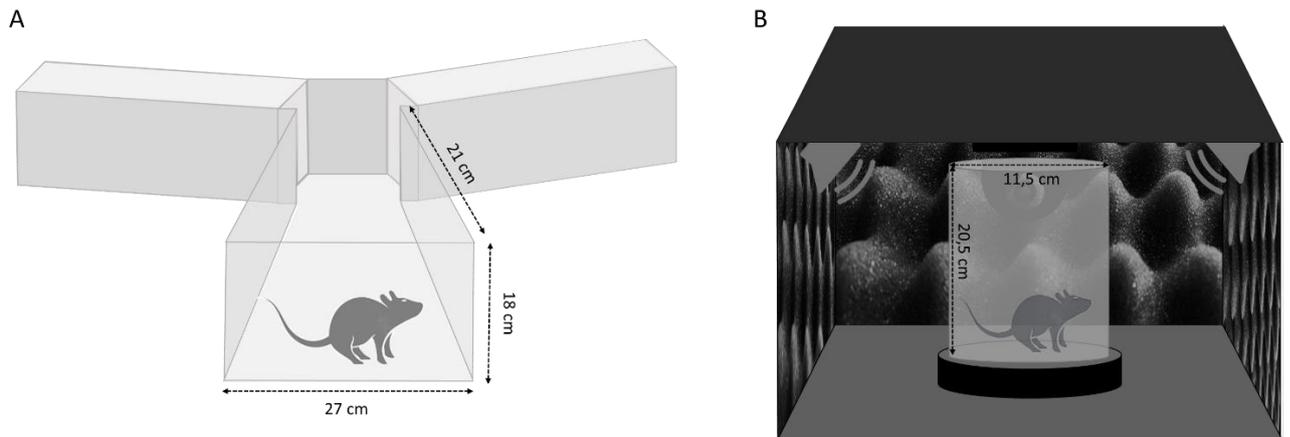


Figure 16. Dispositifs expérimentaux pour tester la mémoire de travail (A) et le réflexe de sursaut (B) chez les souris.

### 3.3. Etudes électrophysiologiques

Les enregistrements électrophysiologiques ont permis d'étudier l'activité synaptique et la plasticité fonctionnelle des réseaux neuronaux de l'aire CA1 de l'hippocampe. L'activité synaptique d'une population de neurones hippocampiques a été enregistrée selon les protocoles expérimentaux décrits par Billard & Rouaud (2007) et Billard (2010).

#### 3.3.1. Préparation des tranches d'hippocampe

Les souris ont été anesthésiées par isoflurane (5%) et mises à mort par décapitation. Le cerveau a ensuite été rapidement extrait du crâne et placé dans du liquide cérébro-spinal artificiel (aCSF) glacé pendant 1 min, afin de stopper toutes réactions biochimiques consécutives qui pourraient dégrader les tissus. L'aCSF a été préparé en amont à partir d'une solution mère conservée à 4°C avec la composition suivante : 124 mM NaCl, 3.5 mM KCl, 1.5 mM MgSO<sub>4</sub>, 1.2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>. Avant la dissection, la solution mère a été diluée (1/10<sup>ème</sup>) et du bicarbonate de sodium (NaHCO<sub>3</sub> 26.2 mM) ainsi que du glucose (11 mM) y ont été ajoutés. La solution fille a été équilibrée à un pH de 7.4 grâce à une oxygénation réalisée à partir d'un mélange de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (95%/5%).

L'hippocampe de chaque hémisphère a ensuite été prélevé et préparé sous forme de tranches de 400 µm d'épaisseur suivant un plan transversal à l'aide d'un « *Tissue chopper* » (Mc Ilwain®). Chaque tranche d'hippocampe était déposée dans une coupelle contenant de l'aCSF oxygéné, elle-même placée dans un bain-marie afin de maintenir une température stable de

28-30 °C. Avant tout enregistrement électrophysiologique, les tranches ont été maintenues dans ces conditions pendant un minimum de 1 h permettant une récupération progressive des processus biochimiques. Une fois ce délai passé, une tranche a été déposée au centre d'une cuve d'enregistrement dans l'un des deux dispositifs utilisés.

### 3.3.2. Dispositifs

Deux systèmes d'enregistrement sont utilisés dans nos expériences : le SEA pour *Single Electrode Array* (Figure 17) et le MEA pour *Multielectrode array* (MEA2100, Multi-Channel System, 60MEA200/30iR-Ti 8\*8, Reutlingen, Allemagne ; Figure 18). Dans les deux cas, les tranches d'hippocampe ont été maintenues dans la cuve d'enregistrement par un filet en nylon (SEA : Figure 17.1 ; MEA : Figure 18.A1) et perfusées de manière continue avec de l'aCSF oxygéné via un système de perfusion péristaltique (débit de perfusion : 1,5 ml/min ; SEA : Figure 17.5; MEA : Figure 18.A4). Les enregistrements obtenus avec le dispositif SEA ont été réalisés au moyen deux électrodes introduites dans la tranche :

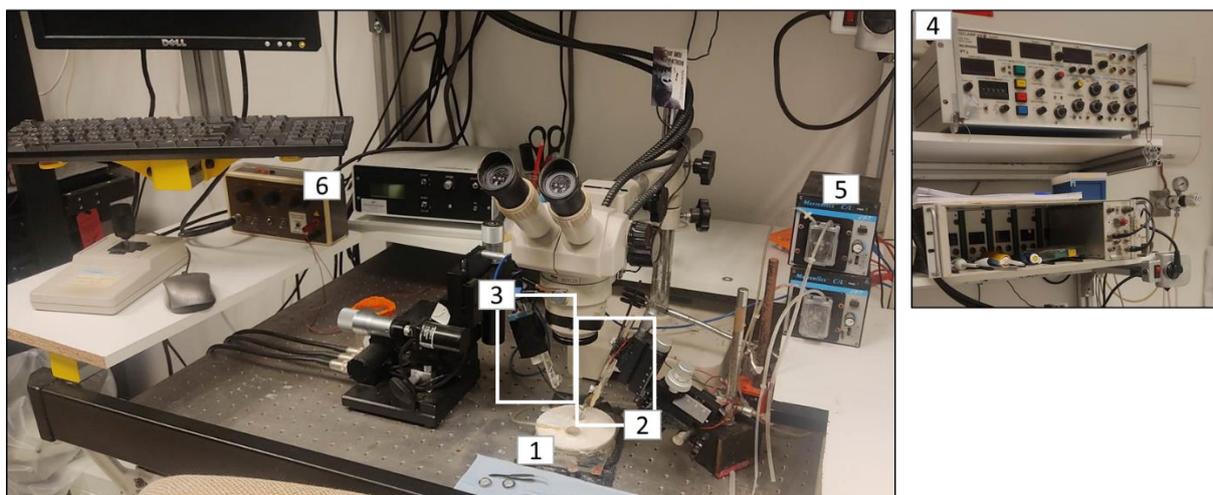
- Une électrode de stimulation bipolaire en acier (PHYMEP®, UESMGSEKNNM, ~10MΩ, Figure 17.2). L'un des deux pôles était directement positionné au niveau des collatérales de Schaeffer tandis que l'autre était situé au-dessus dans le bain d'aCSF.
- Une micropipette d'enregistrement en borosilicate (PHYMEP® réf : GC-150F-10 ; Figure 17.3) remplie de NaCl (2M) étirée à l'aide d'une étireuse (Narishige®, PB7) et qui possède une impédance de 1-5 MΩ. L'électrode d'enregistrement était positionnée dans la couche *stratum radiatum* de l'aire CA1.

Le positionnement des électrodes a été réalisé à l'aide de micromanipulateurs (World Precision Instruments®, MM3301) et d'une loupe binoculaire (grossissement x10), placée au-dessus de la cuve d'enregistrement qui permettait de bien visualiser la coupe et de contrôler l'emplacement des électrodes. L'électrode de stimulation était raccordée à une boîte de stimulation (Digitimer® Ltd DS3, Figure 17.6) et l'électrode d'enregistrement reliée à une tête de mesure (Axon Instruments®, HS-2) via un filament d'argent et qui amplifiait le signal 10 fois. Le signal était ensuite lissé avec un système de filtres passe haut/passe bas (10 Hz - 10 000 Hz) puis re-amplifié (x100 ; Tektronix®, AM502, Figure 17.4). Il passait ensuite par un filtre humbug (Questscientific®) permettant de supprimer les interférences du 50 Hz internes dues

## | Méthodologie générale

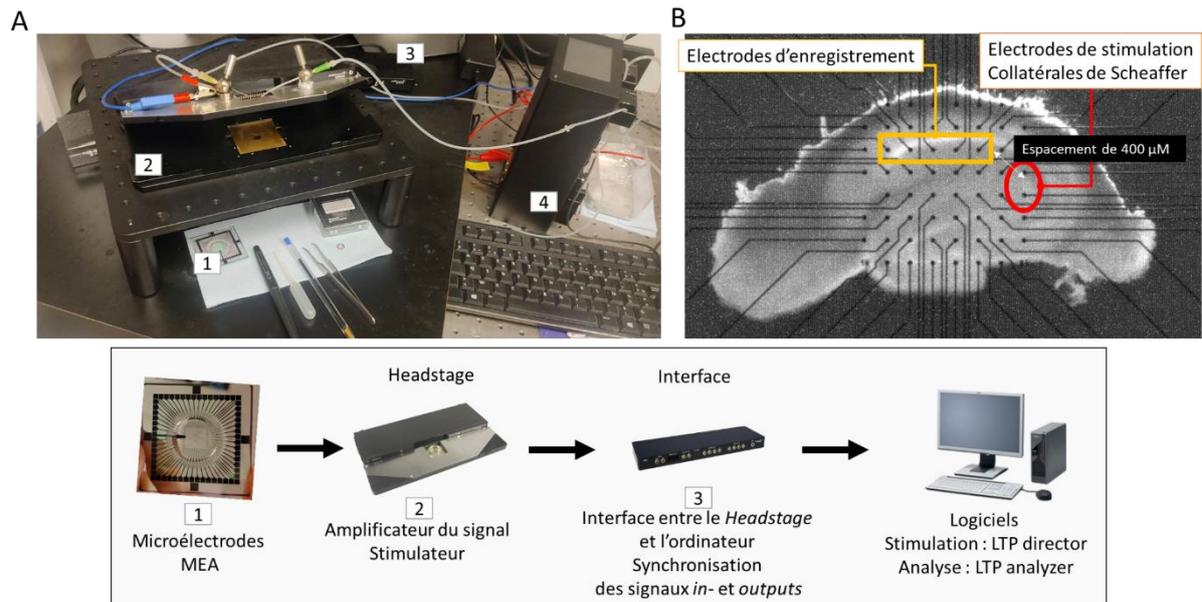
aux appareils électriques. Le signal obtenu était alors numérisé via une interface et traité par le logiciel d'analyse WinLTP<sup>®</sup> version 2.30 (Anderson and Collingridge, 2001).

Dans le cas du MEA, l'enregistrement était assuré par une grille composée de 60 électrodes qui était positionnée dans le *Headstage* (Crouzin et al., 2013 ; Figure 18.A1 ; A2). Les électrodes en titane (impédance < 100 k $\Omega$ ) possédaient un diamètre de 30  $\mu$ M et étaient espacées de 200  $\mu$ M les unes des autres. Une caméra (UI348xLE-M ; N° de série : 4102784601) était placée en dessous du système et reliée à l'ordinateur permettant ainsi de visualiser la tranche d'hippocampe avec le logiciel MEA-Monitor (Figure 18B). A la différence du SEA, l'électrode de stimulation et les électrodes d'enregistrement étaient sélectionnées à l'aide d'un logiciel LTPdirector<sup>®</sup> (possibilité de sélectionner jusqu'à 4 électrodes). L'électrode de stimulation choisie se situait au niveau des collatérales de Schaeffer et les électrodes d'enregistrement au niveau de la partie médiane de l'arbre dendritique de l'aire CA1 (*stratum radiatum*) (Figure 18B). Le *Headstage* permettait à la fois de réaliser les stimulations électriques (en courant ou en tension) et d'amplifier le signal obtenu tout en réduisant les interférences du 50 Hz (Figure 18.A2). Le signal était ensuite envoyé à l'interface qui permettait de recevoir le signal obtenu par le *Headstage* pour l'envoyer en temps réel à l'ordinateur et au logiciel d'analyse (Figure 18.A3). Enfin le signal reçu était obtenu avec le logiciel LTP director<sup>®</sup> et analysé avec LTP analyzer<sup>®</sup>.



**Figure 17. Présentation du poste utilisé pour le SEA**

(A) Dispositif du SEA comprenant : (1) la cuve d'enregistrement ; (2) l'électrode de stimulation bipolaire ; (3) la microélectrode d'enregistrement ; (4) les systèmes de filtres et d'amplification du signal ; (5) les pompes péristaltiques ; (6) la boîte de stimulation.

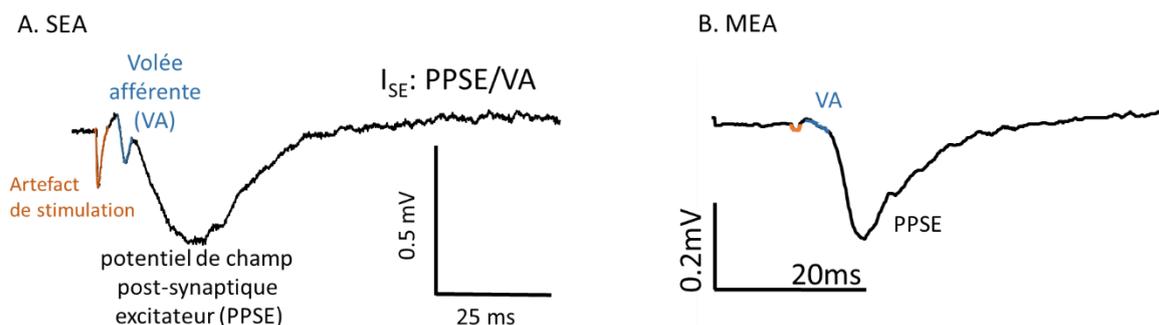


**Figure 18. Présentation du poste utilisé pour le MEA**

(A) Dispositif MEA comprenant : (1) la microplaque contenant les électrodes ; (2) le *headstage* pour l'amplification du signal et la stimulation ; (3) l'interface permettant la synchronisation des signaux et (4) le système de perfusion péristaltique. (B) Photo d'une coupe transversale d'hippocampe montrant l'emplacement des électrodes sélectionnées pour stimuler et enregistrer.

### 3.3.3. Protocoles de stimulation

Les stimulations électriques au niveau des collatérales de Schaeffer ont permis d'induire une modification du potentiel extracellulaire conduisant à un potentiel postsynaptique excitateur que nous avons enregistré (PPSE ou fEPSPs pour *field excitatory postsynaptic potential*, exprimés en mV/ms). Que cela soit avec le système SEA (Figure 19A) ou MEA (Figure 19B), le tracé engendré se décompose en plusieurs éléments : une première déflexion négative correspondant à l'artéfact de stimulation, une seconde déflexion négative moins ample nommée volée afférente (VA, mV/ms) reflétant la quantité de fibres stimulées et enfin le PPSE correspondant à la réponse induite par les neurones postsynaptiques.



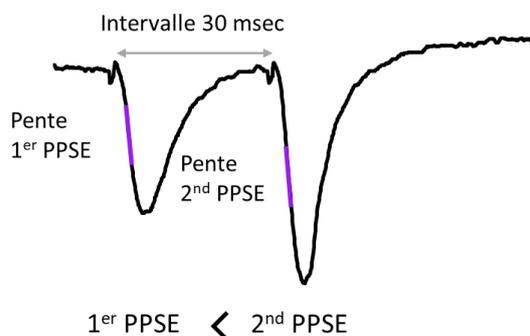
**Figure 19. Schéma représentant les différentes composantes du signal enregistré au niveau du *stratum radiatum* de l'aire CA1 suite à une stimulation des collatérales de Schaeffer.**

Tracé obtenu avec le système (A) *single electrode array* (SEA) représentant un champ NMDA et avec le système (B) *multielectrode array* (MEA) représentant un champ AMPA. VA : volée afférente, PPSE : potentiel de champ post-synaptique excitateur.

### 3.3.4. Etude de la transmission glutamatergique synaptique basale

Pour évaluer la neurotransmission basale, des PPSE ont été obtenus à l'aide du MEA en établissant des courbes d'entrée/sortie (courbe I/O, « input/output »). Pour cela, des stimulations ont été délivrées toutes les 20 sec à partir pour des tensions allant de 3000 mV à 5000 mV. Ces courbes I/O permettent d'évaluer la transmission basale du système, véhiculée principalement par les sous-types AMPA des récepteurs du glutamate.

La *paired pulse facilitation* (PPF) est une forme de plasticité synaptique transitoire qui se produit lorsque deux stimulations de même intensité sont appliquées successivement avec un intervalle de temps très court (entre 10 ms et 1 s ; Figure 20). Il en résulte un accroissement transitoire du second PPSE dû à une l'augmentation de la libération de glutamate par l'élément présynaptique (Asztely et al., 1996). La PPF était mesurée par le rapport de la pente du second PPSE sur la pente du premier (rapport > 1). Dans notre protocole, la PPF était étudiée après l'application de deux stimulations espacées de 30 ms, intervalle montré précédemment par notre équipe et qui donne une PPF optimale.



**Figure 20. Exemple de *paired-pulse facilitation* induite par deux stimulations appariées.**

PPSE : potentiel de champ post-synaptique

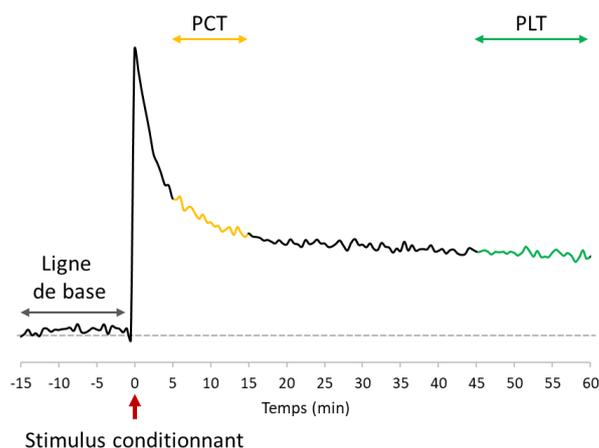
### 3.3.5. Etude de l'activation des récepteurs NMDA du glutamate

L'activation isolée des NMDAR a été étudiée en utilisant le dispositif SEA. Ces réponses ont été isolées à partir de tranches perfusées avec de l'aCSF appauvri en magnésium (0,1 nM, permettant de lever le blocage des NMDAR exercé par le  $Mg^{2+}$ ) et complété avec de l'antagoniste NBQX (10  $\mu$ M) afin de bloquer les non-NMDAR (récepteurs AMPA et kainate). L'activation des NMDAR a aussi été évaluée en établissant des courbes I/O mais avec des stimulations à basse fréquence (toutes les 10 s) délivrées avec des intensités croissantes allant de 100  $\mu$ A à 500  $\mu$ A. Pour évaluer le niveau d'activation des NMDAR, les réponses ont été obtenues et analysées à l'aide du logiciel WinLTP® software 2.30 permettant le calcul d'un indice d'efficacité synaptique (Ise) correspondant au ratio PPSE/VA.

### 3.3.6. Etude de la plasticité synaptique

La potentialisation à long terme (PLT) est une forme de plasticité synaptique fonctionnelle durable induite par un stimulus conditionnant et qui dépend étroitement de l'activation des NMDAR (Collingridge and Bliss, 1995; Morris et al., 1990).

Pour étudier la potentialisation à court terme (PCT) et la PLT de la transmission synaptique, un stimulus test a été appliqué toutes les 20 s et ajusté pour obtenir un PPSE avec une pente d'environ 0,1 mV/ms. Après 15 min de stabilité de la ligne de base, un stimulus conditionnant a été appliqué, consistant soit en une stimulation à haute fréquence (HFS pour *High Frequency Stimulation*, 1 décharge de stimulations délivrées à 100 Hz pendant 1 s), soit en une stimulation de type *thêta-burst* (TBS pour *Theta Burst Stimulation*, séquence de 10 décharges de 4 impulsions délivrées à 100 Hz séparées par 200 ms et répétée deux fois avec un intervalle de 20 s). Le stimulus test a ensuite été repris et la réponse recueillie pendant 60 min. Pour les analyses, on a considéré que la PCT correspondait à des changements de la pente des PPSE survenant entre 5 et 15 min après la stimulation de conditionnement, tandis que la PLT correspondait à des les changements survenant entre 45 et 60 min (Figure 21).



**Figure 21. Exemple de déroulé temporel d'une potentialisation à court et à long terme (PLT).**

Représentation schématique du déroulé de la plasticité fonctionnelle induite par un stimulus conditionnant et montrant les deux périodes correspondant à la PLT et à la potentialisation à court terme (PCT).

### 3.3.7. Analyses statistiques

L'ensemble des analyses statistiques des données a été réalisé avec les logiciels R<sup>®</sup> 4.2.0 et GraphPad<sup>®</sup> Prism 8.3 (Figure 22). La vérification de la normalité des données a été effectuée à l'aide du test Shapiro et l'homogénéité des variances vérifiée avec le test de Levene. Si les données suivaient une loi normale et possédaient des variances homogènes (données paramétriques), des analyses de variances (ANOVA) ont alors été réalisées afin de comparer les groupes entre eux. Dans le cas où des différences significatives étaient détectées (pour un nombre de groupe supérieur à 2), le test de TukeyHSD (*Honestly Significant Difference* ; test post-hoc) a été réalisé. Dans le cas où les données ne suivaient pas une loi normale ou que les variances n'étaient pas homogènes (données non paramétriques), les comparaisons de groupe ont été faites à l'aide d'ANOVA avec permutations suivi par un test post-hoc (tests T avec permutations avec méthode d'ajustement FDR « *False Discovery late* ») dans le cas où des différences de groupes étaient détectés.

Les comparaisons à des valeurs de référence ont été réalisées avec des tests t (pour données paramétriques) ou test de Wilcoxon (pour données non paramétriques). L'effet de l'administration d'agents pharmacologiques avec comparaison avant / après l'administration a été déterminé avec des tests T (données paramétriques) ou test de Wilcoxon (données non paramétriques) pour données appariées. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque la valeur de probabilité associée était inférieure à 0.05.

## | Méthodologie générale

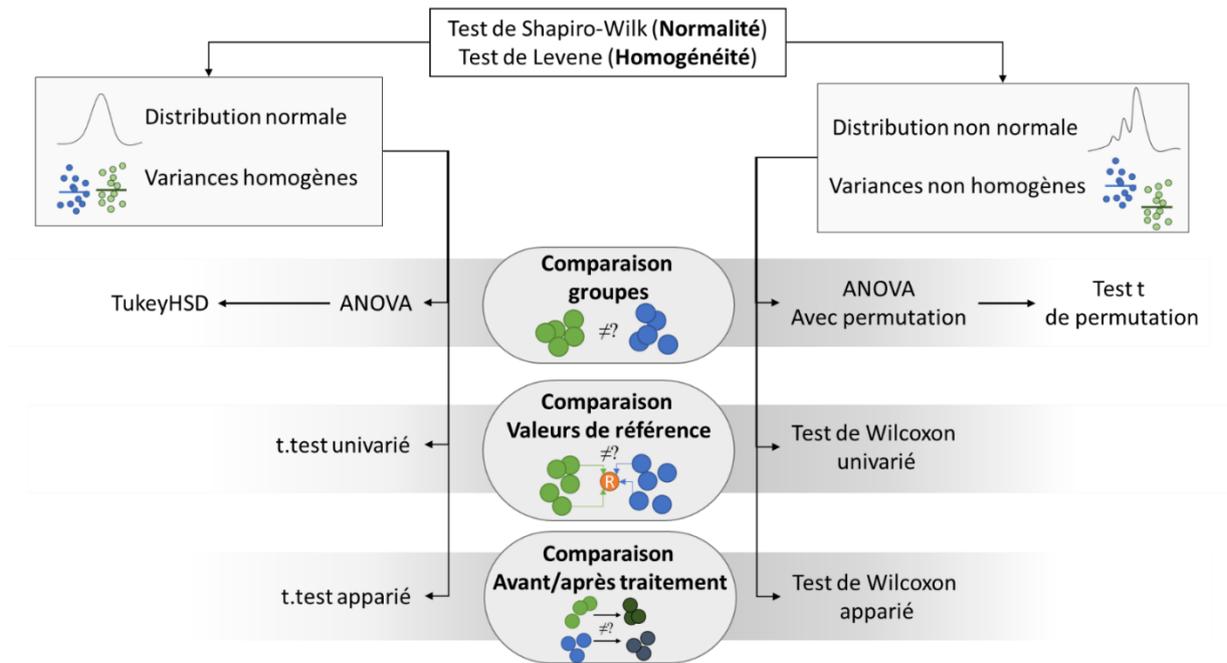


Figure 22. Arbre décisionnel des tests statistiques selon la distribution des données (normale ou non) et l'homogénéité de leur vari

## Résultats

#### 4.1. Article 1

### **Assessment of Gene-environment interaction by behavioral approach in a new 2-hit model of schizophrenia**

Lahogue, C.; Boulouard M., Menager F., Billard, J.-M.; Freret, T.; Bouet, V.

La première partie de la thèse a eu pour but de valider un nouveau modèle de SCZ à deux facteurs. Ce modèle 2-hit combine la délétion partielle du gène de la sérine racémase qui permet d'induire un hypofonctionnement des NMDAR (1<sup>er</sup> hit, facteur génétique, SR-KO, (Basu et al., 2009)) avec un stress précoce induit par une séparation maternelle de 24 h au 9<sup>ème</sup> jour de vie des souriceaux (2<sup>ème</sup> hit, facteur environnemental précoce, SM, (Bouet et al., 2011; Ellenbroek and Cools, 2002)). Les animaux soumis à ce modèle présentent une hyperactivité, des déficits de mémoire de travail et de mémoire spatiale mais pas d'altération du comportement de sociabilité, du niveau d'anxiété et du réflexe de sursaut. Cet article a été soumis pour publication au journal *Schizophrenia Research* et est actuellement en cours de révision.

---

1 Article

2 **Gene-environment interactions in a new 2-hit mouse model**  
3 **of schizophrenia: behavioral phenotyping**

4 Caroline LAHOGUE\*, Michel BOULOUARD, François MENAGER, Thomas FRERET, Jean-Marie BILLARD  
5 and Valentine BOUET\*

6 Normandie Université, UNICAEN, INSERM, COMETE, CYCERON, FHU A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P, CHU Caen, 14000 Caen 5 France.

7  
8 \* **Corresponding authors:** Caroline LAHOGUE, Valentine BOUET,  
9 UNICAEN COMETE, UMR S-1075, Bat GMPC, Campus Horowitz, Bd Henri Becquerel, CS14032 Caen Cedex 5, France.  
10 email: [valentine.bouet@unicaen.fr](mailto:valentine.bouet@unicaen.fr); [caroline.lahogue@unicaen.fr](mailto:caroline.lahogue@unicaen.fr)

11

12

---

13 **Abstract**

14 Schizophrenia is a multifactorial psychotic disorder characterized by positive and negative symptoms,  
15 and cognitive impairments. To advance current treatments, it is important to improve animal models  
16 by considering the multifactorial etiology, therefore by combining factors. Our study aimed to  
17 characterize an innovative mouse model of schizophrenia based on the combination of a partial  
18 genetic deletion of *serine racemase* (genetic vulnerability) with an early stress factor induced by  
19 maternal separation (early environmental exposure). The face validity of the model was assessed  
20 through a large repertoire of behavioral experiments. The 2-hit mice displayed an increased locomotor  
21 activity in several tests, reflecting positive symptoms, working memory impairment, reflecting  
22 cognitive deficits, and recognition memory alterations, that could reflect neophobia. This new  
23 multifactorial model therefore leads to an interesting phenotype for modelling paranoid  
24 schizophrenia.

25 **Keywords:** multiple-hit; psychosis; stress; maternal separation; memory; serine racemase

26

---

27 **1. Introduction**

28 Schizophrenia (SCZ) is a psychotic disorder characterized by heterogeneous symptoms including  
29 positive (hallucinations, delusions) and negative symptoms (avolition, anhedonia, social withdrawal)  
30 and cognitive impairments (working memory deficits, attentional dysfunction) (Addington et al., 1991;  
31 Tandon et al., 2013). The first psychosis episode usually occurs in the early adulthood (15 – 25 years)  
32 and the course of the illness varies from one patient to another (Tandon et al., 2013). Although the  
33 etiology of SCZ is still unknown, it is now well established that interactions between the genetic  
34 background and environmental factors (gene x environment interactions) have a significant role in the  
35 development of the disease (Moran et al., 2016; Guerrin et al., 2021; Wahbeh and Avramopoulos,  
36 2021). Numerous genome-wide association studies reported genes polymorphism and copy number  
37 variants in schizophrenic patients (Rees and Kirov, 2021). Several genes have been identified as risk  
38 factors including those related to neuronal communication involving glutamatergic neurotransmission  
39 (Morita et al., 2007; Ripke et al., 2014; Nakazawa and Sapkota, 2020). The dual hit hypothesis of SCZ

40 suggests that the genetic vulnerability (first hit), in association with environmental factor (early stress  
41 or late environmental factors; second hit) would favor its occurrence (Brown, 2011; Davis et al., 2016;  
42 Millan et al., 2016; Stilo and Murray, 2019). Environmental factors include (non-exhaustive list) several  
43 complications during pregnancy (as mother infection, malnutrition, or psychosocial stress), childhood  
44 trauma (physical, psychological, or sexual abuse, neglect, or exposure to physical and psychological  
45 abuse) and adversity, bullying and discrimination or drug abuse during adulthood (Ellenbroek and  
46 Cools, 2002; Murthy and Gould, 2018; Guerrin et al., 2021). Childhood trauma is one of the factors  
47 widely studied in the context of SCZ (Larsson et al., 2013). The stress generated by a traumatic episode  
48 alters the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA), leading to hyperactivity of the dopaminergic  
49 system (Ellenbroek et al., 1998). This may cause neuronal loss in the hippocampus (Ruby et al., 2014,  
50 2017) which induces cognitive deficits such as memory, attention and learning disorders (Trovão et al.,  
51 2022). Several paradigms have been developed to reproduce childhood trauma in animal models of  
52 SCZ and one of the most frequent is the maternal separation (MS) (reviewed in Nishi et al., 2013; Marco  
53 et al., 2015; Čater and Majdič, 2022). MS for 24h at post-natal day (PND) 9 in rodent disturbs the HPA  
54 axis (Tractenberg et al., 2016; Van Bodegom et al., 2017) and produces sensorimotor gating deficit  
55 (Ellenbroek and Cools, 2002) while it increases anxiety-like behavior and alters sociability in rodent  
56 (Bouet et al., 2011), which are important hallmarks of SCZ.

57 Antipsychotic drugs are efficient (even if not curative) to treat positive symptoms while negative and  
58 cognitive symptoms remain resistant (Nucifora et al., 2019; Correll and Howes, 2021). Among the  
59 possible explanations is the lack of reliability in the validity of animal model of SCZ (Sotiropoulos et al.,  
60 2021). Such animal models are expected to mimic as much as possible the mechanisms underlying the  
61 disease (construct validity), as well as to display behavioral abnormalities and cellular alterations  
62 similar to those observed in patients (face validity) and to respond to available treatments (predictive  
63 validity). Even if numerous animal models of SCZ have been developed, they are mostly based on a  
64 single risk factor (genetic, pharmacologic, environmental,...) which distanced them from the  
65 multifactorial aspect of the illness (Jones et al., 2011). Alternately, some multifactorial models  
66 combining two factors (genetic x environment; genetic x genetic or environment x environment  
67 factors) have been developed to better consider the face validity (Moran et al., 2016; Guerrin et al.,  
68 2021; Sotiropoulos et al., 2021). Even for 2-hit animal models of SCZ, it is complicated to observe all  
69 the symptoms of the disease, and each model presents a different behavioral phenotype (for review  
70 see Guerrin et al., 2021). For example, the working memory, one of the most affected memories in SCZ  
71 (Conklin et al., 2005; Timofeeva and Levin, 2011a), is not found in all 2-hit models notably because it  
72 seems to be poorly studied (Choy et al., 2009; Schroeder et al., 2015; Guerrin et al., 2021). In this sense,  
73 the necessity to improve the multifactorial models of the disease is crucial and this is the aim of the  
74 present study using a new mouse model of SCZ based on the combination of a genetic and an early  
75 stressing factor.

76 Among genes associated with SCZ, serine racemase (SR) is now considered to be an relevant target  
77 (Morita et al., 2007; Basu et al., 2009; Jacobi et al., 2019). SR is localized in neuronal cells of the  
78 forebrain and synthesizes D-serine, a co-agonist of the N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate  
79 receptors (NMDAR) (Wolosker et al., 1999). Clinical studies found a polymorphism in SR gene  
80 associated with a reduction of D-serine levels in the cerebrospinal fluid and brain of schizophrenic  
81 patients (Yamada et al., 2005; Goltsov et al., 2006; Morita et al., 2007; Jacobi et al., 2019; Nakazawa  
82 and Sapkota, 2020). The total deletion of exon 1 of the SR gene (SR-KO) reduced of at least 90 % of D-  
83 serine levels in brain mouse and is linked to behavioral alterations such as hyperactivity and memory

84 deficits (Basu et al., 2009; Ploux et al., 2020). Recent *ex vivo* electrophysiological studies has reported  
85 an alteration of the excitatory/inhibitory balance in the CA1 hippocampal networks of those mice  
86 (Ploux et al., 2020; Jami et al., 2021). Thus, the phenotype of the SR-KO mice, considered as a model  
87 of NMDAR hypofunction, appeared as an interesting option of genetic vulnerability to test the effects  
88 of association with an early stress. Herein, we selected MS of 24 h at post-natal day (PND9) as an early  
89 stress (Ellenbroek et al., 1998; Ellenbroek and Riva, 2003). Indeed, MS has previously been related to  
90 impair anxiety-like behavior and social behavior in rodent (Fabricius et al., 2008; Bouet et al., 2011). In  
91 the present study, four groups of male mice were constituted including wild-type (control group), 1-  
92 hit SR-KO (SR-KO group), 1-hit with maternal separation (MS group), and SR-KO with MS (2-hit group).  
93 To investigate behavioral deficits related to SCZ symptoms and better draw the impact of the  
94 interaction between the two factors, a large range of behavioral assessments was performed. The 2-  
95 hit mice showed an increase in locomotor activity (assessed with open field test and actimeter) and an  
96 alteration in memory performances (including working memory assessed by spontaneous alternation  
97 in the Y-maze and recognition memory assessed with place preference in the Y-maze). These results  
98 indicate that this new 2-hit model displays an interesting phenotype gathering some positive and  
99 cognitive symptoms of SCZ and could be considered as a robust tool for testing new therapeutic  
100 strategies.

## 101 2. Methods Materials and Methods

### 102 2.1. Animals

103 Male mice aged 2-4 months provided by our local facility (Centre Universitaire de Ressources  
104 Biologiques, Université de Caen Normandie, France) were used including wild type (WT) C57BL/6J mice  
105 and SR-KO mice on a background originally issued from J.T. Coyle's lab colony (Belmont, MA, USA)  
106 (Basu et al., 2009). Mice were housed in polycarbonate cages (n = 5 per cage) in standard controlled  
107 conditions including reversed 12h-12h light-dark cycle (light on at 7:30 am), regulated temperature ( $22$   
108  $\pm 2^\circ\text{C}$ ), humidity ( $50 \pm 10\%$ ) and free access to food and water. Cage enrichment consisted in crinkle  
109 cut shredded paper and a cardboard house. Experiments were performed in accordance with French  
110 and European Economic Community guidelines for the care and use of laboratory animals  
111 (2010/63/UE, project authorization n°2020121013375130 v2). Two cohorts were used to performed  
112 all behavioral experiments. Twenty-three WT and 25 SR-KO mice were used for the first experiment  
113 and 22 WT and 29 SR-KO for the second one. Behavioral experiments are detailed on the figure 1.

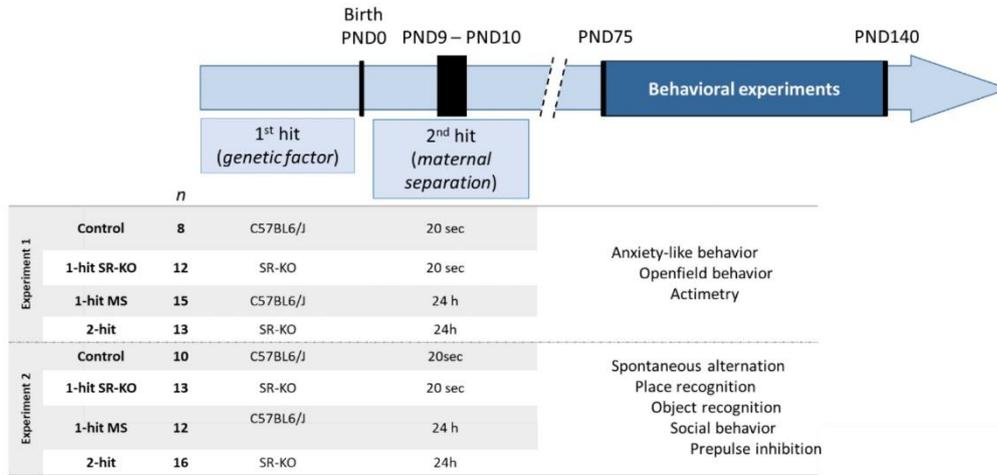
### 114 2.2. Maternal separation (MS)

115 At PND9, wild-type and SR-KO litters were separated from their mother for 24 h (early environmental  
116 stress) (Ellenbroek and Cools, 2002; Bouet et al., 2011). Mothers were removed and placed in a cage  
117 nearby (from 9:00 a.m. to 9:00 a.m., the day after). Then, the mothers were returned to their litters  
118 and left undisturbed until weaning. Control mice were submitted to the same protocol with only 20  
119 sec of separation.

### 120 2.3. Behavioral assessment

121 Animals were handled daily for 5 minutes during the week preceding the experiments. Experiments  
122 were conducted during the active-dark phase of the cycle and were started at 8:00 am. There was one  
123 week between each behavioral test. Animal cages were placed in the experimental room 30 min before  
124 the beginning of each experiment. Apparatuses were cleaned with alcohol (70%) between each  
125 assessment. Two sets of experiments were performed for the behavioral assessment (Fig 1). Except

126 for spontaneous locomotor activity (in actimeter), all behavioral tests were videotaped and scored  
 127 using EthoVision XT v.16.0 (Noldus®, The Netherlands).



128

129 **Figure 1. Animal groups and experimental design.** Two cohorts were used for all behavioral experiments. The first one was  
 130 used for experiment 1 and the second one for the experiment 2. The number of animals used for each group is indicated in  
 131 the "n" column. PND: post-natal day; SR-KO: serine racemase knock-out; MS: maternal separation.

132

**2.3.1. Anxiety-like behavior**

133 The maze made of gray plastic consisted of two opposite open arms (30 × 5 cm) and two opposite  
 134 closed arms (30 × 5 × 20 cm), elevated 75 cm above the floor. During 5-min free exploration, the  
 135 number of entries (four paws criterion) and the time spent in open and closed arms were recorded for  
 136 each mouse, to obtain corresponding percentages. These parameters were used to assess anxiety-like  
 137 behavior.

138

**2.3.2. Openfield behavior**

139 Mice were individually placed for 30 min in a squared open arena (50 × 50 × 50 cm). The total distance  
 140 and percentage of time spent in the center of the openfield (OF) were automatically collected (Prut  
 141 and Belzung, 2003).

142

**2.3.3. Actimetry**

143 Motor activity was measured in Plexiglas cages (19 × 11 × 14cm) by an automated actimeter containing  
 144 six lines of infrared beams (IMETRONIC®). Mice were individually placed during 30 min in cages (19 ×  
 145 11 × 14 cm), and the number of beams crossing reflecting locomotor activity (horizontal and vertical  
 146 movements) was automatically counted.

147

**2.3.4. Spontaneous Alternation**

148 Spatial working memory was assessed by spontaneous alternation in a single-session Y-maze test  
 149 (Bazin et al., 2009). The maze consisted of three equally spaced plastic arms (22 × 6.5 × 10 cm). Each  
 150 mouse was individually placed at the end of one arm, facing the front of the wall, and allowed to freely  
 151 explore the maze during a 5-min session. The sequence of arm entries (four paws criterion) was

152 collected. An alternation was defined as consecutive entries into three different arms. The alternation  
153 percentage was calculated by the formula: (number of alternations) / (total number of entries-2)\*100.

#### 154 **2.3.5. Place recognition**

155 Place recognition was assessed in a Y-maze (Dellu et al., 2000; Asselot et al., 2017). The maze, different  
156 from that used for spontaneous alternation test, consisted of three equally spaced arms (gray plastic;  
157 34 × 8 × 16 cm). During the first training session, the mouse was placed in the starting arm, facing the  
158 wall, and allowed to freely explore for 5 min the maze with one arm closed by a removable door (left  
159 of right randomly), before being replaced in its home cage. After 60-min inter-trial interval, the mouse  
160 was placed again in the maze for the test session and allowed to freely explore the three arms for 2  
161 min. The place recognition is based on the preference of rodents for novelty, and the remembrance of  
162 the previously visited arm. During each session (training and retrieval), the time spent and the number  
163 of arm entries were recorded. A discrimination index was calculated by the formula: [(time in the novel  
164 arm) – (time in the familiar arm)] / [(time in the novel arm) + (time in familiar arm)] \*100.

#### 165 **2.3.6. Object recognition**

166 The object recognition test was performed in a Y-maze (gray plastic; 34 × 8 × 16 cm for each arm) with  
167 two different objects, available in four copies: lego® towers and sealed transparent bottles filled with  
168 sand. The protocol used to evaluate object recognition memory was based on the study by Leger et  
169 collaborators (Leger et al., 2013). The same maze as the one used for place recognition was used for  
170 object recognition to benefit from previous exposure as habituation. During the acquisition session,  
171 two identical objects were placed in the maze in the distal parts of the arms. The mouse was placed at  
172 the end of the arm containing no object, faced to the wall and was allowed to freely explore the  
173 apparatus and the objects. Object exploration was considered when the nose of the mouse was  
174 oriented towards the object at a distance lower or equal than of 2 cm. The criterion was reached when  
175 the mouse has explored the objects for a total duration of 20 sec within a maximum of 10 min, and  
176 was returned to its respective home cage for 2h until the test session. During the test phase, a copy of  
177 the familiar object and a novel object were placed in the maze. Again, the mouse was allowed to freely  
178 explore the maze and the objects with the same criteria. The nature of the new/familiar objects (Lego®  
179 vs bottle) and their position (in left/right arm) were randomized. The time spent to reach the criterion  
180 was measured. The time of exploration of each object was manually recorded and used as an index of  
181 memory performances by comparison with the chance level (10 sec).

#### 182 **2.3.7. Social behavior**

183 Sociability and social recognition tests were assessed with an apparatus consisting of three  
184 interconnected compartments (27 × 18 × 21 cm), with two lateral side chambers (6.5 × 18 × 21 cm). In  
185 the side compartments, two cages (8.5 cm × 16 cm in size) were positioned to ensure visual, auditory  
186 and olfactory contact between mice. To assess sociability behavior, the tested mouse was individually  
187 placed in the central compartment for 10-min free exploration. A 45-day old C57BL/6J male mouse  
188 (stimulus mouse, unknown from the tested mouse) was randomly placed in one of the two lateral  
189 chambers in the little circle cage. After 10 min, the mouse was returned to its home cage. Time spent  
190 in each compartment (i.e. close, middle, or far from the stimulus mouse) was collected. A sociability  
191 index was calculated as follows: [(time spent close to the stimulus mouse) – (time spent in the empty  
192 compartment)]/ [(time spent in the stimulus mouse compartment) + (time spent in the empty  
193 compartment)] \*100.

**194 2.3.8. Prepulse inhibition (PPI)**

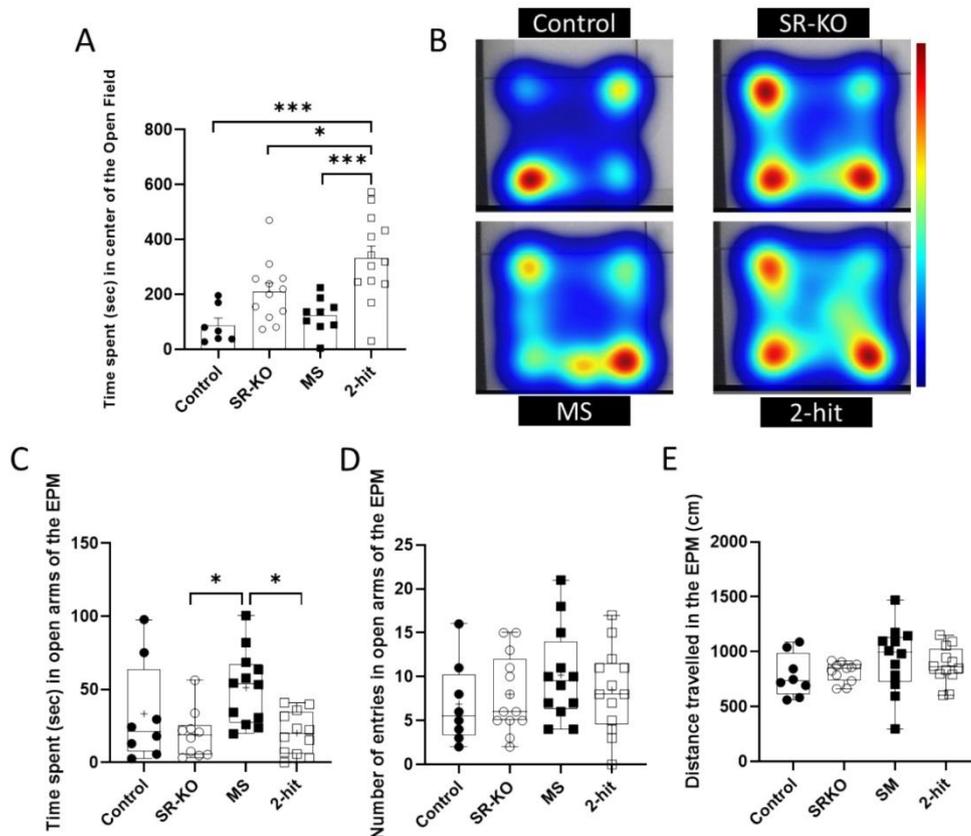
195 PPI was measured with a startle reflex device (Imetronic®, France) (Valsamis and Schmid, 2011). Each  
196 mouse was placed in a gray soundproof chamber, on a platform mounted on a weight-sensor and  
197 surrounded by a transparent cylinder. Weight variation was used to calculate the amplitude of the  
198 startle reflex. After 10 min of acclimatization to a background white noise (65 dB), 30 trials of pulse (85  
199 dB) were performed to obtain startle reflex measurements, habituate the animal to the test, and  
200 decrease intra-individual variability. During the test phase, the mouse being subjected to 5 types of  
201 trial with an inter-trial interval of 10 to 20 s: no pulse (silence), pulse only (110 dB, 40 ms), pre-pulse  
202 (76, 80 or 84 dB, 20 ms presented 50 ms before the pulse) + pulse (110 dB, 40 ms). Mice were  
203 videotaped throughout the protocol which lasted about 25 min. The percentage of prepulse inhibition  
204 was calculated for each intensity as follows:  $(1 - (\text{startle response magnitude of trials with prepulse} /$   
205  $\text{startle response magnitude of startle-only trials})) * 100$ .

**206 2.4. Statistics**

207 All analyses were performed with RStudio® software 4.2.0 and GraphPad® Prism 8.3. The normality of  
208 the data was checked using Shapiro-Wilk test, and the homogeneity of variances was assessed with  
209 Levene test. For data normally distributed, ANOVAs followed by post-hoc Tukey honestly significant  
210 difference (HSD) were performed. For data not normally distributed, ANOVA with permutation  
211 followed by post-hoc pairwise permutation test was used. Statistical analysis of PPI data was carried  
212 out using the nparLD package for non-parametric analysis of group and intensity effects. One-sample  
213 t-test (parametric data) or one-sample Wilcoxon test (non-parametric data) was used for comparison  
214 to a reference value. A significant difference was considered when  $p$  was below 0.05.

**215 3. Results****216 3.1. Experiment 1:****217 3.1.1. Anxiety-like behavior in OF and EPM**

218 The time spent in the center of the open field did not differ between control and SR-KO or MS groups.  
219 On the contrary, the combination of factors disorganized the OF behavior, as attested by a significant  
220 increase in the time spent in the center of the OF in 2-hit mice, which was higher than all the three  
221 other groups (about 377% that of controls and above the 159% and 269% for SR-KO and SM groups  
222 respectively; Fig 2A). For the EPM test, SR-KO, SM and 2-hit groups showed no difference in the time  
223 spent in the open arms compared to the control groups. The MS group showed a significant increase  
224 compared to the SR-KO and 2-hit groups but not with control group. Moreover, neither the number of  
225 entries in the open arms nor the distance travelled in the EPM differed between groups (Fig 2B and  
226 2C).

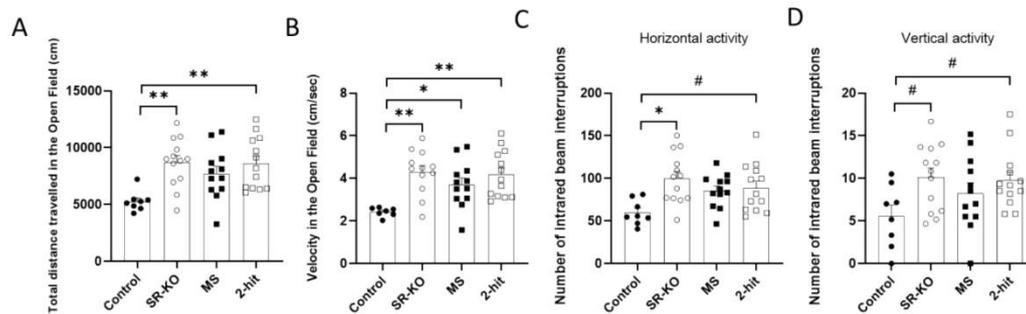


227

228 **Figure 2. The combination of SR-KO and maternal separation did not affect anxiety-like behavior.** (A) Total time spent in  
 229 the center of the open field over 30 min. Data are presented as mean + SEM. ANOVA test with post-hoc tukeyHSD: \* $<0.05$ ,  
 230 \*\*\* $<0.001$ . (B) Example of heatmaps mean for each group (n=2 for control group, n=3 for MS et SR-KO groups and n=4 for  
 231 2-hit group). The longer the mouse stays in the zone, more the color tends towards red. (C) Time spent in the open arms of  
 232 elevated-plus maze (EPM). (C) Total number of entries in the open arms of the EPM. (D) Total distance travelled for 5 min in  
 233 the EPM. Data presented are boxplots, with horizontal black lines as the median, “+” as mean and vertical black lines as  
 234 minimal and maximal. ANOVA with permutation and pairwise permutation test: \* $<0.05$ .

235 **3.1.2. Spontaneous activity**

236 The total distance travelled in the open field was significantly higher in SR-KO and 2-hit mice than in  
 237 controls (Fig 3A). Interestingly, all the three experimental groups showed a higher velocity (walking  
 238 speed) than the control group (Fig 3B). In the actimeter box, a significant increase in infrared beam  
 239 interruptions was also found in the SR-KO mice compared to control animals in both vertical (rearing)  
 240 and horizontal activity but only a tendency for the 2-hit mice (Fig 3C and 3D).



241

242 **Figure 3. Spontaneous locomotion is affected by SR deficits combined with maternal separation.** (A) Total distance travelled  
 243 in the open field for 30 min. (B) Mean of velocity in the open field for 30 min. Number of infrared beam interruptions for (C)  
 244 horizontal and (D) vertical activity. Data presented are individual values (squares and circles) and mean ± SEM. ANOVA test  
 245 with post-hoc tukeyHSD: #<0.1, \*<0.05, \*\*<0.01, \*\*\*<0.001.

246 **3.2. Experiment 2:**

247 **3.2.1. Spontaneous alternation**

248 Working memory was investigated in a Y-maze apparatus through spontaneous alternation. The  
 249 number of arm entries in the Y-maze was significantly higher in the 2-hit groups than in the control  
 250 groups. For the SR-KO and SM groups, the number of arms entries did not differ from control or 2-hit  
 251 groups (Fig 4A). Concerning memory performances, there was no difference in the alternation  
 252 percentage between groups. However, comparison to the chance value (50 %) showed that only the  
 253 2-hit group was not significantly above, indicating a specific deficit in spontaneous alternation induced  
 254 by the combination of risk factors (Fig 4B).

255 **3.2.2. Place recognition**

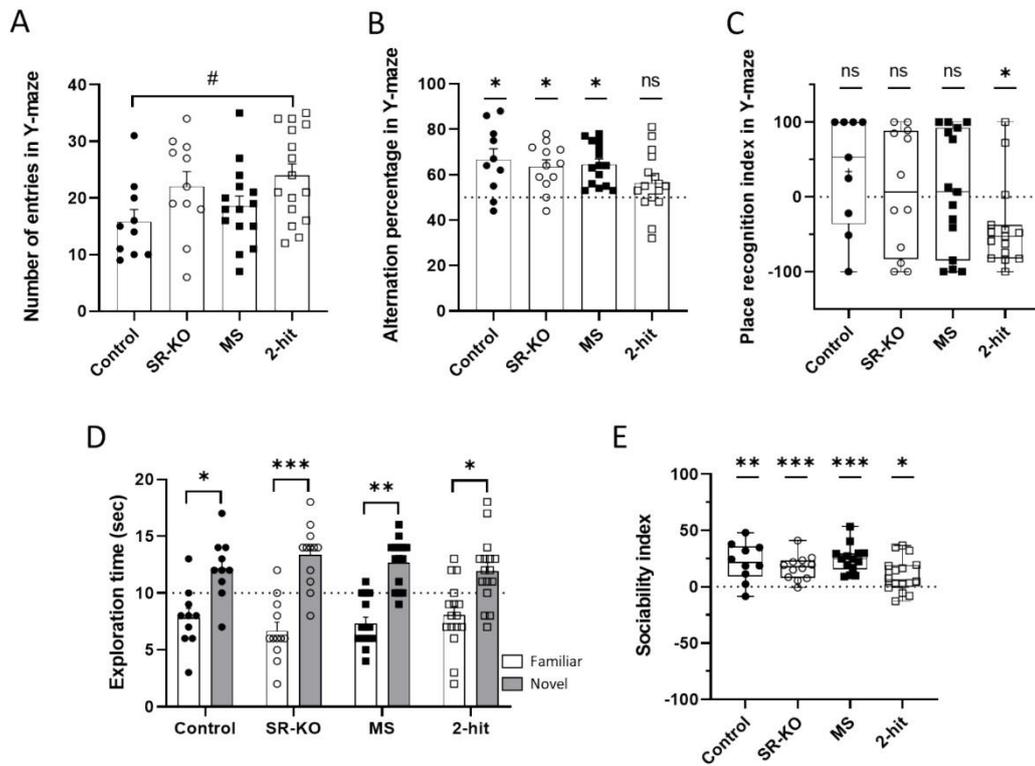
256 Spatial recognition memory was assessed through place recognition in Y-maze. Unexpectedly, control,  
 257 SR-KO and MS groups displayed a recognition index not different from 0, indicating no discrimination  
 258 of the novel arm. The recognition index of the 2-hit group was significantly below the reference value  
 259 of 0 suggesting that these mice had a preference to remain in the familiar arm instead of exploring the  
 260 new one (Fig 4C).

261 **3.2.3. Object recognition**

262 There was no difference in the exploration time of novel object between groups. All groups displayed  
 263 an exploration time of the novel object significantly above 10 and significantly different from the time  
 264 exploration of the familiar one, indicating that all groups explored the new object significantly more  
 265 than the familiar one (Fig 4D).

266 **3.2.4. Social behavior**

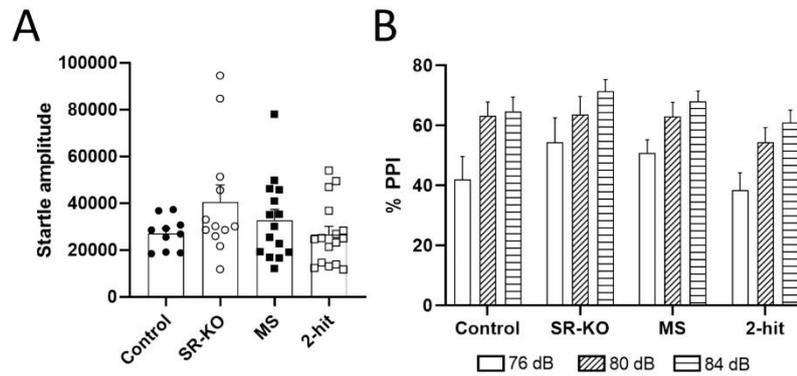
267 There was no difference between groups for the sociability index. All groups displayed a sociability  
 268 index above 0 indicating a preference for the new congener (Fig 4E).



269 **Figure 4. SR-KO combined with MS impairs working memory and recognition.** (A) Number of entries in the Y-maze. (B)  
 270 Alternation percentage in the Y-maze. (C) Place recognition index in Y-maze. (D) Exploration time of the familiar (white  
 271 histogram) and novel (gray histogram) object during the retention phase of an object recognition test. (E) Sociability index.  
 272 For A, B and D, data are presented as mean  $\pm$  SEM. For C and E data are boxplots, with horizontal black lines as medians and  
 273 vertical black lines as minimum and maximum. Intergroup comparisons between groups was performed using ANOVA test  
 274 with post-hoc tukeyHSD (#<0.1, \*< 0.05, \*\*< 0.01, \*\*\*<0.001) and comparison to a reference value was performed with a  
 275 one-sample t-test or one-sample Wilcoxon test: \*< 0.05; \*\*<0.01, \*\*\*<0.001.

277 **3.2.5. Prepulse inhibition (PPI)**

278 The amplitude of the startle reflex triggered by an 85dB stimulus was not different between groups,  
 279 (Fig 5A). Also, the percent of PPI was not affected and each group showed similar prepulse intensity  
 280 effect (Fig 5B). These results attest for an absence of deficits in sensorimotor gating of the acoustic  
 281 reflex in our experimental groups.



282  
 283 **Figure 5. Sensorimotor gating is not altered in SR-KO, MS and 2-hit groups.** (A) Startle reflex amplitude triggered by a single  
 284 85dB pulse, and (B) Prepulse inhibition (PPI) for increasing pre-pulse intensities (76 dB, 80 dB, 84 dB) in control, SR-KO, MS  
 285 and 2-hit groups. ANOVA with two factors (intensity x group) revealed an intensity effect for all groups (p value < 0.0001).  
 286 Data are presented as mean + SEM.

287 **4. Discussion**

288 This study aimed at characterizing the behavioral phenotype of a new 2-hit model of SCZ based on the  
 289 combination of two risk factors including a deletion of serine racemase gene (SR-KO; 1<sup>st</sup> hit) that  
 290 reproduces the SCZ-related glutamatergic hypofunction and a maternal separation (MS; 2<sup>nd</sup> hit)  
 291 mimicking an early environmental stress. The hypothesis was that the genetic deletion would favor the  
 292 vulnerability to the second risk factor (Guerrin et al., 2021). We showed here that the 2-hit mice  
 293 displayed an increase in locomotor activity in three experimental protocols (open field, actimeter, and  
 294 in Y-maze), as well as deficits in working memory (spontaneous alternation in the Y-maze) and in spatial  
 295 recognition memory (place recognition test). On the contrary, the sociability-related behavior and the  
 296 sensorimotor gating of 2-hit mice were not affected. This new animal model therefore presents a  
 297 partial schizophrenic-like phenotype with not only productive-like symptoms but also cognitive deficits  
 298 in contrast to most of the other 2-hit models actually available.

299 The genetic risk factor was selected to reproduce an altered activity of the NMDAR according to the  
 300 glutamate hypofunction hypothesis of SCZ (Uno and Coyle, 2019). The NMDAR plays an essential role  
 301 in cortical function but also in brain synaptic plasticity, underlying learning, memory, and other  
 302 cognitive functions (Morris et al., 1990; Bliss and Collingridge, 1993; Izquierdo and Medina, 1995). SR-  
 303 KO mice carry a deletion of the first exon of the SR gene inducing 90% decrease in the NMDA co-agonist  
 304 D-serine brain levels (Basu et al., 2009; Ploux et al., 2020). Current evidences indicate that these mice  
 305 display relatively subtle but significant behavioral abnormalities (Basu et al., 2009; Labrie et al., 2009;  
 306 Mori and Inoue, 2010; Sullivan et al., 2011; DeVito et al., 2011; Balu et al., 2013; Hagiwara et al., 2013;  
 307 Jacobi et al., 2019; Ploux et al., 2020; Aguilar et al., 2021; Torres Jimenez et al., 2021; Jami et al., 2021).  
 308 In addition to the behavioral abnormalities, a deficit in D-serine could also sensitize neuronal networks  
 309 activity to additional insults such as those generated by environmental changes. Although many  
 310 environmental risk factors have been pointed in SCZ, childhood trauma including physical or  
 311 psychological abuse and neglect (Larsson et al., 2013; Misdrahi, 2016; Okkels et al., 2017) have been  
 312 the most considered so far. It is reproduced in preclinical studies by a wide range of MS paradigms  
 313 (Nishi et al., 2013; Marco et al., 2015). Among them, our team has previously showed that applying MS

314 for 24h at PND 9 induced behavioral disabilities in mice (increased anxiety level and decreased social  
315 behavior (Bouet et al., 2011)) that could possibly implement the genetic-related defects in a 2-hit  
316 strategy.

317 The first major phenotype displayed by the 2-hit mice model is an increase in parameters related to  
318 locomotion (velocity and total distance, horizontal and vertical activities) which have been considered  
319 to mimic positive-like symptoms of SCZ (Van Den Buuse, 2010). The fact that the hyperlocomotion was  
320 found in the 2-hit and SR-KO (Basu et al., 2009) mice but not MS group attributes a major contribution  
321 of the genetically induced glutamate deficit. Indeed, this behavioral trait is often observed in  
322 pharmacologically induced SCZ models of dopaminergic hyperactivity but also glutamatergic  
323 hypofunction (Ogren and Goldstein, 1994; Gleason and Shannon, 1997; Carey et al., 1998; Enkel et al.,  
324 2013; Akillioğlu and Karadepe, 2021). For example, treatments with the noncompetitive NMDAR  
325 antagonists phencyclidine (PCP) or MK-801 induce hyperlocomotion (Jentsch et al., 1998; Enomoto et  
326 al., 2007; Kehrer, 2008). Besides, mice deleted for the NR1 subunit of the NMDAR also displays an  
327 increase in locomotor activity associated with stereotypies (Mohn et al., 1999; Halene et al., 2009).  
328 This behavioral signature is also found in mice with genetic deletion of the Disrupted in schizophrenia  
329 1 gene (DISC1) (Ibi et al., 2010; Ma et al., 2013; Lipina and Roder, 2014), one of the genes recognized  
330 to be associated with SCZ (Hennah et al., 2005), notably due to its implication in glutamatergic  
331 neurotransmission and in the stabilization of SR (Ma et al., 2013; Jacobi et al., 2019). The fact that the  
332 hyperlocomotion was not higher in 2-hit than in SR-KO mice suggests a minor, if any, contribution of  
333 the MS to this particular phenotype.

334 Alternately, other aspects of the locomotor activity more related to anxiety-like behavior, also suggest  
335 a specific signature in the 2-hit mice. For example, this group is the one which spent the longer time in  
336 the center of the OF (discrepancy with normal behavior), while the SR-KO and MS mice were not  
337 different from controls suggesting in that case a synergetic effect of the risk factors. However, this  
338 synergy remains to be established. Indeed, other animal models of glutamatergic hypofunction show  
339 elevation in anxiety levels has rather been observed after NMDAR blockade (McLean et al., 2010;  
340 Amani et al., 2013; Enkel et al., 2013; Akillioğlu and Karadepe, 2021). In contrast, increase in time spent  
341 in the center compared to the control has previously been reported in MS model (Ito et al., 2010;  
342 Lussier and Stevens, 2016; Shin and Lee, 2023). This kind of behavior may refer to a behavioral  
343 disinhibition process (or absence of inhibition). The behavioral disinhibition can be defined as a lack of  
344 control of motor skills, attention and concentration, and can be similar to people with impulsivity, lack  
345 of control, inappropriate euphoria or socially unacceptable behavior (Derryberry and Rothbart, 1997;  
346 Kochanska et al., 1997). It is often studied in several comorbid diseases with SCZ, as bipolarity,  
347 Attention Deficit Disorder with or without Hyperactivity (ADHD) or autism (Stevens et al., 2002;  
348 Hirshfeld-Becker et al., 2003; Kempf et al., 2005; Buckley et al., 2009; Arfaie et al., 2018; Popovic et al.,  
349 2019; Hossain et al., 2020; Chien et al., 2021). This type of behavior, to our knowledge, is not found in  
350 others 2-hit models, suggesting a characteristic behavior of our model (see Guerrin et al., 2021).

351 Working memory impairment is an important feature of cognitive deficits observed in schizophrenic  
352 patients (Conklin et al., 2005; Kebir and Tabbane, 2008; Timofeeva and Levin, 2011b). Paradoxically,  
353 this aspect has been rather neglected in preclinical studies using pharmacologically-induced SCZ-  
354 related deficits and only few studies using 2-hit models assessed this parameter (Choy et al., 2009;  
355 Schroeder et al., 2015; Guerrin et al., 2021). Indeed, another 2-hit model using 24h MS in PN9 rats  
356 combined with a treatment of 100 mg corticosterone (weeks 8 – 10) did not display synergistic effect

357 on working memory (Choy et al., 2008). On the contrary, a synergistic effect of 50 mg corticosterone  
358 treatment (weeks 6–9) combined with genetic deletion of *Reelin* has been reported (Schroeder et al.,  
359 2015). Interestingly, our results of the Y-maze test also revealed a synergy between the two risk  
360 factors. Indeed, when SR-KO or MS groups had similar performances than control mice, a deficit  
361 occurred when these two hits were combined. Once again, our new model confirms that interactions  
362 between the multifactorial insults are essential for the development of the SCZ-related phenotype and  
363 provide further evidence for a higher face validity compared to other available 2-hit models.

364 Sensorimotor gating abnormality which is observed in SCZ (San-Martin et al., 2020) is generally  
365 assessed in preclinical studies through the prepulse inhibition (PPI) deficits (Bullock et al., 1997;  
366 Swerdlow and Light, 2018). Herein, we did not observe any PPI changes whatever the experimental  
367 condition, that restrict the face validity of our 2-hit model. First, the absence of sensorimotor gating  
368 deficit in SR-KO mice (see also Basu et al., 2009) indicates that the NMDAR hypofunction generated by  
369 the D-serine depletion could not be sufficient per se to affect this behavioral trait in contrast to  
370 pharmacological treatments with the NMDAR antagonists PCP and MK-801 (Curzon and Decker, 1998;  
371 Bubeníková et al., 2005; Rasmussen et al., 2007). Secondly, we did not reproduce PPI disruption in the  
372 MS model compared to previous observations (see Ellenbroek et al., 1996, 1998; Ellenbroek and Cools,  
373 2002). At last, the absence of deficit in the 2-hit group suggests that a putative synergy between SR-  
374 KO and MS-related insults could not be sufficient enough to affect the sensorimotor gating of the mice.  
375 The presence of PPI alteration is also more heterogeneous in other 2-hit models (Boucher et al., 2007,  
376 2011; Haque et al., 2012; Lim et al., 2012; Zamberletti et al., 2012; Long et al., 2013; Lukasz et al., 2013;  
377 O’Leary et al., 2014; Howell and Pillai, 2016; Khan and Powell, 2018). For example, 2-hit model  
378 combining MK-801 treatment with social isolation displays additive deleterious effects on PPI meaning  
379 that the deficit found in 2-hit group is similar to those found in 1-hit groups (Lim et al., 2012).  
380 Interestingly, 2-hit models combining the deletion of *Nurr1* with social isolation or maternal immune  
381 activation present a synergistic effect on PPI deficit (Eells et al., 2006; Vuillermot et al., 2012). It has  
382 been suggested that the disturbance of dopaminergic system could be linked to the disruption of PPI  
383 (Ellenbroek et al., 1996, 1998; Ellenbroek and Cools, 2000). Thus, in our model, it may be necessary to  
384 verify the presence or absence of alterations in this neurotransmission system using  
385 electrophysiological or immunological studies.

386 Finally, our study does not reveal disruption in social behavior, neither in the 2-hit or 1-hit groups.  
387 Alteration of sociability has previously reported in mice submitted to MS (Bouet et al., 2011) whereas  
388 a defect in SR-KO mice is matter of controversy (Labrie et al., 2009; Matveeva et al., 2019; DeVito et  
389 al., 2011; Aguilar et al., 2021). Several explanations may account for these discrepancies (Nishi et al.,  
390 2013) including differences in protocols and/or strains. On the one hand, we used C57BL/6J  
391 background mice in the present study whereas NMRI mice were previously selected (Bouet et al., 2011)  
392 which could be more sensitive to MS (Own and Patel, 2013; Powell and Swerdlow, 2023). In the  
393 previous study, Bouet et al. (2011) used an approach-avoidance test instead. This test consists of  
394 placing the stimulus mouse behind a wall with holes that may decrease the contact between animals,  
395 lowering the social reward, and rendering the task more difficult. In two studies of multifactorial  
396 models, social deficits were observed only if MS was combined with other genetic and/or  
397 environmental factors (Sultana and Lee, 2020; Bouet et al., 2021). On the other hand, the parameter  
398 that we used is maybe not sufficient to highlight the social deficit in the model. Indeed, it is found that  
399 SR-KO mice displayed abnormal social investigation and vocalizations in the presence of a conspecific  
400 (Matveeva et al., 2019). We can assume that our analysis of social behavioral is limited and that the

401 assessment of more subtle changes, such as those in vocalization or sniffing, grooming and licking  
402 would be interesting to be done. One future direction would be to assess social behaviors directly in  
403 home cages, in order to highlight specific social behaviors in a familiar environment (Fairless et al.,  
404 2013; Kim et al., 2019).

405 To conclude, this model based on the “two-hit hypothesis” of SCZ (Davis et al., 2016; Guerrin et al.,  
406 2021) contributes to better understood the interactions between two risk factors of SCZ, a genetic risk  
407 factor (deletion of serine racemase) and an environmental risk factor (maternal separation). It is the  
408 first time these risk factors have been combined in an animal model and their interaction results in a  
409 partial phenotype of SCZ with the presence of both positive (hyperlocomotion) and cognitive  
410 dysfunction (working memory deficit, disinhibition). The presence of cognitive deficits in this model  
411 constitutes an attractive phenotype to develop new therapeutic drugs against these type of deficit in  
412 SCZ. The lack of deficits in other parameters may be due to the behavioral tests used. Our tests are  
413 brief (generally 5 to 10 min of testing) and need to place the animals in a new environment to which  
414 they must adapt. Thus, these tests are highly sensitive to external environmental conditions, which  
415 can disrupt the protocol (e.g. light, noise, smells or time of day). The “automated home cage  
416 monitoring” has been proposed to be more relevant to measure behavioral deficits and to test the  
417 efficacy of new treatments in preclinical research (Jhuang et al., 2010; Robinson and Riedel, 2014;  
418 Mingrone et al., 2020; Ho et al., 2023). The advantage of these cages is that they can monitor the  
419 behavior of rodents to be recorded directly in their home cage over a long period with minimal human  
420 contact (Bains et al., 2018; Ho et al., 2023). For example, this monitoring directly in the home cage has  
421 made it possible to detect subtle and early phenotypes in the mouse model of Huntington's disease  
422 compared to the control C57BL6/J mice (Bains et al., 2023). Thus, this could therefore be useful for  
423 assessing more specifically the phenotype of the 2-hit model of schizophrenia, which appears to display  
424 subtler, but richer, behavioral deficits than the mono-factorial models as well as to observe the effect  
425 of a treatment afterwards.

426 **Funding:** This work was supported by the University of Caen Normandy, Normandy Region, INSERM,  
427 and FHU A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P. The authors declare no conflict of interest.

428 **Declaration of competing interest:** The authors declare no conflict of interest

429 **Institutional Review Board Statement:** Experiments were performed in accordance with French and  
430 European Economic Community guidelines for the care and use of laboratory animals (2010/63/UE,  
431 project n°2021102816063575 v2, date of approval 2022/04/25).

432 **Acknowledgements:** This work was supported by the University of Caen Normandy, Normandy  
433 Region, INSERM, and FHU A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P. The authors declare no conflict of interest.

#### 434 References

- 435 Addington, J., Addington, D., and Maticka-Tyndale, E. (1991). Cognitive functioning and positive and  
436 negative symptoms in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 5, 123–134. doi: 10.1016/0920-  
437 9964(91)90039-T.
- 438 Aguilar, D. D., Radzik, L. K., Schiffino, F. L., Folorunso, O. O., Zielinski, M. R., Coyle, J. T., et al. (2021).  
439 Altered neural oscillations and behavior in a genetic mouse model of NMDA receptor  
440 hypofunction. *Sci. Rep.* 11, 9031. doi: 10.1038/s41598-021-88428-9.
- 441 Akillioglu, K., and Karadepe, M. (2021). Effect Neonatal Ketamine Treatment on Exploratory and

- 442 Anxiety-like Behaviours in Adulthood. *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 19, 93–103. doi:  
443 10.9758/cpn.2021.19.1.93.
- 444 Amani, M., Samadi, H., Doosti, M.-H., Azarfarin, M., Bakhtiari, A., Majidi-Zolbanin, N., et al. (2013).  
445 Neonatal NMDA receptor blockade alters anxiety- and depression-related behaviors in a sex-  
446 dependent manner in mice. *Neuropharmacology* 73, 87–97. doi:  
447 10.1016/j.neuropharm.2013.04.056.
- 448 Arfaie, A., Safikhanelou, S., Bakhshipour Roodsari, A., Farnam, A., and Shafiee-Kandjani, A. R. (2018).  
449 Assessment of Behavioral Approach and Behavioral Inhibition Systems in Mood Disorders. *Basic*  
450 *Clin. Neurosci.* 9, 261–268. doi: 10.32598/bcn.9.4.261.
- 451 Asselot, R., Simon-O'Brien, E., Lebourgeois, S., Nee, G., Delaunay, V., Duchatelle, P., et al. (2017).  
452 Time-dependent impact of glutamatergic modulators on the promnesiant effect of 5-HT6R  
453 blockade on mice recognition memory. *Pharmacol. Res.* 118, 111–118. doi:  
454 10.1016/j.phrs.2016.06.009.
- 455 Bains, R. S., Forrest, H., Sillito, R. R., Armstrong, J. D., Stewart, M., Nolan, P. M., et al. (2023).  
456 Longitudinal home-cage automated assessment of climbing behavior shows sexual dimorphism  
457 and aging-related decrease in C57BL/6J healthy mice and allows early detection of motor  
458 impairment in the N171-82Q mouse model of Huntington's disease. *Front. Behav. Neurosci.* 17,  
459 1148172. doi: 10.3389/fnbeh.2023.1148172.
- 460 Bains, R. S., Wells, S., Sillito, R. R., Armstrong, J. D., Cater, H. L., Banks, G., et al. (2018). Assessing  
461 mouse behaviour throughout the light/dark cycle using automated in-cage analysis tools. *J.*  
462 *Neurosci. Methods* 300, 37–47. doi: 10.1016/j.jneumeth.2017.04.014.
- 463 Balu, D. T., Li, Y., Puhl, M. D., Benneyworth, M. A., Basu, A. C., Takagi, S., et al. (2013). Multiple risk  
464 pathways for schizophrenia converge in serine racemase knockout mice, a mouse model of  
465 NMDA receptor hypofunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, E2400-9. doi:  
466 10.1073/pnas.1304308110.
- 467 Basu, A. C., Tsai, G. E., Ma, C. L., Ehmsen, J. T., Mustafa, A. K., Han, L., et al. (2009). Targeted  
468 disruption of serine racemase affects glutamatergic neurotransmission and behavior. *Mol.*  
469 *Psychiatry* 14, 719–727. doi: 10.1038/mp.2008.130.
- 470 Bazin, M. A., Kihel, L. El, Boulouard, M., Bouët, V., and Rault, S. (2009). The effects of DHEA, 3 $\beta$ -  
471 hydroxy-5 $\alpha$ -androstane-6,17-dione, and 7-amino-DHEA analogues on short term and long term  
472 memory in the mouse. *Steroids* 74, 931–937. doi: 10.1016/j.steroids.2009.06.010.
- 473 Bliss, T. V. P., and Collingridge, G. L. (1993). A synaptic model of memory: long-term potentiation in  
474 the hippocampus. *Nature* 361, 31–39. doi: 10.1038/361031a0.
- 475 Boucher, A. A., Arnold, J. C., Duffy, L., Schofield, P. R., Micheau, J., and Karl, T. (2007). Heterozygous  
476 neuregulin 1 mice are more sensitive to the behavioural effects of  $\Delta$ 9-tetrahydrocannabinol.  
477 *Psychopharmacology (Berl)*. 192, 325–336. doi: 10.1007/s00213-007-0721-3.
- 478 Boucher, A. A., Hunt, G. E., Micheau, J., Huang, X., McGregor, I. S., Karl, T., et al. (2011). The  
479 schizophrenia susceptibility gene neuregulin 1 modulates tolerance to the effects of  
480 cannabinoids. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 14, 631–643. doi: 10.1017/S146114571000091X.
- 481 Bouet, V., Lecrux, B., Tran, G., and Freret, T. (2011). Effect of pre- versus post-weaning environmental  
482 disturbances on social behaviour in mice. *Neurosci. Lett.* 488, 221–224. doi:  
483 10.1016/j.neulet.2010.11.033.
- 484 Bouet, V., Percelay, S., Leroux, E., Diarra, B., Léger, M., Delcroix, N., et al. (2021). A new 3-hit mouse  
485 model of schizophrenia built on genetic, early and late factors. *Schizophr. Res.* 228, 519–528.

- 486 doi: 10.1016/j.schres.2020.11.043.
- 487 Brown, A. S. (2011). The environment and susceptibility to schizophrenia. *Prog. Neurobiol.* 93, 23–58.  
488 doi: 10.1016/j.pneurobio.2010.09.003.
- 489 Bubeníková, V., Votava, M., Horáček, J., Páleníček, T., and Dockery, C. (2005). The effect of zotepine,  
490 risperidone, clozapine and olanzapine on MK-801-disrupted sensorimotor gating. *Pharmacol.*  
491 *Biochem. Behav.* 80, 591–6. doi: 10.1016/j.pbb.2005.01.012.
- 492 Buckley, P. F., Miller, B. J., Lehrer, D. S., and Castle, D. J. (2009). Psychiatric comorbidities and  
493 schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 35, 383–402. doi: 10.1093/schbul/sbn135.
- 494 Bullock, A. E., Slobe, B. S., Vázquez, V., and Collins, A. C. (1997). Inbred mouse strains differ in the  
495 regulation of startle and prepulse inhibition of the startle response. *Behav. Neurosci.* 111,  
496 1353–1360. doi: 10.1037/0735-7044.111.6.1353.
- 497 Carey, R. J., Dai, H., and Gui, J. (1998). Effects of dizocilpine (MK-801) on motor activity and memory.  
498 *Psychopharmacology (Berl)*. 137, 241–6. doi: 10.1007/s002130050616.
- 499 Čater, M., and Majdič, G. (2022). How early maternal deprivation changes the brain and behavior?  
500 *Eur. J. Neurosci.* 55, 2058–2075. doi: 10.1111/ejn.15238.
- 501 Chien, Y.-L., Wu, C.-S., and Tsai, H.-J. (2021). The Comorbidity of Schizophrenia Spectrum and Mood  
502 Disorders in Autism Spectrum Disorder. *Autism Res.* 14, 571–581. doi: 10.1002/aur.2451.
- 503 Choy, K. H. C., de Visser, Y., Nichols, N. R., and van den Buuse, M. (2008). Combined neonatal stress  
504 and young-adult glucocorticoid stimulation in rats reduce BDNF expression in hippocampus:  
505 effects on learning and memory. *Hippocampus* 18, 655–67. doi: 10.1002/hipo.20425.
- 506 Choy, K. H. C., de Visser, Y. P., and van den Buuse, M. (2009). The effect of “two hit” neonatal and  
507 young-adult stress on dopaminergic modulation of prepulse inhibition and dopamine receptor  
508 density. *Br. J. Pharmacol.* 156, 388–96. doi: 10.1111/j.1476-5381.2008.00008.x.
- 509 Conklin, H. M., Curtis, C. E., Calkins, M. E., and Iacono, W. G. (2005). Working memory functioning in  
510 schizophrenia patients and their first-degree relatives: Cognitive functioning shedding light on  
511 etiology. *Neuropsychologia* 43, 930–942. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2004.09.013.
- 512 Correll, C. U., and Howes, O. D. (2021). Treatment-Resistant Schizophrenia: Definition, Predictors,  
513 and Therapy Options. *J. Clin. Psychiatry* 82. doi: 10.4088/JCP.MY20096AH1C.
- 514 Curzon, P., and Decker, M. W. (1998). Effects of phencyclidine (PCP) and (+)MK-801 on sensorimotor  
515 gating in CD-1 mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 22, 129–46. doi:  
516 10.1016/s0278-5846(97)00184-x.
- 517 Davis, J., Eyre, H., Jacka, F. N., Dodd, S., Dean, O., McEwen, S., et al. (2016). A review of vulnerability  
518 and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 65, 185–  
519 194. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.017.
- 520 Dellu, F., Contarino, A., Simon, H., Koob, G. F., and Gold, L. H. (2000). Genetic differences in response  
521 to novelty and spatial memory using a two-trial recognition task in mice. *Neurobiol. Learn.*  
522 *Mem.* 73, 31–48. doi: 10.1006/nlme.1999.3919.
- 523 Derryberry, D., and Rothbart, M. K. (1997). Reactive and effortful processes in the organization of  
524 temperament. *Dev. Psychopathol.* 9, 633–52. doi: 10.1017/s0954579497001375.
- 525 DeVito, L. M., Balu, D. T., Kanter, B. R., Lykken, C., Basu, A. C., Coyle, J. T., et al. (2011). Serine  
526 racemase deletion disrupts memory for order and alters cortical dendritic morphology. *Genes.*  
527 *Brain. Behav.* 10, 210–22. doi: 10.1111/j.1601-183X.2010.00656.x.

- 528 Eells, J. B., Mislser, J. A., and Nikodem, V. M. (2006). Early postnatal isolation reduces dopamine levels,  
529 elevates dopamine turnover and specifically disrupts prepulse inhibition in Nurr1-null  
530 heterozygous mice. *Neuroscience* 140, 1117–1126. doi: 10.1016/j.neuroscience.2005.12.065.
- 531 Ellenbroek, B. ., Budde, S., and Cools, A. . (1996). Prepulse inhibition and latent inhibition: the role of  
532 dopamine in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience* 75, 535–542. doi: 10.1016/0306-  
533 4522(96)00307-7.
- 534 Ellenbroek, B. A., and Cools, A. R. (2000). Animal models for the negative symptoms of schizophrenia.  
535 *Behav. Pharmacol.* 11, 223–233.
- 536 Ellenbroek, B. A., and Cools, A. R. (2002). Early maternal deprivation and prepulse inhibition: the role  
537 of the postdeprivation environment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73, 177–184. doi:  
538 10.1016/s0091-3057(02)00794-3.
- 539 Ellenbroek, B. A., and Riva, M. A. (2003). Early maternal deprivation as an animal model for  
540 schizophrenia. *Clin. Neurosci. Res.* 3, 297–302. doi: 10.1016/S1566-2772(03)00090-2.
- 541 Ellenbroek, B. A., van den Kroonenberg, P. T., and Cools, A. R. (1998). The effects of an early stressful  
542 life event on sensorimotor gating in adult rats. *Schizophr. Res.* 30, 251–260. doi: 10.1016/s0920-  
543 9964(97)00149-7.
- 544 Enkel, T., Thomas, M., and Bartsch, D. (2013). Differential effects of subchronic phencyclidine on  
545 anxiety in the light-enhanced startle-, light/dark exploration- and open field tests. *Behav. Brain*  
546 *Res.* 243, 61–5. doi: 10.1016/j.bbr.2012.12.060.
- 547 Enomoto, T., Noda, Y., and Nabeshima, T. (2007). Phencyclidine and genetic animal models of  
548 schizophrenia developed in relation to the glutamate hypothesis. *Methods Find. Exp. Clin.*  
549 *Pharmacol.* 29, 291. doi: 10.1358/mf.2007.29.4.1075358.
- 550 Fabricius, K., Wörtwein, G., and Pakkenberg, B. (2008). The impact of maternal separation on adult  
551 mouse behaviour and on the total neuron number in the mouse hippocampus. *Brain Struct.*  
552 *Funct.* 212, 403–416. doi: 10.1007/s00429-007-0169-6.
- 553 Fairless, A. H., Katz, J. M., Vijayvargiya, N., Dow, H. C., Kreibich, A. S., Berrettini, W. H., et al. (2013).  
554 Development of home cage social behaviors in BALB/cJ vs. C57BL/6J mice. *Behav. Brain Res.*  
555 237, 338–47. doi: 10.1016/j.bbr.2012.08.051.
- 556 Gleason, S. D., and Shannon, H. E. (1997). Blockade of phencyclidine-induced hyperlocomotion by  
557 olanzapine, clozapine and serotonin receptor subtype selective antagonists in mice.  
558 *Psychopharmacology (Berl)*. 129, 79–84. doi: 10.1007/s002130050165.
- 559 Goltsov, A. Y., Loseva, J. G., Andreeva, T. V., Grigorenko, A. P., Abramova, L. I., Kaleda, V. G., et al.  
560 (2006). Polymorphism in the 5'-promoter region of serine racemase gene in schizophrenia. *Mol.*  
561 *Psychiatry* 11, 325–326. doi: 10.1038/sj.mp.4001801.
- 562 Guerrin, C. G. J., Doorduyn, J., Sommer, I. E., and de Vries, E. F. J. (2021). The dual hit hypothesis of  
563 schizophrenia: Evidence from animal models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 131, 1150–1168. doi:  
564 10.1016/j.neubiorev.2021.10.025.
- 565 Hagiwara, H., Iyo, M., and Hashimoto, K. (2013). Neonatal disruption of serine racemase causes  
566 schizophrenia-like behavioral abnormalities in adulthood: clinical rescue by d-serine. *PLoS One*  
567 8, e62438. doi: 10.1371/journal.pone.0062438.
- 568 Halene, T. B., Ehrlichman, R. S., Liang, Y., Christian, E. P., Jonak, G. J., Gur, T. L., et al. (2009).  
569 Assessment of NMDA receptor NR1 subunit hypofunction in mice as a model for schizophrenia.  
570 *Genes, Brain Behav.* 8, 661–675. doi: 10.1111/j.1601-183X.2009.00504.x.

- 571 Haque, F. N., Lipina, T. V., Roder, J. C., and Wong, A. H. C. (2012). Social defeat interacts with Disc1  
572 mutations in the mouse to affect behavior. *Behav. Brain Res.* 233, 337–344. doi:  
573 10.1016/j.bbr.2012.05.037.
- 574 Hennah, W., Thomson, P., Peltonen, L., and Porteous, D. (2005). Genes and Schizophrenia: Beyond  
575 Schizophrenia: The Role of DISC1 in Major Mental Illness. *Schizophr. Bull.* 32, 409–416. doi:  
576 10.1093/schbul/sbj079.
- 577 Hirshfeld-Becker, D. R., Biederman, J., Calltharp, S., Rosenbaum, E. D., Faraone, S. V., and Rosenbaum,  
578 J. F. (2003). Behavioral inhibition and disinhibition as hypothesized precursors to  
579 psychopathology: implications for pediatric bipolar disorder. *Biol. Psychiatry* 53, 985–99. doi:  
580 10.1016/s0006-3223(03)00316-0.
- 581 Ho, H., Kejzar, N., Sasaguri, H., Saito, T., Saido, T. C., De Strooper, B., et al. (2023). A fully automated  
582 home cage for long-term continuous phenotyping of mouse cognition and behavior. *Cell reports*  
583 *methods* 3, 100532. doi: 10.1016/j.crmeth.2023.100532.
- 584 Hossain, M. M., Khan, N., Sultana, A., Ma, P., McKyer, E. L. J., Ahmed, H. U., et al. (2020). Prevalence  
585 of comorbid psychiatric disorders among people with autism spectrum disorder: An umbrella  
586 review of systematic reviews and meta-analyses. *Psychiatry Res.* 287, 112922. doi:  
587 10.1016/j.psychres.2020.112922.
- 588 Howell, K. R., and Pillai, A. (2016). Long-Term Effects of Prenatal Hypoxia on Schizophrenia-Like  
589 Phenotype in Heterozygous Reeler Mice. *Mol. Neurobiol.* 53, 3267–3276. doi: 10.1007/s12035-  
590 015-9265-4.
- 591 Ibi, D., Nagai, T., Koike, H., Kitahara, Y., Mizoguchi, H., Niwa, M., et al. (2010). Combined effect of  
592 neonatal immune activation and mutant DISC1 on phenotypic changes in adulthood. *Behav.*  
593 *Brain Res.* 206, 32–37. doi: 10.1016/j.bbr.2009.08.027.
- 594 Ito, H., Nagano, M., Suzuki, H., and Murakoshi, T. (2010). Chronic stress enhances synaptic plasticity  
595 due to disinhibition in the anterior cingulate cortex and induces hyper-locomotion in mice.  
596 *Neuropharmacology* 58, 746–757. doi: 10.1016/j.neuropharm.2009.12.011.
- 597 Izquierdo, I., and Medina, J. H. (1995). Correlation between the pharmacology of long-term  
598 potentiation and the pharmacology of memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* 63, 19–32. doi:  
599 10.1006/nlme.1995.1002.
- 600 Jacobi, A. A., Halawani, S., Lynch, D. R., and Lin, H. (2019). Neuronal serine racemase associates with  
601 Disrupted-In-Schizophrenia-1 and DISC1 agglomerates: Implications for schizophrenia. *Neurosci.*  
602 *Lett.* 692, 107–114. doi: 10.1016/j.neulet.2018.10.055.
- 603 Jami, S. A., Cameron, S., Wong, J. M., Daly, E. R., McAllister, A. K., and Gray, J. A. (2021). Increased  
604 excitation-inhibition balance and loss of gabaergic synapses in the serine racemase knockout  
605 model of nmda receptor hypofunction. *J. Neurophysiol.* 126, 11–27. doi:  
606 10.1152/jn.00661.2020.
- 607 Jentsch, J. D., Dazzi, L., Chhatwal, J. P., Verrico, C. D., and Roth, R. H. (1998). Reduced prefrontal  
608 cortical dopamine, but not acetylcholine, release in vivo after repeated, intermittent  
609 phencyclidine administration to rats. *Neurosci. Lett.* 258, 175–178. doi: 10.1016/S0304-  
610 3940(98)00879-9.
- 611 Jhuang, H., Garrote, E., Mutch, J., Yu, X., Khilnani, V., Poggio, T., et al. (2010). Automated home-cage  
612 behavioural phenotyping of mice. *Nat. Commun.* 1, 68. doi: 10.1038/ncomms1064.
- 613 Jones, C., Watson, D., and Fone, K. (2011). Animal models of schizophrenia. *Br. J. Pharmacol.* 164,  
614 1162–1194. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x.

- 615 Kebir, O., and Tabbane, K. (2008). La mémoire de travail dans la schizophrénie : revue de la  
616 littérature. *Encephale*. 34, 289–298. doi: 10.1016/j.encep.2006.12.008.
- 617 Kehrer, C. (2008). Altered excitatory-inhibitory balance in the NMDA-hypofunction model of  
618 schizophrenia. *Front. Mol. Neurosci.* 1. doi: 10.3389/neuro.02.006.2008.
- 619 Kempf, L., Hussain, N., and Potash, J. B. (2005). Mood disorder with psychotic features,  
620 schizoaffective disorder, and schizophrenia with mood features: trouble at the borders. *Int. Rev.*  
621 *Psychiatry* 17, 9–19. doi: 10.1080/09540260500064959.
- 622 Khan, A., and Powell, S. B. (2018). Sensorimotor gating deficits in “two-hit” models of schizophrenia  
623 risk factors. *Schizophr. Res.* 198, 68–83. doi: 10.1016/j.schres.2017.10.009.
- 624 Kim, D. G., Gonzales, E. L., Kim, S., Kim, Y., Adil, K. J., Jeon, S. J., et al. (2019). Social Interaction Test in  
625 Home Cage as a Novel and Ethological Measure of Social Behavior in Mice. *Exp. Neurobiol.* 28,  
626 247–260. doi: 10.5607/en.2019.28.2.247.
- 627 Kochanska, G., Murray, K., and Coy, K. C. (1997). Inhibitory control as a contributor to conscience in  
628 childhood: from toddler to early school age. *Child Dev.* 68, 263–77. Available at:  
629 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9180001>.
- 630 Labrie, V., Fukumura, R., Rastogi, A., Fick, L. J., Wang, W., Boutros, P. C., et al. (2009). Serine  
631 racemase is associated with schizophrenia susceptibility in humans and in a mouse model. *Hum.*  
632 *Mol. Genet.* 18, 3227–3243. doi: 10.1093/hmg/ddp261.
- 633 Larsson, S., Andreassen, O. A., Aas, M., Røssberg, J. I., Mork, E., Steen, N. E., et al. (2013). High  
634 prevalence of childhood trauma in patients with schizophrenia spectrum and affective disorder.  
635 *Compr. Psychiatry* 54, 123–7. doi: 10.1016/j.comppsy.2012.06.009.
- 636 Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., et al. (2013).  
637 Object recognition test in mice. *Nat. Protoc.* 8, 2531–2537. doi: 10.1038/nprot.2013.155.
- 638 Lim, A. L., Taylor, D. A., and Malone, D. T. (2012). A two-hit model: behavioural investigation of the  
639 effect of combined neonatal MK-801 administration and isolation rearing in the rat. *J.*  
640 *Psychopharmacol.* 26, 1252–1264. doi: 10.1177/0269881111430751.
- 641 Lipina, T. V., and Roder, J. C. (2014). Disrupted-In-Schizophrenia-1 (DISC1) interactome and mental  
642 disorders: Impact of mouse models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 45, 271–294. doi:  
643 10.1016/j.neubiorev.2014.07.001.
- 644 Long, L. E., Chesworth, R., Huang, X.-F., McGregor, I. S., Arnold, J. C., and Karl, T. (2013).  
645 Transmembrane domain Nrg1 mutant mice show altered susceptibility to the neurobehavioural  
646 actions of repeated THC exposure in adolescence. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 16, 163–75.  
647 doi: 10.1017/S1461145711001854.
- 648 Lukasz, B., O’Sullivan, N. C., Loscher, J. S., Pickering, M., Regan, C. M., and Murphy, K. J. (2013).  
649 Peripubertal viral-like challenge and social isolation mediate overlapping but distinct effects on  
650 behaviour and brain interferon regulatory factor 7 expression in the adult Wistar rat. *Brain.*  
651 *Behav. Immun.* 27, 71–9. doi: 10.1016/j.bbi.2012.09.011.
- 652 Lussier, S. J., and Stevens, H. E. (2016). Delays in GABAergic interneuron development and behavioral  
653 inhibition after prenatal stress. *Dev. Neurobiol.* 76, 1078–1091. doi: 10.1002/dneu.22376.
- 654 Ma, T. M., Abazyan, S., Abazyan, B., Nomura, J., Yang, C., Seshadri, S., et al. (2013). Pathogenic  
655 disruption of DISC1-serine racemase binding elicits schizophrenia-like behavior via D-serine  
656 depletion. *Mol. Psychiatry* 18, 557–567. doi: 10.1038/mp.2012.97.
- 657 Marco, E. M., Llorente, R., López-gallardo, M., Mela, V., Llorente-berzal, Á., Prada, C., et al. (2015).

- 658 The maternal deprivation animal model revisited. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 51, 151–163. doi:  
659 10.1016/j.neubiorev.2015.01.015.
- 660 Matveeva, T. M., Pisansky, M. T., Young, A., Miller, R. F., and Gewirtz, J. C. (2019). Sociality deficits in  
661 serine racemase knockout mice. *Brain Behav.* 9, 1–6. doi: 10.1002/brb3.1383.
- 662 McLean, S. L., Woolley, M. L., and Neill, J. C. (2010). Effects of subchronic phencyclidine on behaviour  
663 of female rats on the elevated plus maze and open field. *J. Psychopharmacol.* 24, 787–90. doi:  
664 10.1177/0269881109103112.
- 665 Millan, M. J., Andrieux, A., Bartzokis, G., Cadenhead, K., Dazzan, P., Fusar-Poli, P., et al. (2016).  
666 Altering the course of schizophrenia: Progress and perspectives. *Nat. Rev. Drug Discov.* 15, 485–  
667 515. doi: 10.1038/nrd.2016.28.
- 668 Mingrone, A., Kaffman, A., and Kaffman, A. (2020). The Promise of Automated Home-Cage  
669 Monitoring in Improving Translational Utility of Psychiatric Research in Rodents. *Front.*  
670 *Neurosci.* 14, 618593. doi: 10.3389/fnins.2020.618593.
- 671 Misdrahi, D. (2016). Expériences traumatiques et état de stress post traumatique dans la  
672 schizophrénie. *Encephale.* 42, S7–S12. doi: 10.1016/S0013-7006(16)30216-0.
- 673 Mohn, A. R., Gainetdinov, R. R., Caron, M. G., and Koller, B. H. (1999). Mice with reduced NMDA  
674 receptor expression display behaviors related to schizophrenia. *Cell* 98, 427–436. doi:  
675 10.1016/S0092-8674(00)81972-8.
- 676 Moran, P., Stokes, J., Marr, J., Bock, G., Desbonnet, L., Waddington, J., et al. (2016). Gene ×  
677 Environment Interactions in Schizophrenia: Evidence from Genetic Mouse Models. *Neural Plast.*  
678 2016, 2173748. doi: 10.1155/2016/2173748.
- 679 Mori, H., and Inoue, R. (2010). Serine Racemase Knockout Mice. *Chem. Biodivers.* 7, 1573–1578. doi:  
680 10.1002/cbdv.200900293.
- 681 Morita, Y., Ujike, H., Tanaka, Y., Otani, K., Kishimoto, M., Morio, A., et al. (2007). A Genetic Variant of  
682 the Serine Racemase Gene Is Associated with Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 61, 1200–1203.  
683 doi: 10.1016/j.biopsych.2006.07.025.
- 684 Morris, R. G., Davis, S., and Butcher, S. P. (1990). Hippocampal synaptic plasticity and NMDA  
685 receptors: a role in information storage? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 329, 187–204.  
686 doi: 10.1098/rstb.1990.0164.
- 687 Murthy, S., and Gould, E. (2018). Early life stress in rodents: Animal models of illness or resilience?  
688 *Front. Behav. Neurosci.* 12, 1–5. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00157.
- 689 Nakazawa, K., and Sapkota, K. (2020). The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia.  
690 *Pharmacol. Ther.* 205, 107426. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107426.
- 691 Nishi, M., Horii-Hayashi, N., Sasagawa, T., and Matsunaga, W. (2013). Effects of early life stress on  
692 brain activity: Implications from maternal separation model in rodents. *Gen. Comp. Endocrinol.*  
693 181, 306–309. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.09.024.
- 694 Nucifora, F. C., Woznica, E., Lee, B. J., Cascella, N., and Sawa, A. (2019). Treatment resistant  
695 schizophrenia: Clinical, biological, and therapeutic perspectives. *Neurobiol. Dis.* 131, 104257.  
696 doi: 10.1016/j.nbd.2018.08.016.
- 697 O’Leary, C., Desbonnet, L., Clarke, N., Petit, E., Tighe, O., Lai, D., et al. (2014). Phenotypic effects of  
698 maternal immune activation and early postnatal milieu in mice mutant for the schizophrenia  
699 risk gene neuregulin-1. *Neuroscience* 277, 294–305. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.06.028.

- 700 Ogren, S. O., and Goldstein, M. (1994). Phencyclidine- and dizocilpine-induced hyperlocomotion are  
701 differentially mediated. *Neuropsychopharmacology* 11, 167–77. doi: 10.1038/sj.npp.1380103.
- 702 Okkels, N., Trabjerg, B., Arendt, M., and Pedersen, C. B. (2017). Traumatic Stress Disorders and Risk  
703 of Subsequent Schizophrenia Spectrum Disorder or Bipolar Disorder: A Nationwide Cohort  
704 Study. *Schizophr. Bull.* 43, 180–186. doi: 10.1093/schbul/sbw082.
- 705 Own, L. S., and Patel, P. D. (2013). Maternal behavior and offspring resiliency to maternal separation  
706 in c57bl/6 mice. *Horm. Behav.* 63, 411–417. doi: 10.1016/j.yhbeh.2012.11.010.
- 707 Ploux, E., Bouet, V., Radzishevsky, I., Wolosker, H., Freret, T., and Billard, J. M. (2020). Serine  
708 racemase deletion affects the excitatory/inhibitory balance of the hippocampal CA1 network.  
709 *Int. J. Mol. Sci.* 21, 1–13. doi: 10.3390/ijms21249447.
- 710 Popovic, D., Schmitt, A., Kaurani, L., Senner, F., Papiol, S., Malchow, B., et al. (2019). Childhood  
711 Trauma in Schizophrenia: Current Findings and Research Perspectives. *Front. Neurosci.* 13, 1–  
712 14. doi: 10.3389/fnins.2019.00274.
- 713 Powell, S. B., and Swerdlow, N. R. (2023). The Relevance of Animal Models of Social Isolation and  
714 Social Motivation for Understanding Schizophrenia: Review and Future Directions. *Schizophr.*  
715 *Bull.* doi: 10.1093/schbul/sbad098.
- 716 Prut, L., and Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on  
717 anxiety-like behaviors: A review. *Eur. J. Pharmacol.* 463, 3–33. doi: 10.1016/S0014-  
718 2999(03)01272-X.
- 719 Rasmussen, B. A., O’Neil, J., Manaye, K. F., Perry, D. C., and Tizabi, Y. (2007). Long-term effects of  
720 developmental PCP administration on sensorimotor gating in male and female rats.  
721 *Psychopharmacology (Berl)*. 190, 43–9. doi: 10.1007/s00213-006-0584-z.
- 722 Rees, E., and Kirov, G. (2021). Copy number variation and neuropsychiatric illness. *Curr. Opin. Genet.*  
723 *Dev.* 68, 57–63. doi: 10.1016/j.gde.2021.02.014.
- 724 Ripke, S., Neale, B. M., Corvin, A., Walters, J. T. R., Farh, K. H., Holmans, P. A., et al. (2014). Biological  
725 insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511, 421–427. doi:  
726 10.1038/nature13595.
- 727 Robinson, L., and Riedel, G. (2014). Comparison of automated home-cage monitoring systems:  
728 emphasis on feeding behaviour, activity and spatial learning following pharmacological  
729 interventions. *J. Neurosci. Methods* 234, 13–25. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.06.013.
- 730 Ruby, E., Polito, S., McMahon, K., Gorovitz, M., Corcoran, C., and Malaspina, D. (2014). Pathways  
731 Associating Childhood Trauma to the Neurobiology of Schizophrenia. *Front. Psychol. Behav. Sci.*  
732 3, 1–17. doi: 25419548.
- 733 Ruby, E., Rothman, K., Corcoran, C., Goetz, R. R., and Malaspina, D. (2017). Influence of early trauma  
734 on features of schizophrenia. *Early Interv. Psychiatry* 11, 322–333. doi: 10.1111/eip.12239.
- 735 San-Martin, R., Castro, L. A., Menezes, P. R., Fraga, F. J., Simões, P. W., and Salum, C. (2020). Meta-  
736 Analysis of Sensorimotor Gating Deficits in Patients With Schizophrenia Evaluated by Prepulse  
737 Inhibition Test. *Schizophr. Bull.* 46, 1482–1497. doi: 10.1093/schbul/sbaa059.
- 738 Schroeder, A., Buret, L., Hill, R. A., and van den Buuse, M. (2015). Gene-environment interaction of  
739 reelin and stress in cognitive behaviours in mice: Implications for schizophrenia. *Behav. Brain*  
740 *Res.* 287, 304–14. doi: 10.1016/j.bbr.2015.03.063.
- 741 Shin, S., and Lee, S. (2023). The impact of environmental factors during maternal separation on the  
742 behaviors of adolescent C57BL/6 mice. *Front. Mol. Neurosci.* 16, 1147951. doi:

- 743 10.3389/fnmol.2023.1147951.
- 744 Sotiropoulos, M. G., Pouligiannopoulou, E., Delis, F., Dalla, C., Antoniou, K., and Kokras, N. (2021).  
745 Innovative screening models for the discovery of new schizophrenia drug therapies: an  
746 integrated approach. *Expert Opin. Drug Discov.* 16, 791–806. doi:  
747 10.1080/17460441.2021.1877657.
- 748 Stevens, J., Quittner, A. L., Zuckerman, J. B., and Moore, S. (2002). Behavioral inhibition, self-  
749 regulation of motivation, and working memory in children with attention deficit hyperactivity  
750 disorder. *Dev. Neuropsychol.* 21, 117–39. doi: 10.1207/S15326942DN2102\_1.
- 751 Stilo, S. A., and Murray, R. M. (2019). Non-Genetic Factors in Schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rep.* 21,  
752 100. doi: 10.1007/s11920-019-1091-3.
- 753 Sullivan, S. J., Esguerra, M., Wickham, R. J., Romero, G. E., Coyle, J. T., and Miller, R. F. (2011). Serine  
754 racemase deletion abolishes light-evoked NMDA receptor currents in retinal ganglion cells. *J.*  
755 *Physiol.* 589, 5997–6006. doi: 10.1113/jphysiol.2011.217059.
- 756 Sultana, R., and Lee, C. C. (2020). Expression of Behavioral Phenotypes in Genetic and Environmental  
757 Mouse Models of Schizophrenia. *Front. Behav. Neurosci.* 14, 1–12. doi:  
758 10.3389/fnbeh.2020.00029.
- 759 Swerdlow, N. R., and Light, G. A. (2018). Sensorimotor gating deficits in schizophrenia: Advancing our  
760 understanding of the phenotype, its neural circuitry and genetic substrates. *Schizophr. Res.* 198,  
761 1–5. doi: 10.1016/j.schres.2018.02.042.
- 762 Tandon, R., Gaebel, W., Barch, D. M., Bustillo, J., Gur, R. E., Heckers, S., et al. (2013). Definition and  
763 description of schizophrenia in the DSM-5. *Schizophr. Res.* 150, 3–10. doi:  
764 10.1016/j.schres.2013.05.028.
- 765 Timofeeva, O. A., and Levin, E. D. (2011a). Glutamate and nicotinic receptor interactions in working  
766 memory: importance for the cognitive impairment of schizophrenia. *Neuroscience* 195, 21–36.  
767 doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.038.
- 768 Timofeeva, O. A., and Levin, E. D. (2011b). Glutamate and nicotinic receptor interactions in working  
769 memory: importance for the cognitive impairment of schizophrenia. *Neuroscience* 195, 21–36.  
770 doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.038.
- 771 Torres Jimenez, N., Miller, R. F., and McLoon, L. K. (2021). Effects of D-serine treatment on outer  
772 retinal function. *Exp. Eye Res.* 211, 108732. doi: 10.1016/j.exer.2021.108732.
- 773 Tractenberg, S. G., Levandowski, M. L., de Azeredo, L. A., Orso, R., Roithmann, L. G., Hoffmann, E. S.,  
774 et al. (2016). An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice:  
775 Evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68,  
776 489–503. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.021.
- 777 Trovão, L. de O., Alves, G. S., Carrilho, C. G., Ricci, T. G., Bittencourt, L., Alves, C., et al. (2022). Early  
778 trauma and schizophrenia onset: preliminary results of an outpatient cohort in Brazil. *Trends*  
779 *psychiatry Psychother.* 44, e20200024. doi: 10.47626/2237-6089-2020-0024.
- 780 Uno, Y., and Coyle, J. T. (2019). Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 73,  
781 204–215. doi: 10.1111/pcn.12823.
- 782 Valsamis, B., and Schmid, S. (2011). Habituation and prepulse inhibition of acoustic startle in rodents.  
783 *J. Vis. Exp.*, 1–10. doi: 10.3791/3446.
- 784 Van Bodegom, M., Homberg, J. R., and Henckens, M. J. A. G. (2017). Modulation of the hypothalamic-  
785 pituitary-adrenal axis by early life stress exposure. *Front. Cell. Neurosci.* 11, 1–33. doi:

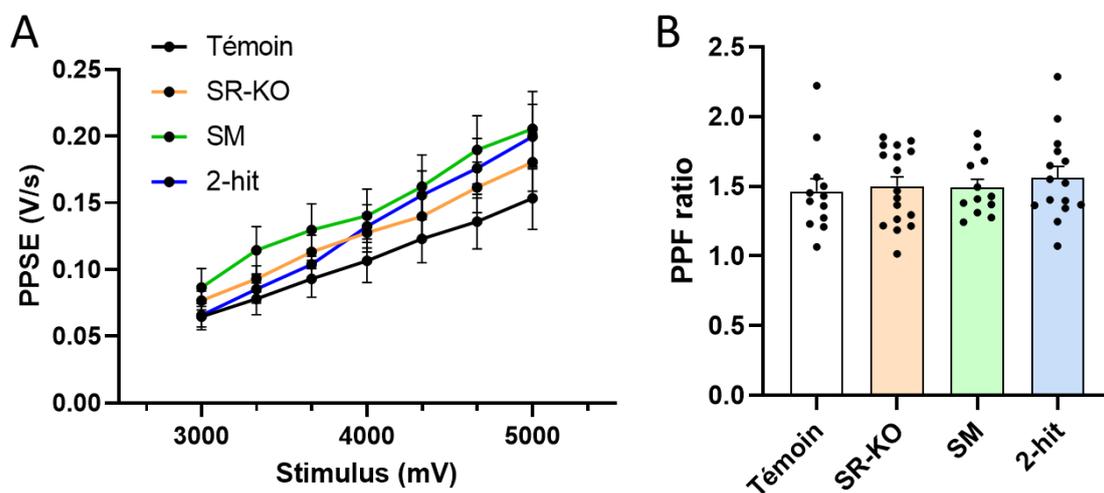
- 786 10.3389/fncel.2017.00087.
- 787 Van Den Buuse, M. (2010). Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified  
788 mice: Pharmacology and methodology aspects. *Schizophr. Bull.* 36, 246–270. doi:  
789 10.1093/schbul/sbp132.
- 790 Vuillermot, S., Joodmardi, E., Perlmann, T., Ögren, S. O., Feldon, J., and Meyer, U. (2012). Prenatal  
791 immune activation interacts with genetic Nurr1 deficiency in the development of attentional  
792 impairments. *J. Neurosci.* 32, 436–51. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4831-11.2012.
- 793 Wahbeh, M. H., and Avramopoulos, D. (2021). Gene-environment interactions in schizophrenia: A  
794 literature review. *Genes (Basel)*. 12. doi: 10.3390/genes12121850.
- 795 Wolosker, H., Blackshaw, S., and Snyder, S. H. (1999). Serine racemase : A glial enzyme synthesizing D  
796 -serine to regulate glutamate-N-methyl- D - aspartate neurotransmission. 96, 13409–13414.
- 797 Yamada, K., Ohnishi, T., Hashimoto, K., Ohba, H., Iwayama-Shigeno, Y., Toyoshima, M., et al. (2005).  
798 Identification of multiple serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR  
799 and DAO in schizophrenia and D-serine levels. *Biol. Psychiatry* 57, 1493–1503. doi:  
800 10.1016/j.biopsych.2005.03.018.
- 801 Zamberletti, E., Prini, P., Speziali, S., Gabaglio, M., Solinas, M., Parolaro, D., et al. (2012). Gender-  
802 dependent behavioral and biochemical effects of adolescent delta-9-tetrahydrocannabinol in  
803 adult maternally deprived rats. *Neuroscience* 204, 245–57. doi:  
804 10.1016/j.neuroscience.2011.11.038.
- 805

## 4.2. Etude électrophysiologique complémentaire à l'article 1

Cette section présente des données obtenues en complément de l'article 1. Ces résultats consistent en une étude électrophysiologique menée afin de caractériser la neurotransmission glutamatergique et l'expression de la plasticité synaptique dans l'aire CA1 de l'hippocampe dans 4 groupes expérimentaux, similaires à ceux qui ont été utilisés dans l'étude comportementale.

### (1) Evaluation de la transmission glutamatergique basale

Des modifications de la transmission synaptique peuvent être évaluées par deux composantes : l'évaluation de la force de la transmission basale glutamatergique par l'analyse de courbes (input/output (I/O, Figure 23A) et la détermination d'un index de libération du glutamate par l'analyse du ratio de la PPF (Figure 23B) (voir Méthodologie générale 3.3.4). Les analyses statistiques n'ont pas révélé de différence significative entre les différents groupes expérimentaux quel que soit le paramètre considéré, indiquant que la neurotransmission de base dans les réseaux neuronaux CA1 hippocampiques n'est pas altérée, ni par chaque facteur (délétion génétique ou séparation maternelle), ni par leur combinaison.



**Figure 23. La combinaison SR-KO x SM n'altère pas la transmission basale dans le groupe 2-hit.**

(A) Comparaison des PPSE non-NMDAR induits par des intensités de stimulus croissantes (de 3000 mV à 5000 mV). (B) Comparaison du ratio de la *paired-pulse facilitation* (PPF). Les données représentées sont des moyennes + SEM.

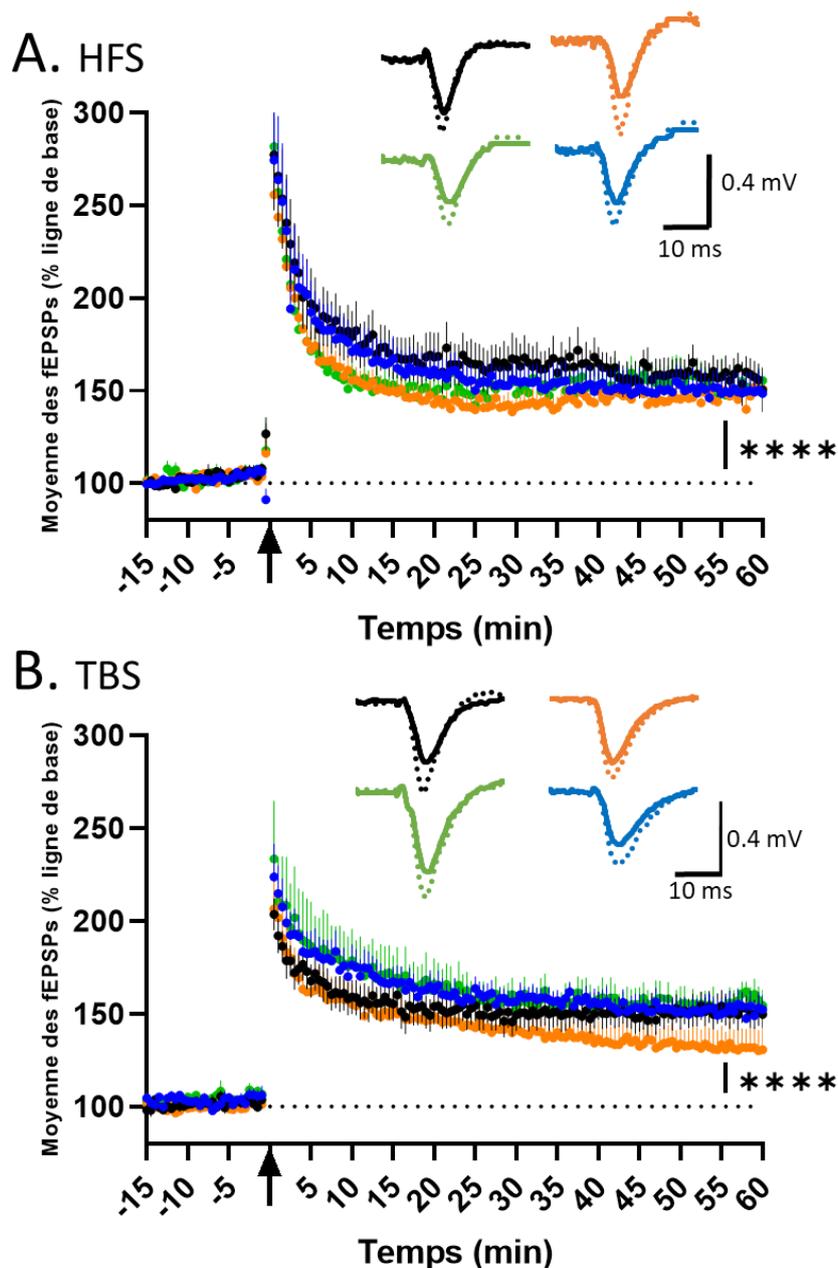
## (2) Évaluation de la potentialisation à court et long terme

Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés à l'expression de la plasticité synaptique fonctionnelle au sein des mêmes réseaux neuronaux de l'aire CA1 par l'utilisation de deux protocoles de stimulation conditionnante (voir Méthodologie générale 3.3.6) : la HFS (Figure 24A) et la TBS (Figure 24B). Deux stades de cette expression ont alors été analysés : PCT déterminée entre 5 et 15 min après le déclenchement de la stimulation tétanique et la PLT entre 45 et 60 min. Aucune différence significative de l'amplitude de la PCT et de la PLT n'a été observée entre les 4 groupes expérimentaux (Tableau 8). Ni la délétion génétique de la SR, ni la SM et ni la combinaison des deux n'affecte donc l'expression de la plasticité synaptique au niveau des synapses CA3/CA1 hippocampiques.

**Tableau 8. Tableau récapitulatif des valeurs moyennes d'amplitude de la plasticité.**

Valeurs moyennes (% par rapport à la ligne de base  $\pm$  SEM) de l'amplitude de la PCT et PLT pour les deux protocoles de stimulation HFS et TBS dans chaque groupe.

	HFS		TBS	
	PCT	PLT	PCT	PLT
<b>Témoin</b>	180.6 $\pm$ 13.35	158.21 $\pm$ 8.45	160.5 $\pm$ 8.97	151.1 $\pm$ 7.62
<b>SR-KO</b>	158.6 $\pm$ 7.18	146.6 $\pm$ 6.60	176.6 $\pm$ 11.63	131.9 $\pm$ 11.30
<b>SM</b>	157.8 $\pm$ 5.69	154.2 $\pm$ 8.37	155.2 $\pm$ 17.06	155.7 $\pm$ 6.93
<b>2-hit</b>	174.9 $\pm$ 12.8	150.1 $\pm$ 9.23	174.6 $\pm$ 9.64	152.0 $\pm$ 7.22



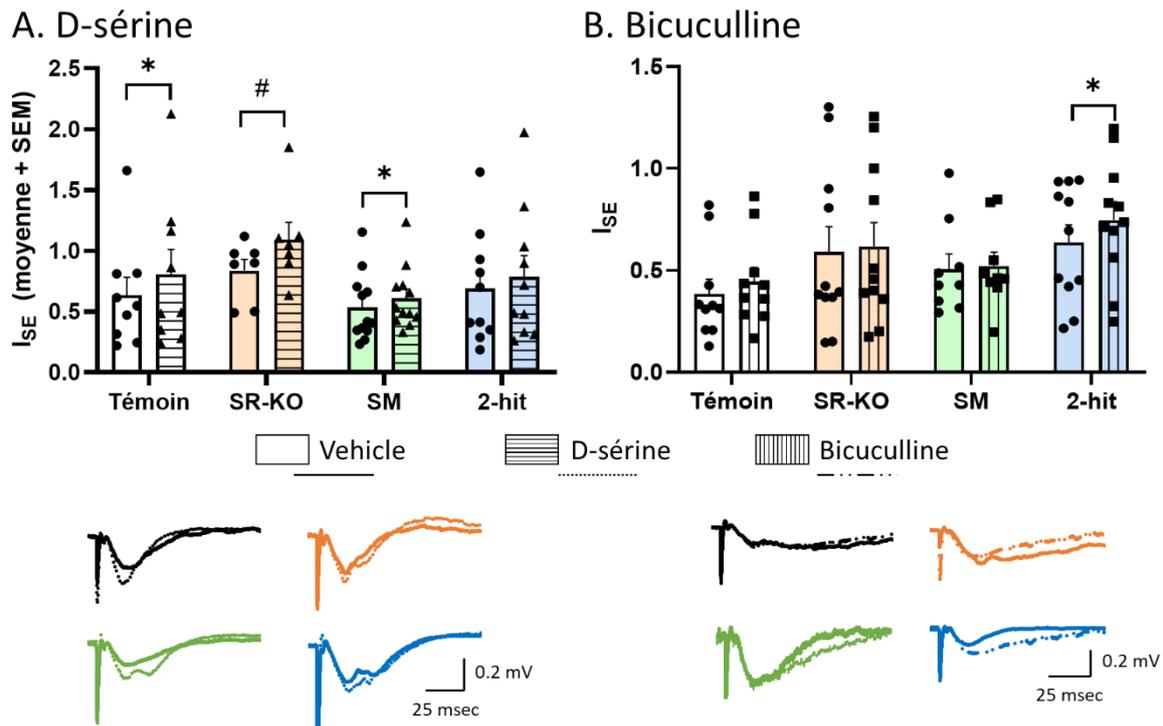
**Figure 24.** Effet de la délétion génétique, de la séparation maternelle et de leur combinaison sur l'expression de la plasticité synaptique évaluée par l'amplitude de la potentialisation à court et à long terme sur tranche d'hippocampe.

(A) Décours temporel de la potentialisation induite par le protocole de stimulation *High Frequency Stimulation* (HFS) (B) Décours temporel de la potentialisation induite par le protocole de stimulation *Theta-Burst Stimulation* (TBS). La potentialisation à court (5-15 min ; PCT) et long terme PLT (45-60 min) sont induites à la fois avec le protocole HFS et TBS ne sont pas différentes entre les groupes. Dans les encarts des exemples de traces enregistrées avant (ligne remplie) et 60 min après la stimulation de conditionnement (ligne pointillée). Pour les deux types de stimulation, une LTP significative est induite quel que soit le groupe expérimental (ANOVA à deux facteurs : effet temps \*\*\*\* <0.0001).

Les processus de plasticité fonctionnelle sont étroitement dépendants de la fonctionnalité des NMDAR (Bliss & Collingridge, 1993; Kim & Linden, 2007; Lisman & McIntyre, 2001; Morris et al., 1990). Leur activation a donc été pharmacologiquement isolée (voir Méthodologie générale 3.3.5) pour confirmer qu'elle n'était pas altérée dans les groupes expérimentaux.

### **(3) Évaluation de l'activation des NMDAR**

La comparaison de l'index d'efficacité synaptique ( $I_{SE}$ ) (voir Méthodologie générale 3.3.5) a permis de montrer que l'activation basale des NMDAR n'était pas altérée dans le groupe 2-hit, ni dans les groupes 1-hit SR-KO et SM (Figure 25A). Cette activation nécessite la fixation simultanée de l'agoniste principal, le glutamate, mais aussi d'un co-agoniste, identifié comme l'acide aminé D-sérine au sein des synapses CA3/CA1 hippocampiques (Wolosker et al., 1999a, 1999b). En accord avec la littérature (Junjaud et al., 2006), nous avons observé une augmentation de l'activation des NMDAR après l'ajout d'une dose de 100 micromoles de D-sérine dans le bain de perfusion confirmant le fait que dans les conditions de stimulation basale, tous les NMDAR synaptiques ne sont pas saturés par le co-agoniste. Toutefois, si cette augmentation a été clairement obtenue pour le groupe témoin et le groupe SM, seule une tendance a été observée pour le groupe SR-KO et aucune pour le groupe 2-hit (Figure 25A). Ces résultats suggèrent ainsi que le taux de site glycine des NMDAR disponibles est affecté dans ce modèle. D'autre part, il a été montré que, dans le cadre d'un protocole TBS, l'expression de la plasticité synaptique dépendante des NMDAR était régulée par l'inhibition apportée par l'activation des récepteurs du GABA (GABAR) (Gong et al., 2009). Nous nous sommes donc intéressés à de possibles changements du tonus inhibiteur GABAergique en comparant les effets du blocage des GABAR de type A par la bicuculline sur l'activation des NMDAR, toujours en comparant l'index d'efficacité synaptique avant et après ajout de cet antagoniste. Comme le montre la Figure 25B, l'ajout de bicuculline n'a pas induit d'augmentation significative de l'activation des NMDAR pour le groupe témoin, SR-KO et SM. Seul le groupe 2-hit a présenté une augmentation significative indiquant que le tonus inhibiteur serait accentué par la combinaison des 2-hit (Figure 25B).



**Figure 25. Effet de la délétion génétique, de la séparation maternelle, et de leur combinaison sur l'activation des (NMDAR), modulée par l'ajout de D-sérine, co-agoniste des NMDAR et de bicuculline, antagoniste des GABAR-A.**

(A) Comparaison de l'index d'efficacité synaptique ( $I_{SE}$ ) des NMDAR en condition contrôle (histogramme sans trait) et en présence de D-Sérine (traits hachurés horizontaux). (B) Comparaison de l'Index en condition contrôle (histogramme sans trait) et en présence de bicuculline (traits hachurés verticaux). En dessous des histogrammes, exemple de tracés de champs NMDAR obtenus dans chaque groupe. T-test apparié : #<0.1 ; \* <0.05

### **4.3. Etude comportementale complémentaire à l'article 1**

#### **Effet du blocage des 5-HT6R pour améliorer les déficits comportementaux observés dans le modèle 2-hit.**

Le deuxième volet de ces résultats complémentaires concerne les effets du SB-271046, un antagoniste sélectif des 5-HT6R (Bromidge et al., 1999; Routledge et al., 2000) sur les déficits observés dans le modèle 2-hit.

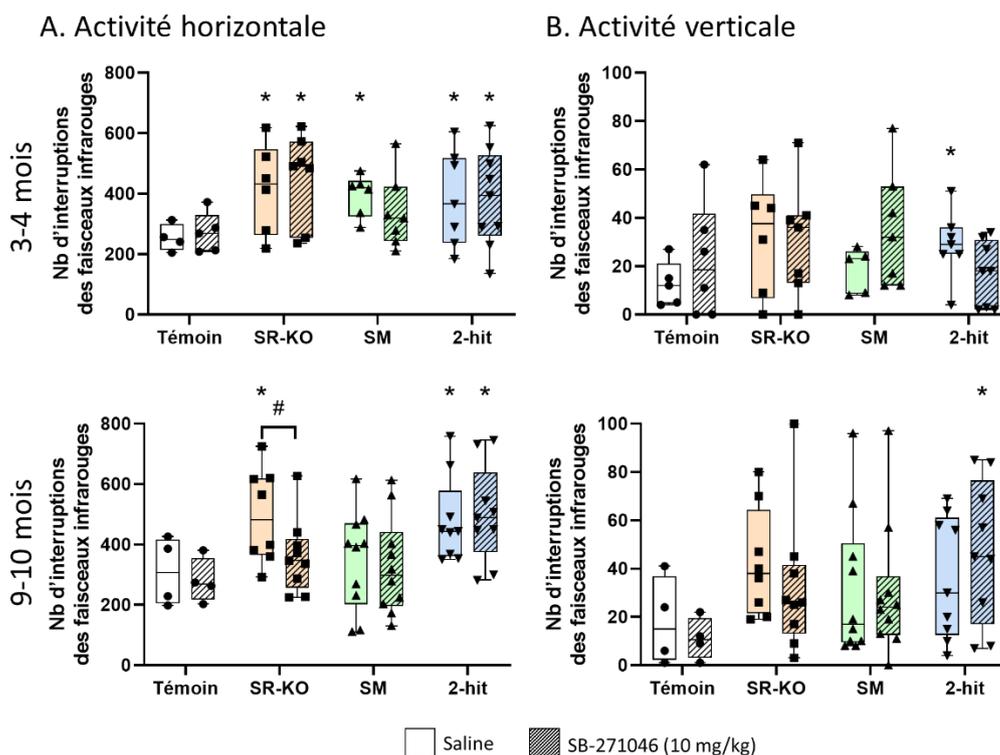
#### **Introduction de l'étude**

Les patients souffrant de schizophrénie (SCZ) sont traités par des neuroleptiques efficaces principalement sur les symptômes productifs (hallucinations, délires), comparativement aux symptômes déficitaires (problème de sociabilité) et aux déficits cognitifs (perte de mémoire) qui restent non traités (Bora et al., 2010; Tandon et al., 2013). Afin de compléter cette prise en charge et améliorer la qualité de vie des patients, de nouvelles stratégies thérapeutiques sont développées (Lobo et al., 2022). Le système sérotoninergique s'avère être un candidat intéressant puisqu'il module certains processus cognitifs, notamment la mémoire (Garay et al., 2016; Meltzer et al., 2003). Effectivement, des études précliniques ont montré des effets bénéfiques sur les performances mnésiques du blocage des récepteurs à la sérotonine de type 6 (5-HT6R) par un antagoniste, le SB-271046 (Asselot et al., 2017; Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; Quiedeville et al., 2015). Afin de caractériser les effets du blocage des 5-HT6R sur les symptômes de type déficitaires et les déficits cognitifs, nous avons testé les effets de cet antagoniste dans ce nouveau modèle à 2 facteurs (2-hit) (Article 1 soumis à *Schizophrenia Research*). L'étude comportementale post-traitement a permis d'évaluer quatre aspects : l'activité motrice spontanée, le niveau d'anxiété, la sociabilité et la reconnaissance sociale, et enfin la mémoire de travail aussi bien chez des souris jeunes de 3-4 mois, que chez des souris âgées de 9-10 mois afin de voir l'efficacité du traitement à deux âges différents. Le traitement pharmacologique a été réalisée sur quatre autres groupes de souris différents. Les injections (une injection I.P par jour à une dose de 10 mg/kg) ont débuté deux semaines avant le début des expérimentations. Le protocole du traitement a été choisi en fonction des données précédemment obtenus dans le laboratoire (Asselot et al., 2017; Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; Quiedeville et al., 2015, 2014).

## Résultats

### (1) Activité spontanée en actimétrie

A l'âge de 3-4 mois, les souris du groupe SR-KO, SM et 2-hit, présentent une augmentation du nombre d'interruptions des faisceaux infrarouges (activité horizontale ;  $253.8 \pm 22.46$ ,  $416.8 \pm 60.86$ ,  $394.8 \pm 28.22$ ,  $384.9 \pm 59.69$  nombres d'interruptions pour le groupe témoin, SR-KO, SM et 2-hit respectivement) dans l'actimètre indiquant une hyperactivité (Figure 26A). Cette hyperactivité est retrouvée à l'âge de 9-10 mois pour les souris du groupe SR-KO et 2-hit ( $494.9 \pm 55.09$  et  $480.2 \pm 47.16$  respectivement) mais, n'est plus présente pour le groupe SM ( $348.9 \pm 51.86$ ) par rapport au groupe témoin ( $309.8 \pm 56.52$ ). Après traitement par le SB-271046, aucune modification de l'activité motrice n'est observée à l'âge de 3-4 mois cependant, une légère diminution de cette hyperactivité est retrouvée chez le groupe SR-KO à l'âge de 9-10 mois ( $362.0 \pm 41.02$ ) (Figure 26A). Concernant le nombre de redressements, déterminé par le nombre d'interruptions des faisceaux infrarouges sur le plan supérieur (activité verticale), une augmentation de ce paramètre est observée pour le groupe 2-hit non traité à l'âge de 3-4 mois ( $28.86 \pm 5.34$ ) et 2-hit traité par le SB-271046 à l'âge de 9-10 mois ( $47.22 \pm 9.84$ ) (Figure 26B). A noter également une variabilité importante dans ces résultats, notamment pour les groupes SR-KO, SM et 2-hit à l'âge de 9-10 mois, qui pourrait traduire une différence de sensibilité aux différents facteurs.

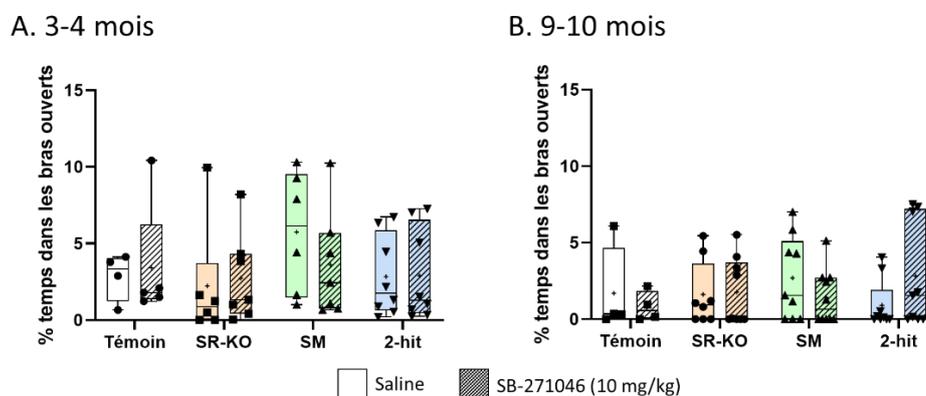


**Figure 26. Effets du blocage des 5-HT6R sur les paramètres d'actimétrie.**

Effets du SB-271046 (10 mg/kg, trait hachuré) sur (A) l'activité horizontale et (B) verticale en fonction et de l'âge chez des souris Témoin, SRKO, SM et 2-hit (graphiques du haut : 3-4 mois et graphique du bas 9-10mois). T-test : comparaison avec le groupe témoin \* < 0.05. Données représentées en boxplot ± min/max, ligne : médiane.

## (2) Comportement de type anxieux

Aucune différence entre les groupes n'a été observée dans le test du labyrinthe en croix surélevée indiquant aucune modification du niveau d'anxiété des souris en fonction des différentes conditions expérimentales. Le traitement sub-chronique n'a pas non plus d'effet sur le niveau d'anxiété (Figure 27).

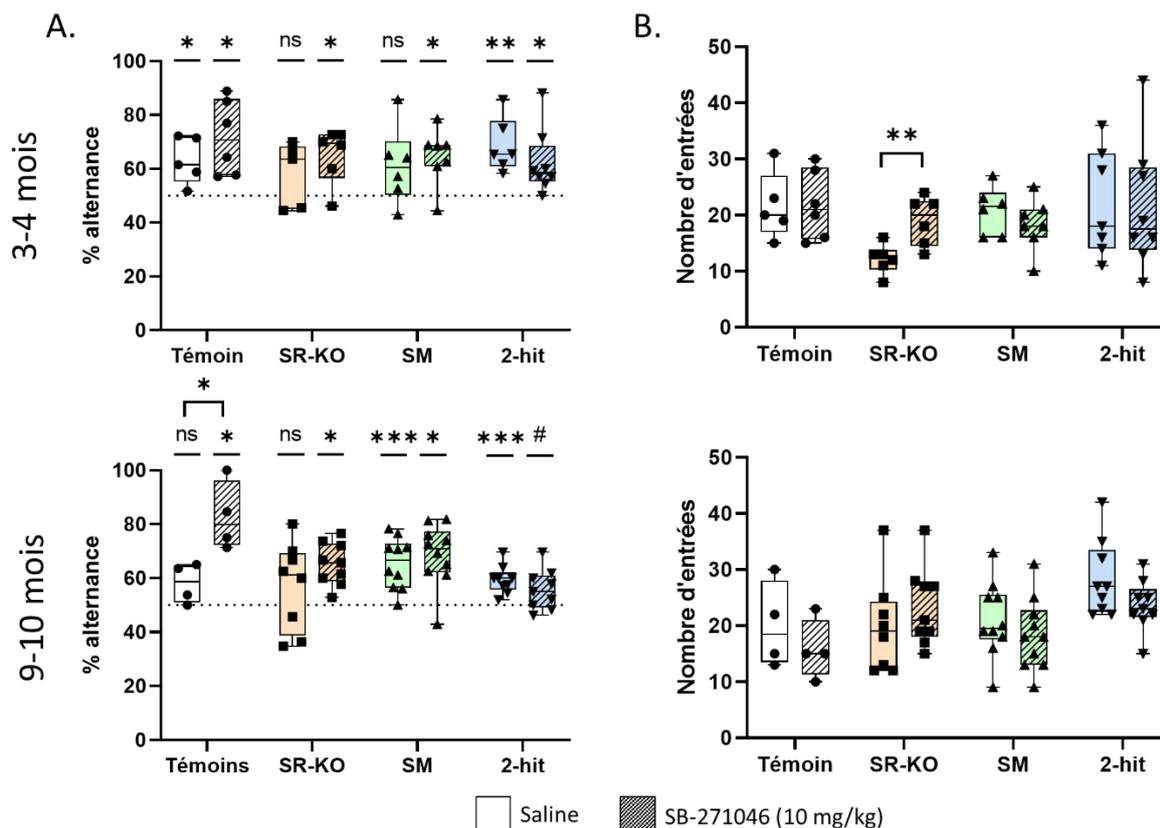


**Figure 27. Effets du blocage des 5-HT6R sur les paramètres du labyrinthe en croix surélevée.**

Effets du SB-271046 (10 mg/kg, traits hachurés) sur le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts de la croix surélevée à l'âge de (A) 3-4 mois et (B) 9-10 mois chez des souris Témoin, SRKO, SM et 2-hit. Données représentées en boxplot ± min/max, ligne : médiane.

### (3) Mémoire de travail en labyrinthe en Y

A l'âge de 3-4 mois, le groupe témoin et le groupe 2-hit présentent un pourcentage d'alternance significativement supérieur à 50 % ( $63.1 \pm 3.9$  et  $68.6 \pm 4.1$  respectivement), ce qui signifie que les souris de ces deux groupes alternent significativement entre les différents bras. A la différence, les souris SR-KO et SM présentent un pourcentage d'alternance non différent de 50 % ( $58.0 \pm 5.4$  et  $61.2 \pm 5.9$  respectivement) indiquant ici que les souris alternent de manière aléatoire dans les bras (Figure 28A). A l'âge de 9-10 mois, seuls les groupes SM et 2-hit présentent un pourcentage d'alternance significativement supérieur à 50 % ( $65.4 \pm 3.0$  et  $59.4 \pm 1.7$  respectivement), comparativement aux deux autres groupes témoin et SR-KO ( $58.1 \pm 3.7$  et  $57.0 \pm 5.8$  respectivement). Concernant les effets du traitement, le SB-271046 améliore la mémoire de travail du groupe témoin à l'âge de 9-10 mois ( $82.8 \pm 6.4$ ) avec une différence entre les deux groupes (non-traité *versus* traité). Concernant les groupes SR-KO et SM, le SB-271046 améliore le pourcentage d'alternance (significativement supérieur à 50 %) des deux groupes à l'âge de 3-4 mois ( $65.1 \pm 4.2$  et  $64.6 \pm 4.0$ ) ainsi qu'à l'âge de 9-10 mois pour le groupe SR-KO uniquement ( $65.4 \pm 2.6$ ), puisque ces groupes présentent un pourcentage d'alternance significativement supérieur à 50 % après traitement. Le groupe 2-hit quant à lui présente un pourcentage d'alternance après traitement au SB-271046 toujours supérieur à 50 % à l'âge de 3-4 mois ( $62.2 \pm 4.3$ ), sans différence avec le groupe non traité, et une tendance à l'âge de 9-10 mois ( $55.7 \pm 2.5$ ) (Figure 28A). Concernant le nombre d'entrées dans les bras, nous n'avons pas mis en évidence de différence entre les quatre groupes expérimentaux, indiquant une activité similaire dans le labyrinthe entre les groupes. Cependant, le nombre d'entrées pour le groupe SR-KO à l'âge de 3-4 mois est significativement supérieur après traitement ( $12 \pm 1$  avant traitement et  $19 \pm 2$  après traitement ; Figure 28B).



**Figure 28. Effets du blocage des 5-HT6R sur les paramètres de l'alternance spontanée.**

Effet du SB-271046 (10 mg/kg, traits hachurés) sur le pourcentage d'alternance (A) et le nombre d'entrées (B) en fonction de l'âge souris (graphiques du haut : 3-4 mois et graphique du bas 9 – 10mois) et du groupe expérimental : témoin (blanc), SR-KO (orange), séparation maternelle (SM, vert) et 2-hit (bleu). Comparaison à une valeur de référence t-test univarié (>50 %) : ns : non-significatif, #<0.1 ; \*<0.05, \*\*<0.01, \*\*\*<0.001. Comparaison intergroupe t-test : \*<0.05, \*\*<0.01. Données représentées en boxplot ± min/max, ligne : médiane.

#### (4) Sociabilité et reconnaissance sociale

Afin de comparer le niveau de sociabilité de chaque groupe, un index de sociabilité a été et comparé à la valeur seuil de 0. Cette valeur seuil correspond à une absence de préférence entre les deux compartiments gauche et droite. Si l'index est supérieur à 0, cela signifie qu'il y a une préférence pour le compartiment contenant le congénère (sociabilité) ; à l'inverse si l'index est inférieur à 0, cela signifie qu'il y a une préférence pour le compartiment éloigné du congénère (absence de sociabilité ou préférence pour l'isolement social).

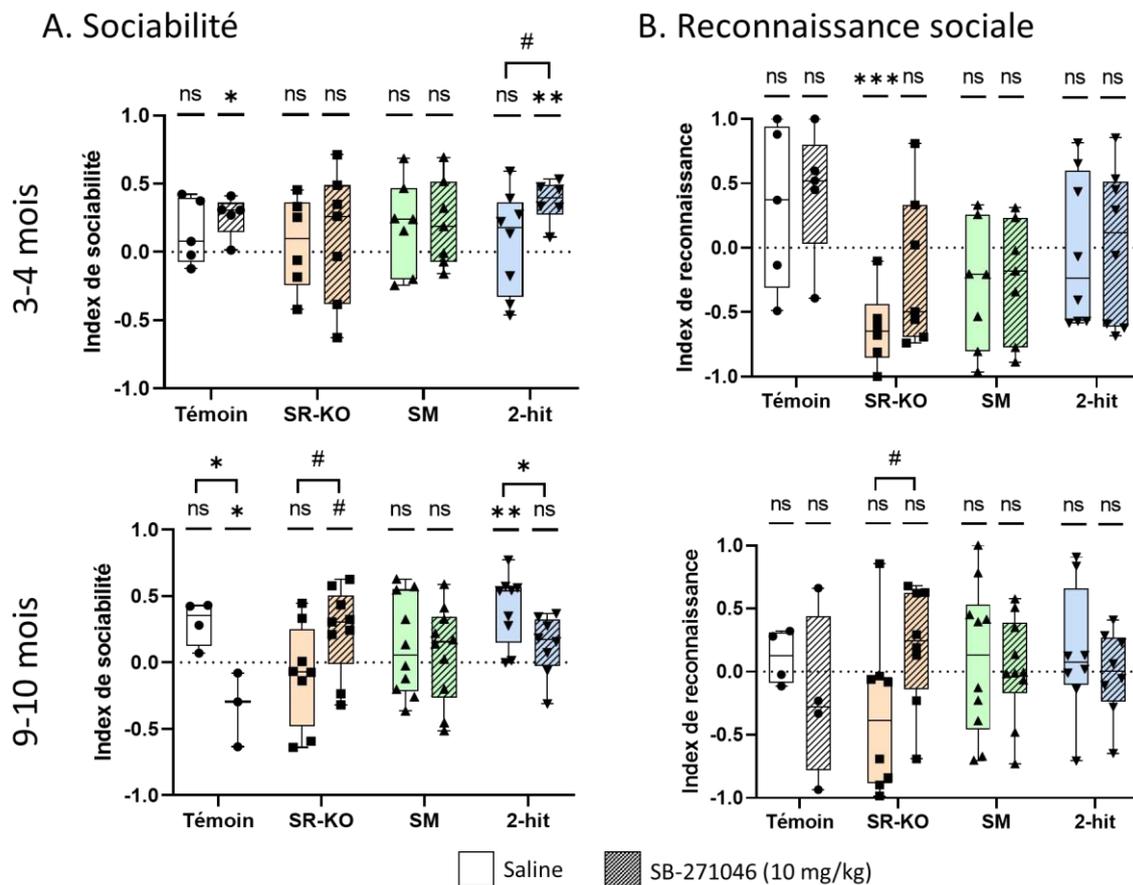
A l'âge de 3-4 mois, aucun des quatre groupes témoin, SR-KO, SM et 2-hit n'a présenté un index de sociabilité significativement supérieur à 0 ( $0.15 \pm 0.11$ ,  $0.06 \pm 0.14$ ;  $0.19 \pm 0.13$  et  $0.07 \pm 0.13$  respectivement, Figure 29A), indiquant qu'aucun des quatre groupes n'a présenté de préférence pour le congénère. A l'âge de 9-10 mois seul le groupe 2-hit présentait un index de sociabilité significativement supérieur à 0 ( $0.40 \pm 0.09$ ). Les trois autres groupes, témoin,

SR-KO et SM présentent un index non différent de 0 ( $0.30 \pm 0.08$ ,  $-0.091 \pm 0.14$  et  $0.12 \pm 0.12$  respectivement, Figure 29A).

Chez les animaux jeunes (3-4 mois) le SB-271046, a amélioré significativement l'index de sociabilité dans deux groupes : témoin ( $0.26 \pm 0.07$ ) et 2-hit ( $0.37 \pm 0.06$ ). Chez les animaux plus âgés (9-10 mois), le SB-271046 affecte l'index de sociabilité que du groupe témoin ( $-0.34 \pm 0.16$ ). Cependant cet index est inférieur à 0 indiquant que ce groupe préfère passer plus de temps loin du congénère suggérant ici un effet délétère du traitement avec l'âge. Concernant le groupe SR-KO après traitement présente un index supérieur à 0 ( $0.24 \pm 0.11$ ). Concernant le groupe 2-hit, après traitement, l'index de sociabilité n'est plus différent de 0 ( $0.13 \pm 0.08$ ) indiquant que le groupe 2-hit après traitement n'a pas présenté de préférence entre le congénère ou le compartiment sans congénère. Des différences intergroupes ont été observées avec une différence significative pour les groupes témoin et 2-hit (avant vs après traitement) indiquant que le traitement à cet âge et pour ces deux groupes, aurait un effet délétère sur la sociabilité des souris. Concernant le groupe SR-KO seule une tendance a été observée entre les deux groupes avant vs après traitement (Figure 29A). Ainsi, les effets bénéfiques du blocage des 5-HT<sub>6R</sub> semble dépendre de l'âge des souris avec des effets bénéfiques chez les jeunes souris (groupes témoin et 2-hit) et un effet délétère chez les plus âgées (groupes témoins et 2-hit)

Concernant la reconnaissance sociale présentée dans la Figure 29B, un index a également été calculé. Cet index est comparé à une valeur seuil de 0 correspondant à une absence de préférence entre le congénère déjà rencontré/familier et le congénère nouveau. Si l'index est supérieur à 0 alors cela signifie que le groupe préfère passer plus de temps vers le nouveau congénère plutôt que le familier et à l'inverse si l'index est inférieur à 0 alors le groupe préfère passer plus de temps vers le congénère familier plutôt que le nouveau. Au regard des résultats, que cela soit pour le groupe témoin, SM et 2-hit à l'âge de 3-4 mois comme à l'âge de 9-10 mois, avant comme après traitement par le SB-271046, aucune différence n'est observée, que cela soit entre les groupes ou en comparaison avec la valeur seuil de 0. Cela signifie que ces groupes n'ont pas de préférence ni pour la nouvelle souris ni pour la familière. Concernant le groupe SR-KO à l'âge de 3-4 mois, une différence significative avant traitement a été observée, l'index de reconnaissance étant significativement inférieur à 0, indiquant que ce groupe préfère passer plus de temps proche de la souris familière plutôt que la nouvelle souris. Après

traitement par l'antagoniste, l'index de reconnaissance n'est plus différent de la valeur seuil. A l'âge de 9-10 mois, le groupe SR-KO que cela soit avant ou après traitement, ne présente pas de différence significative avec la valeur seuil. Cependant, nous avons observé une légère différence (tendance) entre avant vs après traitement. Un des points importants de ces résultats est la variabilité entre les groupes qui est très importante ce qui pourrait expliquer, en partie, l'absence de différence entre nos groupes.



**Figure 29. Effets du blocage des 5-HT6R sur la sociabilité et la reconnaissance sociale chez des souris témoin, SR-KO, séparées (SM) et 2-hit.**

Effet du SB-272046 (10 mg/kg, traits hachurés) sur (A) l'index de sociabilité et (B) l'index de reconnaissance sociale en fonction de l'âge (graphiques du haut : 3-4 mois et graphiques du bas 9-10 mois) et du groupe expérimental :). Comparaison à une valeur de référence, t-test univarié (0) : ns : non-significatif,  $<0.1$ ,  $<0.05$ ,  $<0.01$ ,  $<0.001$ . Comparaison intergroupe t-test : # $<0.1$ ,  $<0.05$ . Données présentées sous forme de boxplots  $\pm$  min/max, ligne : médiane.

Pour conclure, le blocage des 5-HT6R a des effets bénéfiques, dépendant de l'âge, sur la sociabilité et la mémoire de travail sans modifier l'activité motrice ni le niveau d'anxiété des souris. Ce traitement pharmacologie affecte ainsi les performances cognitives et il est donc nécessaire par la suite d'étudier plus en détail les modifications que peut avoir ce traitement sur l'activité neuronale par des mécanismes synaptiques.

Publication

4.4. Article 2

**5-HT6 Receptors Sex-Dependently Modulate Hippocampal Synaptic Activity through GABA Inhibition**

Lahogue, C.; Billard, J.M.; Freret, T.; Bouet, V. 5-HT6 Receptors Sex-Dependently Modulate Hippocampal Synaptic Activity through GABA Inhibition. *Biomolecules* **2023**, *13*, 751. <https://doi.org/10.3390/biom13050751>

A la suite de l'observation d'effets pro-cognitifs du blocage des 5-HT6R dans le modèle 2-hit, nous nous sommes intéressés au mécanisme d'action du blocage des 5-HT6R sur la transmission synaptique et la plasticité fonctionnelle dans l'hippocampe, structure fortement impliquée dans les processus de mémoire. Ce travail a permis d'apporter une meilleure compréhension de la modulation des récepteurs 5-HT6 sur le réseau neuronal hippocampique et de mettre en évidence des effets liés au sexe. Ce travail de recherche a fait l'objet d'une publication dans le journal international *Biomolecules* en 2023.

Article

# 5-HT<sub>6</sub> Receptors Sex-Dependently Modulate Hippocampal Synaptic Activity through GABA Inhibition

 Caroline Lahogue , Jean-Marie Billard , Thomas Freret  and Valentine Bouet 

 Department of Health, UNICAEN, INSERM, COMETE, CYCERON, FHU A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P, CHU Caen, Normandie Université, 14000 Caen, France

\* Correspondence: caroline.lahogue@unicaen.fr

**Abstract:** The subtype 6 of the serotonergic receptors (5-HT<sub>6</sub>Rs) is highly expressed in the hippocampus, and evidence indicates the beneficial effects of 5-HT<sub>6</sub>Rs blockade on short- and long-term memory in rodents. Nevertheless, the underlying functional mechanisms still need to be established. To this end, we performed electrophysiological extracellular recordings to assess the effects of the 5-HT<sub>6</sub>Rs antagonist SB-271046 on the synaptic activity and functional plasticity at the CA3/CA1 hippocampal connections of male and female mice slices. We found that basal excitatory synaptic transmission and isolated N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) activation were significantly increased by SB-271046. The NMDARs-related improvement was prevented by the GABAAR antagonist bicuculline in male but not in female mice. Regarding synaptic plasticity, neither paired-pulse facilitation (PPF) nor NMDARs-dependent long-term potentiation (LTP) (induced either by high-frequency or theta-burst stimulation) was affected by the 5-HT<sub>6</sub>Rs blockade. Taken together, our results indicate a sex-dependent 5-HT<sub>6</sub>Rs effect on synaptic activity at the CA3/CA1 hippocampal connections through changes in the excitation/inhibition balance.

**Keywords:** hippocampus; serotonin; electrophysiology; NMDA; long-term potentiation



**Citation:** Lahogue, C.; Billard, J.-M.; Freret, T.; Bouet, V. 5-HT<sub>6</sub> Receptors Sex-Dependently Modulate Hippocampal Synaptic Activity through GABA Inhibition. *Biomolecules* **2023**, *13*, 751. <https://doi.org/10.3390/biom13050751>

Academic Editors: Philippe De Deurwaerdere, Abdeslam Chagraoui and Séverine Chaumont-Dubel

Received: 17 March 2023

Revised: 19 April 2023

Accepted: 23 April 2023

Published: 26 April 2023



**Copyright:** © 2023 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

The serotonergic subtype 6 receptors (5-HT<sub>6</sub>Rs) are mainly expressed in the central nervous system, particularly in brain regions involved in memory processes [1–5]. This distribution can support a role for these receptors in the treatment of memory disorders related to neuropsychiatric diseases such as those observed in schizophrenia. Although many typical and atypical antipsychotics have an affinity for 5-HT<sub>6</sub>Rs [6–9] and alleviate positive symptoms (hallucinations and delusions), negative symptoms (avolition, anhedonia, etc.) and cognitive deficits (working memory, attentional deficit, etc.) of schizophrenia remain resistant, and several side effects are currently reported in schizophrenic patients [10]. Therefore, due to their localization in the central nervous system, suggesting the absence of adverse peripheral effects, 5-HT<sub>6</sub>Rs are interesting targets [11]. Consequently, the development of pharmacological agents targeting the 5-HT<sub>6</sub>Rs is currently ongoing in both clinical and preclinical studies [12–14]. Several studies have reported beneficial effects of 5-HT<sub>6</sub>Rs blockade on behavior. For instance, studies in rats and mice have shown beneficial effects of 5-HT<sub>6</sub>Rs' blockade to reverse scopolamine-induced memory deficits [15–18] and to reverse memory impairment related to aging in mice [19]. In addition, several studies have shown beneficial effects of 5-HT<sub>6</sub>Rs' blockade on the memory and learning performance in animal models of schizophrenia [20,21]. Taken together, the preclinical results of 5-HT<sub>6</sub>Rs blockade show beneficial effects on cognition processes. Interestingly, improved performance has been reported in hippocampal-dependent memory tasks after the blockade of 5-HT<sub>6</sub>Rs [15,16,19,21,22]. From a paradoxical point of view, while 5-HT<sub>6</sub>Rs' activation by agonists leads to impaired flexibility, working memory, and social recognition in rodents [17,23], other studies have shown that their activation could improve recognition

memory and decreased anxiety-related behavior [18,24]. Furthermore, cognitive impairments (spatial learning in Morris water maze) and increased anxiety level were found in 5-HT6Rs null mutant mice [25].

Despite the pro-cognitive evidence of 5-HT6Rs antagonism, the cellular mechanisms underlying the memory improvement are still misunderstood. Several behavioral studies have highlighted the involvement of serotonin–acetylcholine interactions [15–17,21,26] or serotonin–glutamate neurotransmission systems interactions [21,27] in memory processes. Microdialysis studies showed that the blockade of 5-HT6Rs by SB-271046 increases glutamate and acetylcholine release in the hippocampus [28–31]. Conversely, 5-HT6Rs activation with the agonists WAY-181187 or WAY-208466 increases extracellular level of  $\gamma$ -Aminobutyric acid type A (GABA) without affecting those of serotonin, dopamine and glutamate in the dorsal hippocampus [32]. These neurochemical data are in agreement with the localization of 5-HT6Rs on GABAergic interneurons in several brain areas such as the hippocampus [3,33–36]. Based on these data, it has been suggested that 5-HT6Rs could directly increase GABAergic activity and indirectly increase glutamatergic neurotransmission [3,32].

Functional synaptic plasticity within hippocampal networks is a critical mechanism for memory processes. In particular, long-term potentiation (LTP) dependence on synaptic transmission due to activation of the N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate receptors (NMDARs) plays a key role [37–41]. Yet, the effect of 5-HT6Rs' modulation of hippocampal NMDARs-dependent LTP remains poorly considered [42]. This study therefore aimed to functionally characterize the interplay between 5-HT6Rs and glutamatergic neurotransmission by assessing the effects of the 5-HT6Rs' antagonist SB-271046 on synaptic activity and plasticity of CA3/CA1 hippocampal synapses. SB-271046, whose structure and function have been initially described by Bromidge et al. (1999) [4] and Routledge et al. (2000) [5], is known to block the 5-HT6Rs, leading to a decrease in adenylyl-cyclase activation and a decrease in AMPc intracellular concentration. Our investigation was performed in both male and female mice, allowing us to take into consideration the sexual dimorphism that can be observed in healthy brains [43] but is also accentuated in diseases such as schizophrenia [44–46]. In addition to morphological and symptomatology dimorphisms [44–46], the effective dosage of antipsychotic drug to obtain a response is different between male and female patients, with male patients requiring significantly higher amounts [47,48]. Interestingly, a clinical investigation using the 5HT6Rs' agonist inhibitor avisetron (AVN-211) found a sex-dependent response in schizophrenia patients with residual psychotic symptoms [49], which reinforces the importance of testing the effect of the molecule on male and female mice.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Animals

In the present study, 16 male and 13 female C57BL/6 mice, aged 5–8 months, provided by our local facility (Centre Universitaire de Ressources Biologiques, Université de Caen, Normandie, France), were used. Mice were kept in polycarbonate cages (n = 5 per cage) in standard controlled conditions including reversed 12/12 h light/dark cycle (lights on at 7:30 a.m.) and stable temperature ( $22 \pm 2$  °C) and humidity ( $50 \pm 10\%$ ). Mice were given free access to food and water. Cage enrichment consisted of crinkle-cut shredded paper and a cardboard house. Experiments were performed in accordance with French and European Economic Community guidelines for the care and use of laboratory animals (Directive 2010/63/UE, project no. 2020121013375130 v2).

### 2.2. Pharmacology

Based on its pharmacological profile [4], the selective 5-HT6Rs' antagonist SB-271046 (5-chloro-N-(4-methoxy-3-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-2-benzothiophene sulfonamide hydrochloride) was first delivered at concentrations of 0.1  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, or 10  $\mu$ M to assess the dose-dependent effect on NMDARs' activation. The higher dose was then selected

to investigate the effects of SB-271046 on non-NMDARs' activation and the expression of synaptic plasticity. Both NBQX (2,3-Dioxo-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydrobenzo[f]quinoxaline-7-sulfonamide, NBQX) and bicuculline (non-NMDARs and  $\gamma$ -aminobutyric acid type A receptor (GABAAR) antagonists, respectively) were used at 10  $\mu$ M. SB-271046 was synthesized by F. Fabis and C. Fossey (Centre d'Études et de Recherche sur le Médicament de Normandie, CERMN, UNICAEN), NBQX was purchased from Tocris Bioscience® (Bristol, UK) and bicuculline from Sigma-Aldrich® (Lyon, France).

### 2.3. Extracellular Electrophysiology

Mice were anesthetized with 5% isoflurane and decapitated. The brain was rapidly extracted from the skull and placed in ice-cold artificial cerebrospinal fluid (aCSF) containing 124 mM NaCl, 3.5 mM KCl, 1.5 mM MgSO<sub>4</sub>, 26.2 mM NaHCO<sub>3</sub>, 1.2 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, and 11 mM glucose (pH 7.4). The solution was gassed with an O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> mixture (95%/5%). Transverse hippocampal slices (400  $\mu$ m thick) were obtained with a tissue slicer (Mc ILwain®, Redding, CA, USA) and placed in aCSF for at least 60 min in a holding chamber at room temperature before recording. The hippocampal slice was then placed into the recording chamber, maintained with a grid, and continuously submerged at room temperature with preoxygenated aCSF.

Specific NMDAR activation was assessed in the CA1 hippocampal area by conventional single-array recordings using glass micropipettes (2–5 M $\Omega$ ) filled with 2 M NaCl. Presynaptic fiber volleys (PFVs) and field excitatory postsynaptic potentials (fEPSPs) were evoked at 0.1 Hz by the electrical stimulation of Schaffer collaterals and commissural fibers located in the stratum radiatum. The NMDARs-mediated component was isolated from slices perfused with low magnesium aCSF (0.1 mM to relieve NMDARs of their Mg<sup>2+</sup> blockade) and supplemented with NBQX (10  $\mu$ M). The slope of three successive PFVs and fEPSPs was averaged using WinLTP® software 2.30 [50,51]. To evaluate the level of NMDAR activation, an index of synaptic efficacy (Ise) corresponding to the fEPSP/PFV ratio was plotted against increasing stimulus intensities (400 and 500  $\mu$ A). The effects of successive application of SB-271046 with increased concentrations (0.1  $\mu$ M, 1  $\mu$ M, and 10  $\mu$ M) in the control or bicuculline-supplemented aCSF (10  $\mu$ M) were evaluated by comparing Ise before and 15 min after the addition of the drug to the medium.

After the evaluation of the effective dose of SB-271046 on NMDARs' activation, the effects on basal synaptic transmission and synaptic plasticity were assessed using extracellular recordings obtained with a Multi-Electrodes array (MEA2100, Multi-Channel System, 60MEA200/30iR-Ti 8\*8, Reutlingen, Germany). The recording chamber was equipped with 60 recording electrodes (30  $\mu$ m diameter with 200  $\mu$ m spacing). To assess basal neurotransmission, fEPSPs also evoked in the CA1 area by stimulation of the Schaffer collaterals/commissural fibers were measured using LTP director software® 1.4 (Multi-Channel Systems MCS). Input-output (I/O) curves were obtained with voltage currents ranging from 3000 to 5000 mV. The paired-pulse facilitation (PPF) of basal synaptic transmission was investigated through paired electrical stimulation with an interstimulus interval of 30 ms. The voltage current selected to induce PPF corresponded to a response of 50% of the maximal achievable fEPSP determined with the I/O curve. The PPF was calculated as the ratio of the slope of the second stimulation to the first one. In both the I/O and PPF experiments, the effects of SB-271046 were evaluated by comparing the values before and 15 min after the addition of the antagonist to the aCSF. To investigate the short-term potentiation and long-term potentiation (STP and LTP, respectively) of synaptic transmission, a test stimulus was applied every 20 s and adjusted to obtain a fEPSP with a baseline slope of 0.1 V/s. After 15 min of stable baseline, a conditioning stimulus was applied consisting of either a high-frequency stimulation (HFS, 1 burst of stimulations delivered at 100 Hz for 1 s) or a theta-burst stimulation (TBS, 10 bursts of 4 pulses delivered at 100 Hz separated by 200 ms and repeated twice with an interval of 20 s). In both HFS and TBS experiments, testing with a single pulse was then resumed for 60 min. For statistical analyses, STP was

considered as changes occurring between 5 and 15 min after the conditioning stimulation while LTP was considered as occurring between 45 and 60 min.

2.4. Data Analysis

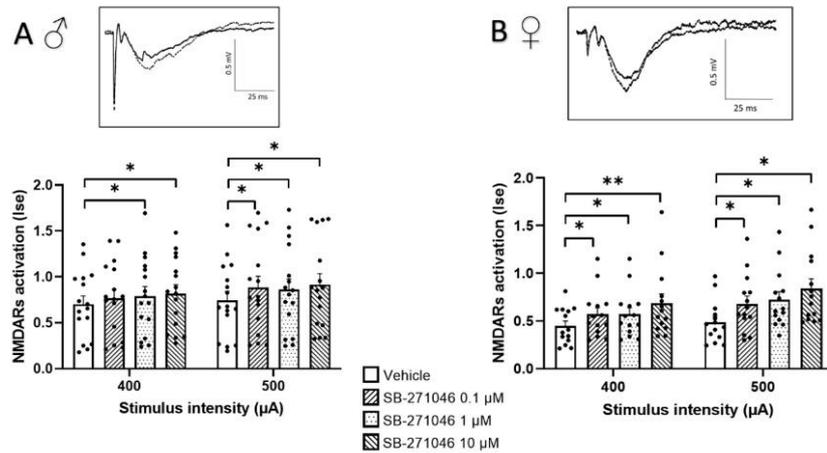
Analyses were performed with R<sup>®</sup> software 4.2.0 and GraphPad<sup>®</sup> Prism 8.3. The assessment of normality of the data distribution was performed using the Shapiro test and the homogeneity of variances with Levene’s test. When data were normally distributed, two-way analysis of variance (ANOVAs with repeated measures or not) were used for group comparisons, and data are expressed as mean + standard error of the mean (SEM). Otherwise, data are expressed in median ± interquartile. To assess drugs effects, paired *t*-tests (for data normally distributed) or Wilcoxon paired tests (for data not normally distributed) were used. A significant difference was admitted in all cases when *p* was below 0.05.

3. Results

3.1. Effects of SB-271046 on NMDARs’ Activation

NMDARs’ activation is critical for functional plasticity in the neuronal networks that drive memory formation [37–41]. To accurately determine possible dose-dependent effects of 5-HT6Rs’ antagonism, we looked first at changes in pharmacologically isolated NMDARs-mediated fEPSPs (see Section 2) that were induced by increased concentrations of SB-271046.

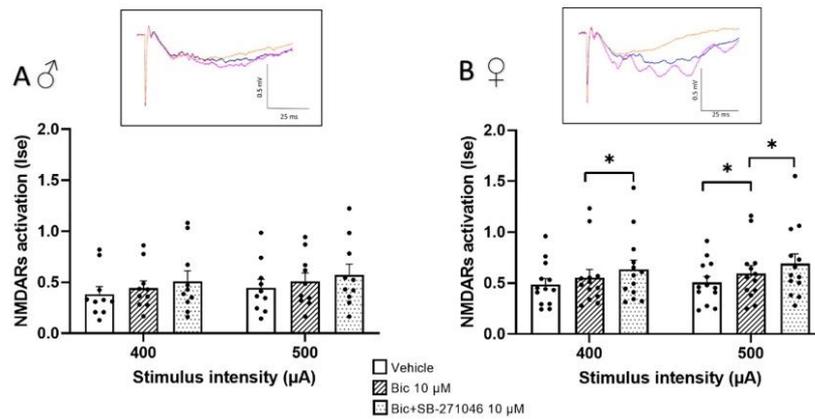
In almost all experimental subgroups (Figure 1), the NMDARs’ activation determined by the Ise index (corresponding to the fEPSP/PFV ratio) was significantly increased by SB-271046. This significant increase was found in male (Figure 1A) and female mice (Figure 1B) and was not dose-dependent.



**Figure 1.** SB-271046 increases NMDARs activation in CA1 hippocampal networks. Effects of increasing concentrations of SB-271046 (0.1 μM, 1 μM, and 10 μM) on Ise of isolated NMDARs-mediated fEPSPs determined at 400 μA and 500 μA stimulation intensities in male (A) (mean + SEM, *n* = 16 slices, \* *p* < 0.05, paired *t*-tests) and female (B) mice (mean + SEM, *n* = 14 slices, \* *p* < 0.05 and \*\* < 0.001, paired *t*-tests). Treatment effect was significant for male and female (\* *p* < 0.05 two-way ANOVA repeated measures) mice. The synaptic efficacy (Ise) corresponds to the fEPSP/PFV ratio. In inserts are representative examples of superimposed traces recorded for 400 μA stimulation intensity in vehicle (filled line) and SB-271046 (dashed line).

Because 5-HT6Rs have been suggested to modulate GABA inhibition [32,52,53], we next monitored the effects of SB-271046 on NMDARs’ activation in the presence of the GABAARs’ antagonist bicuculline (Figure 2). In these additive experiments, the 5-HT6Rs’

antagonist was applied at 10  $\mu\text{M}$  to induce the reproducible increase in NMDARs activation found in the control conditions. On the one hand, we did not observe any detectable effect of bicuculline (10  $\mu\text{M}$ ) prior to SB-271046 application in male mice; this held true regardless of the intensity of stimulation. Conversely, a significant increase was found in female mice but only for the 500  $\mu\text{A}$  stimulation intensity. On the other hand, the increase in NMDARs' activation by SB-271046 was suppressed by bicuculline in male mice (Figure 2A), whereas a significant enhancement persisted in female mice (Figure 2B).

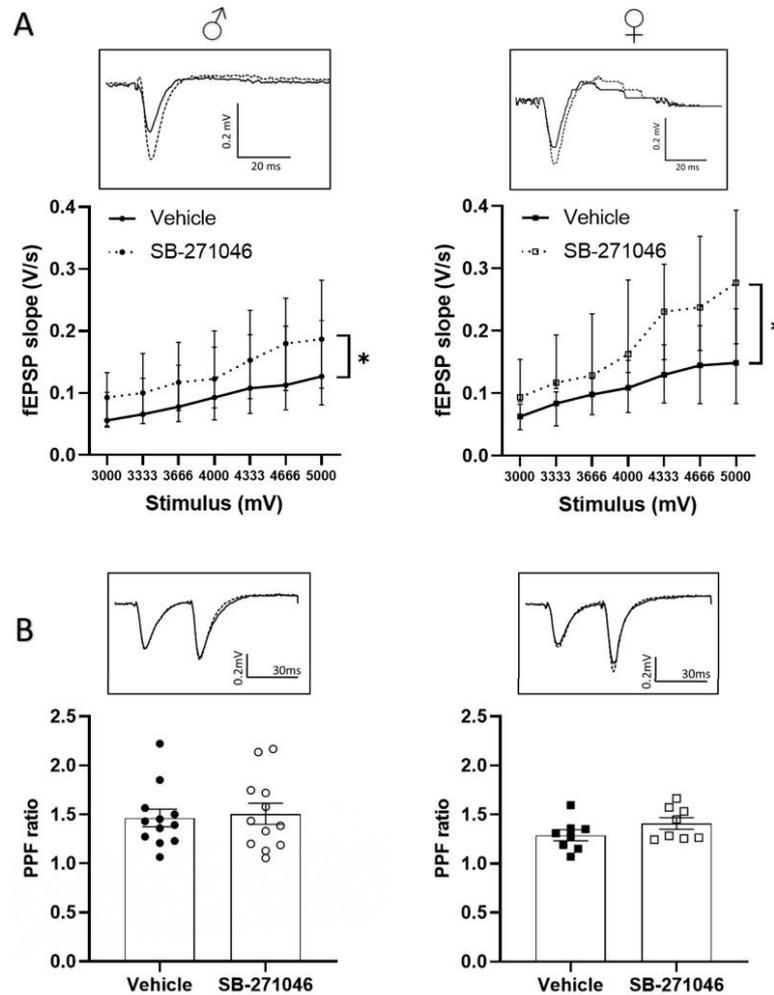


**Figure 2.** The potentiating effect of SB-271046 on NMDARs' activation involves GABAergic transmission in male but not female mice. Effects of SB-271046 application (10  $\mu\text{M}$ ) on synaptic efficacy (Ise) of NMDARs-mediated fEPSPs determined at 400 and 500  $\mu\text{A}$  stimulation intensities in the presence of the GABAARs antagonist bicuculline (Bic, 10  $\mu\text{M}$ ) in male (A) (mean + SEM,  $n = 10$  slices) and female (B) mice (mean + SEM,  $n = 13$  slice, \*  $p < 0.05$ , paired  $t$ -tests). In inserts are representative examples of superimposed traces recorded in vehicle aCSF (orange line), in the presence of bicuculline before (blue line) and after addition of SB-271046 (pink line).

### 3.2. Effects of SB-271046 on Basal Synaptic Transmission

We next determined whether the 5-HT<sub>6</sub>R antagonist could also alter the non-NMDARs-mediated fEPSPs supporting basal synaptic transmission. In these experiments, we assessed the effects of 10  $\mu\text{M}$  SB-271046 on the fEPSPs induced in the control aCSF by intensities of stimulation ranging from 3000 to 5000 mV. A significant increase in non-NMDARs fEPSPs by SB-271046 was found compared with that produced by the vehicle treatment in both male and female mice regardless of the intensity of the stimulation (Figure 3A).

Basal neurotransmission depends on the presynaptic release of glutamate, which can be experimentally assessed by the paired-pulse facilitation (PPF) paradigm (see [54,55]). In both male and female mice, a significant PPF was induced using paired stimulation separated by a 30 ms interval, which was not statistically different between the vehicle and SB-271046 (Figure 3B).

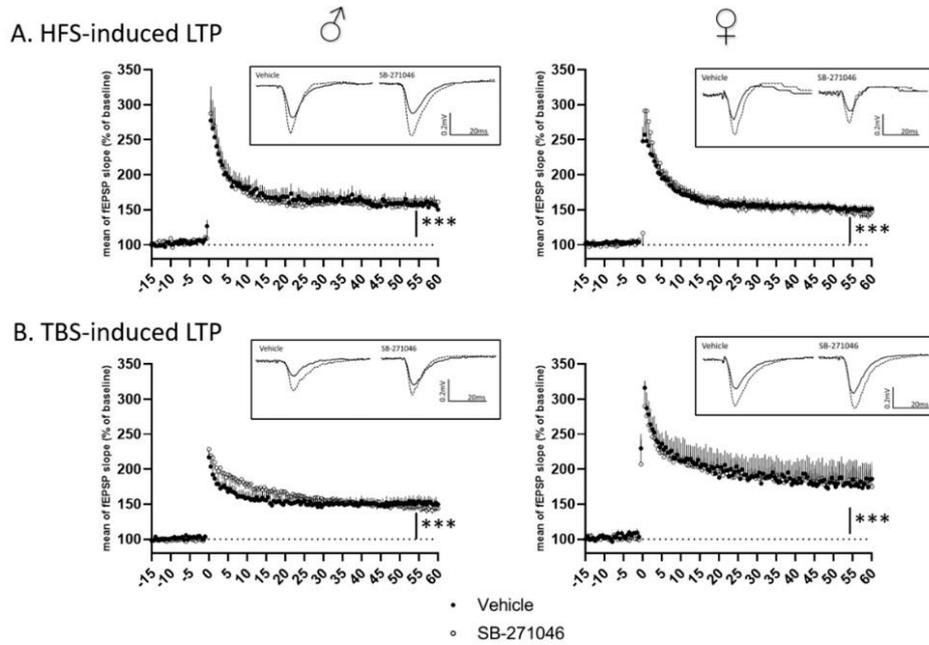


**Figure 3.** SB-271046 increases basal transmission without affecting mechanisms underlying presynaptic release of glutamate (A) Effect of SB-271046 (10  $\mu$ M, dotted line) vs. vehicle (full line) on non-NMDARs-mediated fEPSPs (median  $\pm$  interquartile range) induced by increasing stimulus voltages in male (left,  $n = 11$  slices,  $* p < 0.05$ , Wilcoxon paired test) and female mice (right,  $n = 8$  slices, Wilcoxon paired test:  $* p < 0.05$ ). (B) Paired pulse facilitation (PPF, mean  $\pm$  SEM) ratio calculated in presence of SB-271046 (hollow circle and square dots) or vehicle (black circle and square dots) in male (left,  $n = 12$  slices) and female mice (right,  $n = 8$  slices). In inserts are representative examples of superimposed traces recorded for 4000 mV stimulus voltages in vehicle (filled line) and SB-271046 (dashed line).

### 3.3. Effects of SB-271046 on Functional Plasticity

Considering the potentiation effect of SB-271046 on NMDARs' activation, we finally assessed NMDARs-dependent functional plasticity using high-frequency stimulation (HFS) and theta-burst stimulation (TBS) in hippocampal slices from male and female mice. In both HFS- and TBS-related experiments (Figure 4), the mean fEPSPs' magnitude (percent of increase relative to the baseline, from 5 to 15 min and 45 to 60 min after the tetanus for short-term potentiation (STP) and long-term potentiation (LTP), respectively) was significantly increased indicating that STP and LTP were promoted in all cases. For both HFS- and

TBS-related protocols (Figure 4A,B), the magnitudes of STP and LTP did not differ between the vehicle and SB-271046 (10  $\mu$ M) treatments (Table 1).



**Figure 4.** Long-term potentiation is not altered by SB-271046. (A) Time-course of high-frequency stimulation (HFS)-induced long-term potentiation (LTP) in vehicle and in presence of SB-271046 (10  $\mu$ M) in male (left, vehicle  $n = 9$  slices vs. SB-271046  $n = 8$  slices) and female (right, vehicle  $n = 12$  slices vs. SB-271046  $n = 10$  slices) mice. (B) Time course of theta-burst stimulation (TBS)-induced LTP in vehicle and in presence of SB-271046 (10  $\mu$ M) in male (left, vehicle  $n = 10$  slices vs. SB-271046  $n = 9$  slices) and female (right, vehicle  $n = 5$  slices vs. SB-271046  $n = 5$  slices) mice. Vehicle condition is represented by black dots and SB-271046 by white dots. Short-term potentiation (5–15 min; STP) and LTP (45–60 min) are promoted by both HFS and TBS in male and female mice compared with baseline (\*\* $p < 0.0001$ , two-way ANOVA, time effect). In inserts are representative examples of superimposed traces recorded before (filled line) and 60 min (dashed line) after the conditioning stimulation in vehicle or SB-271046 conditions.

**Table 1.** SB-271046 has no effect on the magnitude of short- or long-term potentiation. Mean values of the magnitude of high-frequency stimulation (HFS)- and theta-burst stimulation (TBS)-induced short-term potentiation (5–15 min; STP) and long-term potentiation (45–60 min; LTP) in control and SB-271046-supplemented aCSF (10  $\mu$ M) in male and female mice.

		HFS		TBS	
		STP	LTP	STP	LTP
Male	Vehicle	180.6 $\pm$ 13.35%	158.2 $\pm$ 8.45%	160.5 $\pm$ 8.97%	180.1 $\pm$ 17.67%
	SB-271046	174.5 $\pm$ 8.56%	157.6 $\pm$ 8.13%	177.0 $\pm$ 6.91%	181.2 $\pm$ 28.48%
Female	Vehicle	166.6 $\pm$ 6.50%	148.0 $\pm$ 2.87%	216.8 $\pm$ 5.62%	151.1 $\pm$ 7.62%
	SB-271046	181.7.5 $\pm$ 8.85%	148.5 $\pm$ 4.44%	211.7 $\pm$ 28.76%	146.2 $\pm$ 4.48%

#### 4. Discussion

This electrophysiological study aimed to investigate the effects of the blockade of subtype 6 of the serotonergic receptors (5-HT<sub>6</sub>R) on the synaptic activity of CA1 neuronal

networks in *ex vivo* hippocampal slice preparations of male and female mice. It was found that in both sexes, the 5-HT<sub>6</sub>R antagonist SB-271046 increases synaptic-glutamate-related synaptic potentials mediated by NMDARs and non-NMDARs without affecting glutamate release. Interestingly, the NMDARs-related improvement was prevented by GABAARs blockade only in male mice, indicating a sex-dependent involvement of inhibitory transmission. Finally, this study found that although 5-HT<sub>6</sub>R blockade increases NMDARs activation, it does not significantly impact the related NMDARs-dependent functional plasticity at CA3/CA1 synapses.

Cloned in 1993 [7], the 5-HT<sub>6</sub>R, which belongs to the family of Gs-protein-coupled receptors, are located in brain regions involved in cognitive functions such as the cortex, striatum, or hippocampus. This localization allows the identification of these receptors as putative new targets for the development of alternative treatments aimed at preventing cognitive-related disabilities [1,3,7,36,56]. The pharmacological blockade of 5-HT<sub>6</sub>R by the selective antagonist SB-271046 [57] leads to increases in the dopamine, acetylcholine, and glutamate levels in the hippocampus of rats [28–31] and improves memory performances in numerous behavioral paradigms [15,19,20,22,58]. The promnesiant effect of 5-HT<sub>6</sub>R blockade on recognition memory has been shown to be dependent on close interactions with the glutamatergic system in mice [27] and rats [59], though the molecular mechanisms still remain unclear. Our electrophysiological study provides functional evidence for a tonic modulation of glutamate-related synaptic activity by 5-HT<sub>6</sub>R in hippocampal neuronal networks. Indeed, we report that the low-frequency-induced synaptic potentials mediated by non-NMDARs as well as NMDARs are increased by antagonism of 5-HT<sub>6</sub>R. These results are in line with previous data of whole-cell patch-clamp electrophysiological recordings performed in the medium spiny neurons of the rat striatum. Indeed, this investigation revealed that, conversely, the activation of 5-HT<sub>6</sub>R by the agonist ST1936 reduced the amplitude of spontaneous glutamatergic postsynaptic currents [60]. Additionally, in agreement with this study, we found that the pharmacological manipulation of 5-HT<sub>6</sub>R does not alter the paired-pulse facilitation of synaptic transmission, a form of short-term plasticity used for assessing the calcium-dependent mechanisms of transmitter release. This result therefore indicates that 5-HT<sub>6</sub>R do not modulate glutamate transmission by changing synaptic glutamate release but rather by activating postsynaptic mechanisms in the neuronal network. Accordingly, we found that the facilitation effect of 5-HT<sub>6</sub>R antagonism on NMDARs activation is prevented by GABAARs blockade, suggesting changes in the excitation/inhibition balance. However, further experiments are still needed to detail the underlying mechanisms, including patch-clamp recordings, as performed by West et al. (2009), whose results are discussed below [42].

Several studies have investigated 5-HT<sub>6</sub>R localization on cell types, reporting that, in the hippocampus, these receptors are mainly expressed on excitatory pyramidal cells and on inhibitory GABA interneurons, though to a much weaker degree [3,33,35]. According to this presence on inhibitory cells, the agonist WAY-181187 increases the frequency of spontaneous inhibitory postsynaptic currents in the CA1 hippocampal area, an effect that is prevented by the selective 5-HT<sub>6</sub>R antagonist SB-399885 [42]. Interestingly, we provide here, for the first time, evidence for sexual dimorphism, given that the 5-HT<sub>6</sub>R antagonist affects NMDARs' activation through GABA modulation in male but not in female mice. Unfortunately, the morphological studies available so far have been conducted in male rodents and are therefore not informative for a possible sex difference in the cellular localization of 5-HT<sub>6</sub>R. Regardless, we can hypothesize that 5-HT<sub>6</sub>R rather indirectly control glutamate transmission in males through the modulation of the inhibitory tone, whereas they can directly act on pyramidal cells in females through changes in membrane excitability. In our opinion, this is an important observation because knowledge on sexual dimorphism in the healthy brain is of growing interest [43,61,62] and because sex dichotomy is often associated with brain disorders [63–66], particularly in the case of schizophrenia [45,46]. Interestingly, a clinical investigation using the 5-HT<sub>6</sub>R agonist inhibitor avisetron (AVN-211) reported the benefits of the drug only in women schizophrenia patients with residual psychotic

symptoms [49]. The conclusion of this clinical trial, emphasizing the impact of the patients' sex on the treatment response to the serotonergic compound, perfectly fits with the results of the present study, which reveal distinct 5-HT<sub>6</sub>R-related mechanisms driven in male and female mice. In addition, different levels of response to antipsychotic drugs (for example, clozapine, olanzapine and risperidone), used more conventionally to treat patients, were also found between men and women. Differences were observed for the effective dosage of antipsychotic drug to obtain a response, being usually higher in men than women, and the side effects of antipsychotics were more severe for women (for a review, see [47,48,67]). Thus, sex differences should be considered with caution in future clinical and preclinical studies, not only because there are differences in treatment responses but also because variability in disease onset, disease progression, and symptom onset are usually observed between men and women with schizophrenia [44]. Furthermore, several preclinical models of schizophrenia found sex-specific alterations in cognitive functions [45,68,69]. Our results provide evidence that this dichotomy is already present at the neuronal level, which should be taken into consideration for the development of a selective treatment.

Finally, our study shows that though the 5-HT<sub>6</sub>R antagonist increases the low-frequency-induced NMDARs synaptic potentials, it has no significant effect on the NMDARs-dependent LTP generated at the same synapses by high-frequency stimulation (either by HFS but also TBS which is more sensitive to variations in GABAergic tone than HFS). Our result could be contradictory with the attenuation of TBS-induced LTP promoted by the 5-HT<sub>6</sub>R agonist WAY-181187 at the same neuronal connections [42]. However, this latter study also indicated that the 5-HT<sub>6</sub>R antagonist SB-399885 tested alone did not affect LTP expression, as we found here with SB-271046. In addition to being used for preventing the effects of an agonist, the interest in testing an antagonist is to investigate whether the tonic activity of a specific receptor subtype is involved in the control of neuronal network activity or plasticity. From the results of the present study, we can therefore argue for a low, if any, tonic influence of 5-HT<sub>6</sub>R on functional synaptic plasticity, at least in the hippocampal slice preparations.

To conclude, the present study provides new informative data related to the synaptic interactions between 5-HT<sub>6</sub>R and glutamate neurotransmission in the hippocampus. We highlight the differential modulation by 5-HT<sub>6</sub>R of the excitatory/inhibitory balance within neuronal networks where male or female subjects are concerned. Indeed, we found an increase in the hippocampal network activity in male mice in particular through an action on the inhibitory tone, whereas a greater involvement of glutamatergic neurotransmission could be selective to female mice. These data could help in initiating new pharmacological strategies to treat the sex-dependent cognitive impairments notably associated with schizophrenia.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.-M.B. and V.B.; data curation, C.L. and J.-M.B.; writing—original draft, C.L., J.-M.B. and V.B.; writing—review and editing, C.L., J.-M.B., T.F. and V.B.; visualization: C.L. and J.-M.B. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by the University of Caen Normandy, Normandy Region, INSERM, and FHU A<sup>2</sup>M<sup>2</sup>P.

**Institutional Review Board Statement:** Experiments were performed in accordance with French and European Economic Community guidelines for the care and use of laboratory animals (2010/63/UE, project no. 2021102816063575 v2, date of approval 25 April 2022).

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data presented in this study are openly available at [<https://doi.org/10.5281/zenodo.7864762>].

**Acknowledgments:** The authors are grateful to Phuong Anh Nguyen for her helpful assistance.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

**References**

1. Ruat, M.; Traiffort, E.; Arrang, J.M.; Tardivellacombe, J.; Diaz, J.; Leurs, R.; Schwartz, J.C. A Novel Rat Serotonin (5-HT<sub>6</sub>) Receptor: Molecular Cloning, Localization and Stimulation of CAMP Accumulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *193*, 268–276. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Kohen, R.; Metcalf, M.A.; Khan, N.; Druck, T.; Huebner, K.; Lachowicz, J.E.; Meltzer, H.Y.; Sibley, D.R.; Roth, B.L.; Hamblin, M.W. Cloning, Characterization, and Chromosomal Localization of a Human 5-HT<sub>6</sub> Serotonin Receptor. *J. Neurochem.* **1996**, *66*, 47–56. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Woolley, M.L.; Marsden, C.A.; Fone, K.C.F. 5-HT<sub>6</sub> Receptors. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* **2004**, *3*, 59–79. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Bromidge, S.M.; Brown, A.M.; Clarke, S.E.; Dodgson, K.; Gager, T.; Grassam, H.L.; Jeffrey, P.M.; Joiner, G.F.; King, F.D.; Middlemiss, D.N.; et al. 5-Chloro-N-(4-Methoxy-3-Piperazin-1-Yl-Phenyl)-3-Methyl-2-Benzothiophenesulfonamide (SB-271046): A Potent, Selective, and Orally Bioavailable 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 202–205. [[CrossRef](#)]
5. Routledge, C.; Bromidge, S.M.; Moss, S.F.; Price, G.W.; Hirst, W.; Newman, H.; Riley, G.; Gager, T.; Stean, T.; Upton, N.; et al. Characterization of SB-271046: A Potent, Selective and Orally Active 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *130*, 1606–1612. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Roth, B.L.; Craigo, S.C.; Choudhary, M.S.; Uluer, A.; Monsma, F.J.; Shen, Y.; Meltzer, H.Y.; Sibley, D.R. Binding of Typical and Atypical Antipsychotic Agents to 5-Hydroxytryptamine-6 and 5-Hydroxytryptamine-7 Receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *268*, 1403–1410.
7. Monsma, F.J.; Shen, Y.; Ward, R.P.; Hamblin, M.W.; Sibley, D.R. Cloning and Expression of a Novel Serotonin Receptor with High Affinity for Tricyclic Psychotropic Drugs. *Mol. Pharmacol.* **1993**, *43*, 320–327.
8. Glatt, C.E.; Snowman, A.M.; Sibley, D.R.; Snyder, S.H. Clozapine: Selective Labeling of Sites Resembling 5HT<sub>6</sub> Serotonin Receptors May Reflect Psychoactive Profile. *Mol. Med.* **1995**, *1*, 398–406. [[CrossRef](#)]
9. Mørk, A.; Witten, L.M.; Arnt, J. Effect of Sertindole on Extracellular Dopamine, Acetylcholine, and Glutamate in the Medial Prefrontal Cortex of Conscious Rats: A Comparison with Risperidone and Exploration of Mechanisms Involved. *Psychopharmacology* **2009**, *206*, 39–49. [[CrossRef](#)]
10. Correll, C.U.; Howes, O.D. Treatment-Resistant Schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* **2021**, *82*, MY20096AH1C. [[CrossRef](#)]
11. Shimizu, S.; Mizuguchi, Y.; Ohno, Y. Improving the Treatment of Schizophrenia: Role of 5-HT Receptors in Modulating Cognitive and Extrapyramidal Motor Functions. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* **2013**, *12*, 861–869. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Nirogi, R.; Jayarajan, P.; Shinde, A.; Mohammed, A.R.; Grandhi, V.R.; Benade, V.; Goyal, V.K.; Abraham, R.; Jasti, V.; Cummings, J. Progress in Investigational Agents Targeting Serotonin-6 Receptors for the Treatment of Brain Disorders. *Biomolecules* **2023**, *13*, 309. [[CrossRef](#)]
13. Rosse, G.; Schaffhauser, H. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonists as Potential Therapeutics for Cognitive Impairment. *Curr. Top. Med. Chem.* **2010**, *10*, 207–221. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. De Bruin, N.; Kruse, C. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonists: Potential Efficacy for the Treatment of Cognitive Impairment in Schizophrenia. *Curr. Pharm. Des.* **2015**, *21*, 3739–3759. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Da Silva Costa-Aze, V.; Quiedeville, A.; Boulouard, M.; Dauphin, F. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Blockade Differentially Affects Scopolamine-Induced Deficits of Working Memory, Recognition Memory and Aversive Learning in Mice. *Psychopharmacology* **2012**, *222*, 99–115. [[CrossRef](#)]
16. Foley, A.G.; Murphy, K.J.; Hirst, W.D.; Gallagher, H.C.; Hagan, J.J.; Upton, N.; Walsh, F.S.; Regan, C.M. The 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist SB-271046 Reverses Scopolamine-Disrupted Consolidation of a Passive Avoidance Task and Ameliorates Spatial Task Deficits in Aged Rats. *Neuropsychopharmacology* **2004**, *29*, 93–100. [[CrossRef](#)]
17. Loiseau, F.; Dekeyne, A.; Millan, M.J. Pro-Cognitive Effects of 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonists in the Social Recognition Procedure in Rats: Implication of the Frontal Cortex. *Psychopharmacology* **2008**, *196*, 93–104. [[CrossRef](#)]
18. Kendall, I.; Slotten, H.A.; Codony, X.; Burgueño, J.; Pauwels, P.J.; Vela, J.M.; Fone, K.C.F. E-6801, a 5-HT<sub>6</sub> Receptor Agonist, Improves Recognition Memory by Combined Modulation of Cholinergic and Glutamatergic Neurotransmission in the Rat. *Psychopharmacology* **2011**, *213*, 413–430. [[CrossRef](#)]
19. Da Silva Costa-Aze, V.; Dauphin, F.; Boulouard, M. Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Receptor Blockade Reverses the Age-Related Deficits of Recognition Memory and Working Memory in Mice. *Behav. Brain Res.* **2011**, *222*, 134–140. [[CrossRef](#)]
20. King, M.V.; Marsden, C.A.; Fone, K.C.F. A Role for the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>4</sub> and 5-HT<sub>6</sub> Receptors in Learning and Memory. *Trends Pharmacol. Sci.* **2008**, *29*, 482–492. [[CrossRef](#)]
21. Marcos, B.; Chuang, T.T.; Gil-Bea, F.J.; Ramirez, M.J. Effects of 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonism and Cholinesterase Inhibition in Models of Cognitive Impairment in the Rat. *Br. J. Pharmacol.* **2008**, *155*, 434–440. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Quiedeville, A.; Boulouard, M.; Hamidouche, K.; Da Silva Costa-Aze, V.; Nee, G.; Rochais, C.; Dallemagne, P.; Fabis, F.; Freret, T.; Bouet, V. Chronic Activation of 5-HT<sub>4</sub> Receptors or Blockade of 5-HT<sub>6</sub> Receptors Improve Memory Performances. *Behav. Brain Res.* **2015**, *293*, 10–17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Amodeo, D.A.; Peterson, S.; Pahua, A.; Posadas, R.; Hernandez, A.; Hefner, E.; Qi, D.; Vega, J. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Agonist EMD386088 Impairs Behavioral Flexibility and Working Memory. *Behav. Brain Res.* **2018**, *349*, 8–15. [[CrossRef](#)]
24. Suárez-Santiago, J.E.; Roldán Roldán, G.; Picazo Picazo, O. The 5-HT<sub>6R</sub> Agonist E-6837 and the Antagonist SB-271046 Reverse the Psychotic-like Behaviors Induced by Ketamine. *Behav. Pharmacol.* **2022**, *33*, 249–254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

25. Sun, Z.; Wang, B.; Chen, C.; Li, C.; Zhang, Y. 5-HT<sub>6</sub>R Null Mutation Induces Synaptic and Cognitive Defects. *Aging Cell* **2021**, *20*, e13369. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Hirst, W.D.; Stean, T.O.; Rogers, D.C.; Sunter, D.; Pugh, P.; Moss, S.F.; Bromidge, S.M.; Riley, G.; Smith, D.R.; Bartlett, S.; et al. SB-399885 Is a Potent, Selective 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist with Cognitive Enhancing Properties in Aged Rat Water Maze and Novel Object Recognition Models. *Eur. J. Pharmacol.* **2006**, *553*, 109–119. [[CrossRef](#)]
27. Asselot, R.; Simon-O'Brien, E.; Lebourgeois, S.; Nee, G.; Delaunay, V.; Duchatelle, P.; Bouet, V.; Dauphin, F. Time-Dependent Impact of Glutamatergic Modulators on the Promnesiant Effect of 5-HT<sub>6</sub>R Blockade on Mice Recognition Memory. *Pharmacol. Res.* **2017**, *118*, 111–118. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Lacroix, L.P.; Dawson, L.A.; Hagan, J.J.; Heidbreder, C.A. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist SB-271046 Enhances Extracellular Levels of Monoamines in the Rat Medial Prefrontal Cortex. *Synapse* **2004**, *51*, 158–164. [[CrossRef](#)]
29. Dawson, L.A.; Nguyen, H.Q.; Li, P. In Vivo Effects of the 5-HT<sub>6</sub> Antagonist SB-271046 on Striatal and Frontal Cortex Extracellular Concentrations of Noradrenaline, Dopamine, 5-HT, Glutamate and Aspartate. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *130*, 23–26. [[CrossRef](#)]
30. Dawson, L.A.; Nguyen, H.Q.; Li, P. The 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist SB-271046 Selectively Enhances Excitatory Neurotransmission in the Rat Frontal Cortex and Hippocampus. *Neuropsychopharmacology* **2001**, *25*, 662–668. [[CrossRef](#)]
31. Dawson, L.A.; Li, P. Effects of 5-HT<sub>6</sub> Receptor Blockade on the Neurochemical Outcome of Antidepressant Treatment in the Frontal Cortex of the Rat. *J. Neural Transm.* **2003**, *110*, 577–590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Schechter, L.E.; Lin, Q.; Smith, D.L.; Zhang, G.; Shan, Q.; Platt, B.; Brandt, M.R.; Dawson, L.A.; Cole, D.; Bernotas, R.; et al. Neuropharmacological Profile of Novel and Selective 5-HT<sub>6</sub> Receptor Agonists: WAY-181187 and WAY-208466. *Neuropsychopharmacology* **2008**, *33*, 1323–1335. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Helboe, L.; Egebjerg, J.; de Jong, I.E.M. Distribution of Serotonin Receptor 5-HT<sub>6</sub> MRNA in Rat Neuronal Subpopulations: A Double In Situ Hybridization Study. *Neuroscience* **2015**, *310*, 442–454. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Chaumont-Dubel, S.; Dupuy, V.; Bockaert, J.; Bécamel, C.; Marin, P. The 5-HT<sub>6</sub> Receptor Interactome: New Insight in Receptor Signaling and Its Impact on Brain Physiology and Pathologies. *Neuropharmacology* **2020**, *172*, 107839. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Dupuy, V.; Prieur, M.; Pizzoccaro, A.; Margarido, C.; Valjent, E.; Bockaert, J.; Bouschet, T.; Marin, P.; Chaumont-Dubel, S. Spatiotemporal Dynamics of 5-HT<sub>6</sub> Receptor Ciliary Localization during Mouse Brain Development. *Neurobiol. Dis.* **2023**, *176*, 105949. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Chaumont-Dubel, S.; Galant, S.; Prieur, M.; Bouschet, T.; Bockaert, J.; Marin, P. Impact of 5-HT<sub>6</sub> Receptor Subcellular Localization on Its Signaling and Its Pathophysiological Roles. *Cells* **2023**, *12*, 426. [[CrossRef](#)]
37. Morris, R.G.; Davis, S.; Butcher, S.P. Hippocampal Synaptic Plasticity and NMDA Receptors: A Role in Information Storage? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **1990**, *329*, 187–204. [[CrossRef](#)]
38. Bliss, T.V.P.; Collingridge, G.L. A Synaptic Model of Memory: LTP in the Hippocampus. *Nature* **1993**, *361*, 31–39. [[CrossRef](#)]
39. Izquierdo, I.; Medina, J.H. Correlation between the Pharmacology of Long-Term Potentiation and the Pharmacology of Memory. *Neurobiol. Learn. Mem.* **1995**, *63*, 19–32. [[CrossRef](#)]
40. Lisman, J.E.; McIntyre, C.C. Synaptic Plasticity: A Molecular Memory Switch. *Curr. Biol.* **2001**, *11*, 788–791. [[CrossRef](#)]
41. Kim, S.J.; Linden, D.J. Ubiquitous Plasticity and Memory Storage. *Neuron* **2007**, *56*, 582–592. [[CrossRef](#)]
42. West, P.J.; Marcy, V.R.; Marino, M.J.; Schaffhauser, H. Activation of the 5-HT<sub>6</sub> Receptor Attenuates Long-Term Potentiation and Facilitates GABAergic Neurotransmission in Rat Hippocampus. *Neuroscience* **2009**, *164*, 692–701. [[CrossRef](#)]
43. Ivan, S.; Daniela, O.; Jaroslava, B.D. Sex Differences Matter: Males and Females Are Equal but Not the Same. *Physiol. Behav.* **2023**, *259*, 114038. [[CrossRef](#)]
44. Abel, K.M.; Drake, R.; Goldstein, J.M. Sex Differences in Schizophrenia. *Int. Rev. Psychiatry* **2010**, *22*, 417–428. [[CrossRef](#)]
45. Leger, M.; Neill, J.C. A Systematic Review Comparing Sex Differences in Cognitive Function in Schizophrenia and in Rodent Models for Schizophrenia, Implications for Improved Therapeutic Strategies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2016**, *68*, 979–1000. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Mendrek, A.; Mancini-Marie, A. Sex/Gender Differences in the Brain and Cognition in Schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2016**, *67*, 57–78. [[CrossRef](#)]
47. Crawford, M.B.; DeLisi, L.E. Issues Related to Sex Differences in Antipsychotic Treatment. *Curr. Opin. Psychiatry* **2016**, *29*, 211–217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Rabinowitz, J.; Werbeloff, N.; Caers, I.; Mandel, F.S.; Stauffer, V.; Ménard, F.; Kinon, B.J.; Kapur, S. Determinants of Antipsychotic Response in Schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* **2014**, *75*, e308–e316. [[CrossRef](#)]
49. Morozova, M.; Burminskiy, D.; Rupchev, G.; Lepilkina, T.; Potanin, S.; Beniashvili, A.; Lavrovsky, Y.; Vostokova, N.; Ivaschenko, A. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonist as an Adjunct Treatment Targeting Residual Symptoms in Patients with Schizophrenia: Unexpected Sex-Related Effects (Double-Blind Placebo-Controlled Trial). *J. Clin. Psychopharmacol.* **2017**, *37*, 169–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Anderson, W.W.; Collingridge, G.L. The LTP Program: A Data Acquisition Program for on-Line Analysis of Long-Term Potentiation and Other Synaptic Events. *J. Neurosci. Methods* **2001**, *108*, 71–83. [[CrossRef](#)]
51. Anderson, W.W.; Collingridge, G.L. Capabilities of the WinLTP Data Acquisition Program Extending beyond Basic LTP Experimental Functions. *J. Neurosci. Methods* **2007**, *162*, 346–356. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Mitchell, E.S.; Neumaier, J.F. 5-HT<sub>6</sub> Receptors: A Novel Target for Cognitive Enhancement. *Pharmacol. Ther.* **2005**, *108*, 320–333. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

53. Doleviczényi, Z.; Vizi, E.S.; Gacsályi, I.; Pallagi, K.; Volk, B.; Hársing, L.G.; Halmos, G.; Lendvai, B.; Zelles, T. 5-HT<sub>6/7</sub> Receptor Antagonists Facilitate Dopamine Release in the Cochlea via a GABAergic Disinhibitory Mechanism. *Neurochem. Res.* **2008**, *33*, 2364–2372. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Creager, B.Y.R.; Dunwiddiet, T.; Lynch, G. Paired-Pulse and Frequency Facilitation in the Cai Region. *Physiol. Soc.* **1980**, *299*, 409–424.
55. Wigström, H.; Gustafsson, B. Two Types of Synaptic Facilitation Recorded in Pyramidal Cells of in Vitro Hippocampal Slices from Guinea Pigs. *Neurosci. Lett.* **1981**, *26*, 73–78. [[CrossRef](#)]
56. Gérard, C.; Martres, M.P.; Lefèvre, K.; Miquel, M.C.; Vergé, D.; Lanfumey, L.; Doucet, E.; Hamon, M.; El Mestikawy, S. Immune-Localization of Serotonin 5-HT<sub>6</sub> Receptor-like Material in the Rat Central Nervous System. *Brain Res.* **1997**, *746*, 207–219. [[CrossRef](#)]
57. Miguel-Hidalgo, J.J. SB-271046 (SmithKline Beecham). *Curr. Opin. Investig. Drugs* **2001**, *2*, 118–122.
58. Rogers, D.C.; Hagan, J.J. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonists Enhance Retention of a Water Maze Task in the Rat. *Psychopharmacology* **2001**, *158*, 114–119. [[CrossRef](#)]
59. King, M.V.; Sleight, A.J.; Woolley, M.L.; Topham, I.A.; Marsden, C.A.; Fone, K.C.F. 5-HT<sub>6</sub> Receptor Antagonists Reverse Delay-Dependent Deficits in Novel Object Discrimination by Enhancing Consolidation—An Effect Sensitive to NMDA Receptor Antagonism. *Neuropharmacology* **2004**, *47*, 195–204. [[CrossRef](#)]
60. Tassone, A.; Madeo, G.; Sciamanna, G.; Pisani, A.; Bonsi, P. *Electrophysiology of 5-HT<sub>6</sub> Receptors*; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2010; Volume 94, ISBN 9780123849762.
61. Marrocco, J.; McEwen, B.S. Sex in the Brain: Hormones and Sex Differences. *Dialogues Clin. Neurosci.* **2016**, *18*, 373–383. [[CrossRef](#)]
62. Bauer, G.R. Sex and Gender Multidimensionality in Epidemiologic Research. *Am. J. Epidemiol.* **2022**, *192*, 122–132. [[CrossRef](#)]
63. Meoni, S.; Macerollo, A.; Moro, E. Sex Differences in Movement Disorders. *Nat. Rev. Neurol.* **2020**, *16*, 84–96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Mauvais-Jarvis, F.; Bairey Merz, N.; Barnes, P.J.; Brinton, R.D.; Carrero, J.-J.; DeMeo, D.L.; De Vries, G.J.; Epperson, C.N.; Govindan, R.; Klein, S.L.; et al. Sex and Gender: Modifiers of Health, Disease, and Medicine. *Lancet* **2020**, *396*, 565–582. [[CrossRef](#)]
65. Zalewska, T.; Pawelec, P.; Ziabska, K.; Ziemka-Nalecz, M. Sexual Dimorphism in Neurodegenerative Diseases and in Brain Ischemia. *Biomolecules* **2023**, *13*, 26. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Pillerová, M.; Pastorek, M.; Borbélyová, V.; Riljak, V.; Frick, K.M.; Hodosy, J.; Tóthová, L. Sex Steroid Hormones in Depressive Disorders as a Basis for New Potential Treatment Strategies. *Physiol. Res.* **2022**, *71*, S187–S202. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Seeman, M.V. Men and Women Respond Differently to Antipsychotic Drugs. *Neuropharmacology* **2020**, *163*, 107631. [[CrossRef](#)]
68. Bouet, V.; Percelay, S.; Leroux, E.; Diarra, B.; Léger, M.; Delcroix, N.; Andrieux, A.; Dollfus, S.; Freret, T.; Boulouard, M. A New 3-Hit Mouse Model of Schizophrenia Built on Genetic, Early and Late Factors. *Schizophr. Res.* **2021**, *228*, 519–528. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Kekesi, G.; Petrovski, Z.; Benedek, G.; Horvath, G. Sex-Specific Alterations in Behavioral and Cognitive Functions in a “Three Hit” Animal Model of Schizophrenia. *Behav. Brain Res.* **2015**, *284*, 85–93. [[CrossRef](#)]

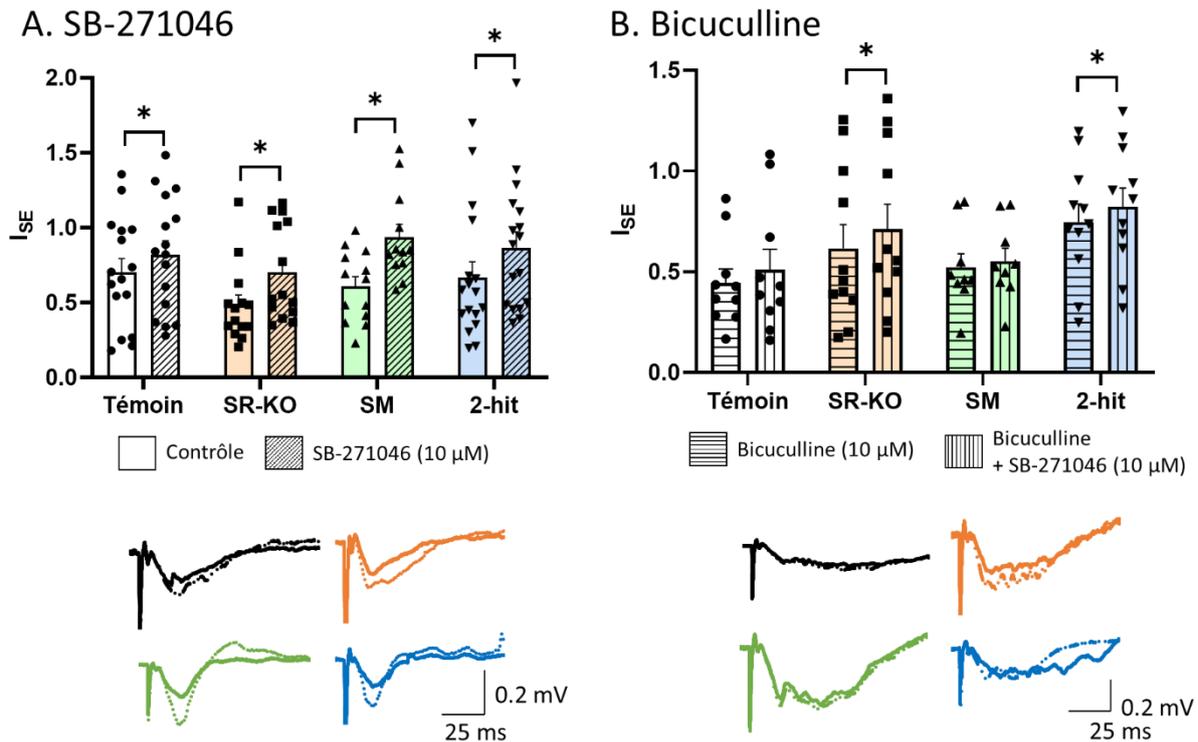
**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

#### **4.5. Etude électrophysiologique complémentaire à l'article 2**

Au vu des résultats comportementaux obtenus lors de l'Etude comportementale complémentaire à l'article 1 et des résultats électrophysiologiques obtenus chez des souris témoins dans le cadre de l'Article 2, nous avons voulu évaluer les effets du SB-271046 sur la neurotransmission glutamatergique dans l'hippocampe du modèle 2-hit. Nous avons montré que le blocage des 5-HT6R par le SB-271046 permettait de faciliter la neurotransmission glutamatergique dans l'hippocampe quel que soit le groupe expérimental sans impacter la plasticité synaptique hippocampique. Les mécanismes sous-jacents au blocage des 5-HT6R seraient également dépendant génotype (C57BL/6J vs SR-KO) avec une action soit directement au niveau de l'inhibition GABAergique, soit directement au niveau des neurones pyramidaux de l'hippocampe.

##### **(1) Effet du SB-271046 sur l'activation des NMDAR**

Comme nous l'avons observé dans le groupe témoin, ainsi que dans tous les groupes expérimentaux (Figure 30), le blocage des 5-HT6R a induit une augmentation de l'activation des NMDAR à une dose de 10  $\mu$ M. De manière intéressante, le blocage des GABAR par la bicuculline n'a pas affecté l'augmentation de l'activation des NMDAR sous SB-271046 pour le groupe SR-KO et 2-hit. Cependant, l'augmentation de l'activation des NMDAR sous SB-271046 a été prévenue par la bicuculline pour le groupe témoin et SM. Ces résultats suggèrent ainsi un mécanisme d'action des 5-HT6R différent entre les souris du génotype C57BL/6J et celles du génotype SR-KO.

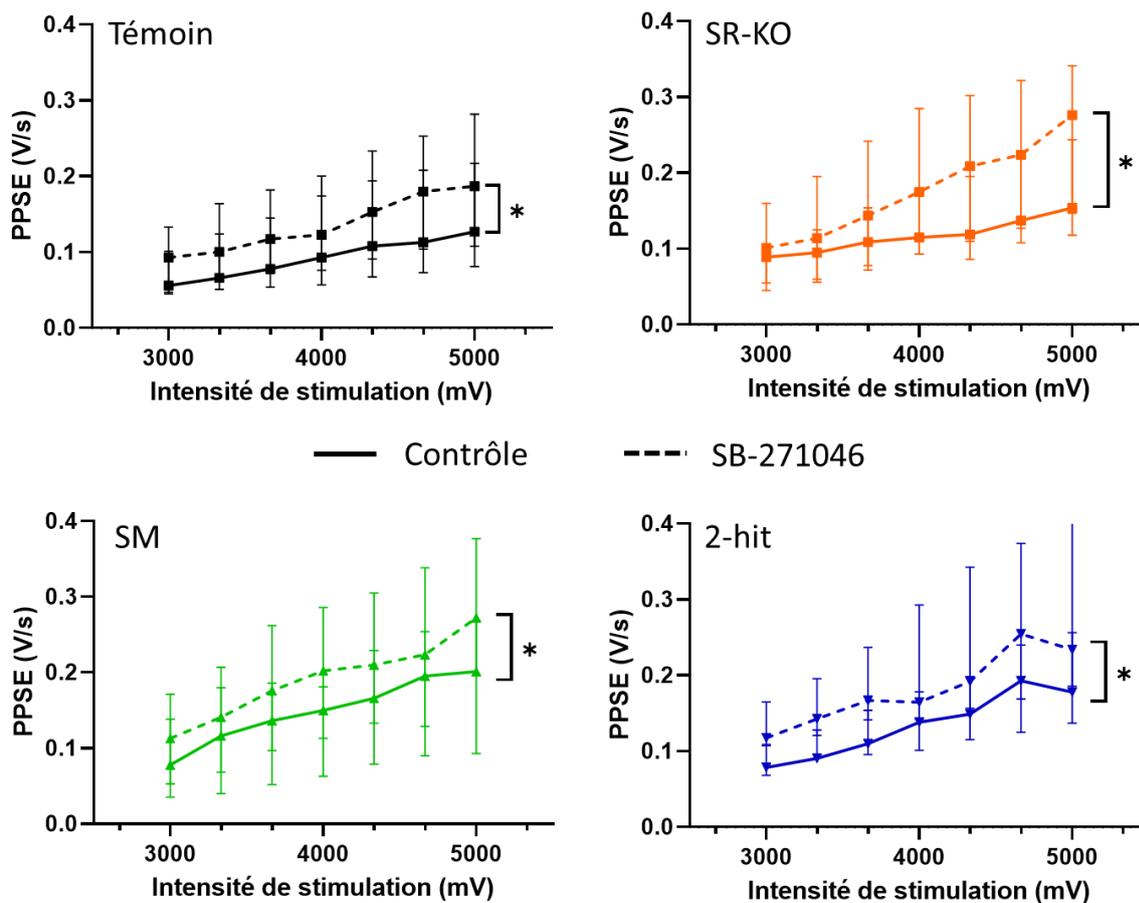


**Figure 30. Effet du blocage des 5-HT6R sur l'activation des NMDAR.**

Effet du SB-271046 (10 μM) sur l'efficacité synaptique ( $I_{SE}$ ) à 400 μA en condition contrôle (A) ou en présence de bicuculline (B) dans les groupes SR-KO, séparation maternelle (SM) et 2-hit. En dessous des histogrammes, exemples de tracés des champs NMDA obtenus pour chaque groupe. T-test apparié : \* < 0.05, data représentés en moyennes + SEM. Les données du groupe témoin pour la bicuculline proviennent de l'article 2.

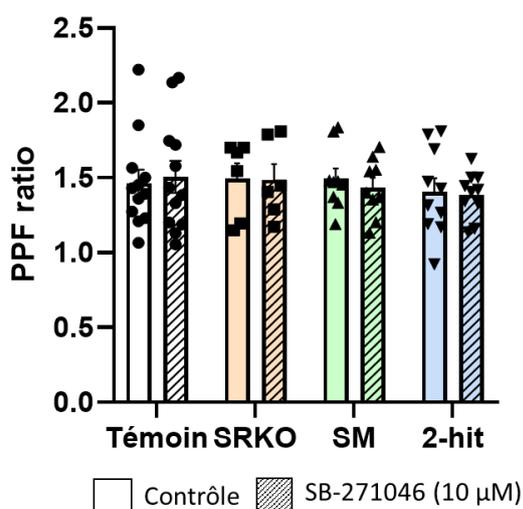
## (2) Evaluation de la transmission glutamatergique basale

Comme nous l'avons observé chez le groupe témoin, chez les trois groupes expérimentaux, SR-KO, SM et 2-hit, le blocage des 5-HT6R augmente de manière significative les PPSE non-NMDAR déterminés à des intensités de stimulation allant de 3000 mV à 5000 mV (Figure 31). D'autre part, comme pour le groupe témoin, le SB-271046 n'affecte pas la PPF et n'a donc aucun effet sur les mécanismes de libération du glutamate dans les trois autres groupes expérimentaux (Figure 32).



**Figure 31. Le blocage des 5-HT6Rs augmente la transmission glutamatergique de base dans l'hippocampe dans tous les groupes, témoin, SR-KO, séparation maternelle (SM) et 2-hit.**

Comparaison des PPSE non-NMDARs induits par des stimulations croissantes (de 3000 mV à 5000 mV, en condition contrôle (trait plein) et avec SB-271046 (10  $\mu$ M, trait pointillé. Wilcoxon *paired test* : \* <0.05. Données représentées en médiane  $\pm$  quartiles. Le graphique du groupe témoin provient de l'article 2



**Figure 32. Le blocage des 5-HT6Rs ne modifie pas la libération du glutamate.**

Comparaison de la moyenne des *paired-pulse facilitation* (PPF) en condition contrôle (non hachuré) et sous SB-271046 (10  $\mu$ M, histogramme hachuré) dans le groupe SR-KO, séparation maternelle (SM) et 2-hit. Les données du groupe témoin proviennent de l'article 2.

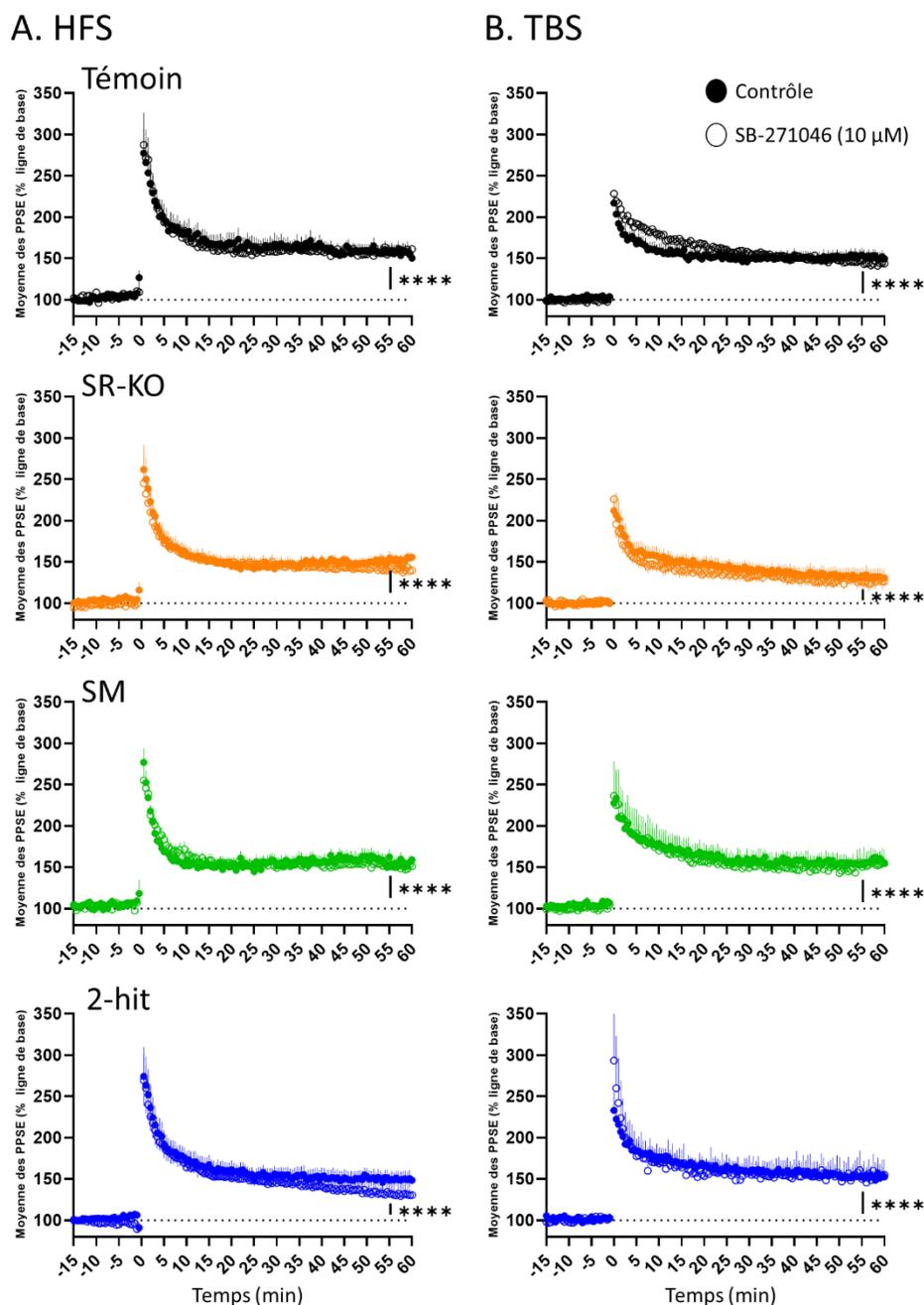
### (3) Evaluation de la transmission glutamatergique basale

En dernier lieu, nous avons évalué les effets du blocage des 5-HT<sub>6</sub>R sur la plasticité synaptique NMDAR-dépendante dans les modèles à travers les deux protocoles de stimulation HFS et TBS. Une augmentation de l'amplitude des PPSE par rapport à la ligne de base, de 5 à 15 min pour la PCT et de 45 à 65 min pour la PLT, a été observée dans tous les groupes indiquant que le phénomène de plasticité a bien été induit à la suite des deux types de stimulation. Nous n'avons trouvé aucun effet du blocage des 5-HT<sub>6</sub>R, ni avec le protocole HFS ni TBS et ce, pour tous les groupes (Figure 33). L'amplitude moyenne de la PCT comme de la PLT n'était pas différente entre les groupes expérimentaux et entre la condition contrôle et SB-271046 (Tableau 9).

**Tableau 9. Tableau récapitulatif des pourcentages moyens de potentialisation sous traitement pharmacologique.**

Valeurs moyennes ( $\pm$  SEM) de l'amplitude de la potentialisation à court terme (5-15 min, PCT) et à long terme (45-60 min, PLT) pour le protocole de *High frequency stimulation* (HFS) et *theta burst stimulation* (TBS) en condition contrôle et avec SB-271046 (10  $\mu$ M). Les résultats du groupe témoin proviennent de l'article 2.

		HFS		TBS	
		PCT	PLT	PCT	PLT
Témoin	Contrôle	180.6 $\pm$ 13.35	158.2 $\pm$ 8.45	160.5 $\pm$ 8.97	180.1 $\pm$ 17.67
	SB-271046	174.5 $\pm$ 8.56	157.6 $\pm$ 8.13	177.0 $\pm$ 6.91	181.2 $\pm$ 28.48
SR-KO	Contrôle	158.6 $\pm$ 7.18	146.6 $\pm$ 6.60	176.6 $\pm$ 11.63	131.9 $\pm$ 11.30
	SB-271046	160,7 $\pm$ 11,32	141.7 $\pm$ 8.27	150.8 $\pm$ 5.87	130.2 $\pm$ 7.92
SM	Contrôle	157.8 $\pm$ 5.69	154.2 $\pm$ 8.37	155.2 $\pm$ 17.06	155.7 $\pm$ 6.93
	SB-271046	165.4 $\pm$ 6.99	152.9 $\pm$ 10.91	174.7 $\pm$ 24.00	154.7 $\pm$ 17.33
2-hit	Contrôle	174.9 $\pm$ 12.8	150.1 $\pm$ 9.23	174.6 $\pm$ 9.64	152.0 $\pm$ 7.22
	SB-271046	169.5 $\pm$ 9.94	133.4 $\pm$ 7.88	170.2 $\pm$ 9.72	153.9 $\pm$ 17.72



**Figure 33. La plasticité synaptique n'est pas altérée en présence de SB-271046 quel que soit le groupe expérimental**

Suivi temporel de la potentialisation à long terme (PLT) induite (A) par une stimulation à haute fréquence (*High frequency stimulation*, HFS), ou (B) par une stimulation à la fréquence theta (*Theta burst stimulation*, TBS) en condition contrôle (points foncés) et sous SB-271046 10 µM, (points clairs) en fonction du groupe SR-KO, séparation maternelle (SM) et 2-hit. Une potentialisation à court terme (5-15 min ; PCT) et la PLT (45-60 min) est observée quel que soit le protocole HFS et TBS et dans tous les groupes (ANOVA à deux facteurs : effet temps \*\*\*\* <0.0001).

Pris dans leur ensemble, ces résultats montrent l'importance des systèmes GABAergique et glutamatergique pour le bon fonctionnement synaptique des réseaux neuronaux dans les conditions normales mais, également dans le cadre d'un traitement.

## **Discussion générale**

## | Discussion générale

Deux grands objectifs étaient recherchés dans cette thèse. Le premier était de valider un nouveau modèle murin de SCZ en se basant sur l'étiologie multifactorielle de la maladie, alors que le second cherchait à montrer l'intérêt de la modulation des 5-HT6R comme possible stratégie de traitement pour soigner certains symptômes associés à ce désordre mental.

La première partie de cette discussion portera donc sur la validation du modèle 2-hit et son intérêt en relation avec les phénotypes présentés par les patients atteints de SCZ. Ce modèle animal a été construit en associant deux facteurs de risque, le premier étant une atteinte du système glutamatergique induit par la délétion du gène de la SR et le second étant un stress précoce engendré par une SM de 24h au 9<sup>ème</sup> jour de vie post natal. Dans notre étude, différents paramètres comportementaux mais aussi fonctionnels ont été mesurés et seront discutés.

La seconde partie de la discussion portera sur l'intérêt de la modulation des 5-HT6R comme traitement putatif de la SCZ. Cette partie considèrera le rôle que ces récepteurs exercent sur l'activité fonctionnelle des réseaux de neurones hippocampiques et discutera des effets de leur modulation pharmacologique sur les déficits observés dans le modèle 2-hit. Enfin, cette discussion terminera sur une perspective d'utilisation de ligands 5-HT6R dans le traitement de la SCZ.

## 4.1. Le modèle 2-hit : apport pour la modélisation de la schizophrénie

### 4.1.1. Validité et apport du modèle 2-hit

Le développement d'un modèle animal cherchant à mimer le plus fidèlement possible la SCZ pourrait sembler compliqué à obtenir au vu de l'hétérogénéité des symptômes et de la complexité des mécanismes physiopathologiques de la maladie, mais aussi des différences interspécifiques importantes entre rongeurs et humains. Ainsi à ce jour, aucun modèle animal n'est capable de reproduire l'ensemble des symptômes présentés par les patients atteints de SCZ et les nombreux modèles existants n'en miment généralement que quelques-uns des aspects (pour revue voir : Winship et al., 2019). Le modèle que nous avons développé et qui combine pour la première fois la délétion génétique de la sérine racémase avec une séparation maternelle, montre des atteintes multiples dans son phénotype comportemental et fonctionnel dont les caractéristiques sont présentées dans le Tableau 10.

En préambule, l'utilisation de souris 1-hit (SR-KO et SM) a permis de caractériser la présence de déficits spécifiques à chaque facteur et de les comparer avec ceux déjà rapportés dans la littérature. L'analyse des animaux 2-hit a ensuite permis de mettre en évidence des possibles interactions entre ces facteurs de risque. Dans la suite de ce manuscrit, nous utiliserons les définitions suivantes pour les termes « **synergie** », « **résistance** », « **résilience** » et « **addition** » (Percelay et al., 2023 – Revue soumise à *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*). On parle ainsi de synergie lorsqu'un déficit induit par le premier facteur est potentialisé par le second (et inversement) ; de résilience lorsque le déficit lié au premier facteur est diminué par le second et de résistance lorsqu'un déficit induit par le second facteur est diminué par le premier. Le terme de synergie peut être mis en opposition au terme d'« addition » des effets. L'« addition » consiste à observer la somme des déficits de chaque facteur après combinaison des deux hits sans effet potentialisateur (Figure 34).

## | Discussion générale

	Effet de synergie				Effet d'addition		Effet de résilience		Effet de résistance	
Facteur 1	✘	∅	∅	✘	✘	∅	✘	∅	∅	∅
Facteur 2	∅	✘	∅	✘	∅	✘	∅	∅	✘	∅
Facteur 1+2	✘	✘	✘	✘	✘	✘	∅	∅	∅	∅

**Figure 34. Différences entre les effets de synergie, d'addition, de résilience et de résistance dans le cas d'une exposition à deux facteurs.**

Une croix noire correspond à la présence d'un déficit, le « ∅ » indique l'absence d'un déficit. Plus la croix noire est grande, plus le déficit est important. Adapté de la Revue Percelay et al. (2023) soumise à *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*.

**Tableau 10. Tableau récapitulatif du phénotype comportemental et fonctionnel des différents groupes expérimentaux utilisés pour le développement du modèle 2-hit.**

Les observations comportementales (tests et mesures) ont été classées en fonction des symptômes de la SCZ (productifs / déficitaires / cognitifs). Les résultats concernent les souris SR-KO (sérine racémase KO), SM (séparation maternelle) et 2-hit (SR-KO combinée à SM). La dernière colonne du tableau correspond à la nature des effets de l'interaction des facteurs de risque dans le modèle 2-hit. ↗ : augmentation; ↘ : diminution ; ∅ pas de modification ; Le « ∅ » dans la colonne « effet de l'interaction » correspond à aucun effet observé à la suite de la combinaison des deux facteurs.

	Test	Mesure	Résultats			Effet de l'interaction	
			SR-KO	SM	2-hit		
ETUDE COMPORTEMENTALE	Symptômes de type productifs	Open field	↗	↗	↗	∅	
		Actimétrie	↗	∅	↗	Addition	
	Symptômes de type déficitaires	Test de sociabilité	Sociabilité	∅	∅	∅	∅
	Déficits cognitifs	Alternance spontanée	Mémoire de travail	∅	∅	↘	Synergie
		Test de reconnaissance de place	Mémoire de reconnaissance spatiale	∅	∅	↘	Synergie
		Test de reconnaissance sociale	Mémoire de reconnaissance sociale	↗	∅	∅	Résilience
		Test de reconnaissance d'objet	Mémoire de reconnaissance	∅	∅	∅	∅
	Autres	Openfield	Comportement de type anxieux	∅	∅	↘	Synergie
		EPM		∅	↘	∅	Résistance
		PPI	Inhibition du réflexe de sursaut	∅	∅	∅	∅
ETUDE ELECTROPHYSIOLOGIQUE	Enregistrement électrophysiologique <i>ex vivo</i> sur tranche d'hippocampe		Transmission de base (courbe I/O)	∅	∅	∅	∅
			Index de libération du glutamate (PPF)	∅	∅	∅	∅
			LTP (HFS vs TBS)	∅	∅	∅	∅
			NMDA + D-sérine	↗	↗	→	Synergie
			NMDA + Bicuculline	∅	∅	↗	Synergie

## | Discussion générale

L'analyse du Tableau 10 nous montre que l'hyperactivité associée au modèle 2-hit ne se présente pas comme un effet de synergie ni d'addition puisqu'elle est déjà présente à un niveau identique dans les modèles 1-hit SR-KO et SM. Cette hyperactivité peut être considérée comme un signe de symptômes de type productifs et est notamment corrélée à une augmentation de l'activité dopaminergique (Howes et al., 2015; Van Den Buuse, 2010). Les symptômes productifs sont majoritairement retrouvés chez les patients ayant le sous-type paranoïde de la SCZ, la forme la plus fréquemment retrouvée dans cette pathologie (Fisher and Roget, 2014; Guze, 1995). Concernant les symptômes de type déficitaires, le modèle 2-hit ne présente pas dans nos expériences de déficits de sociabilité, puisqu'aucun effet de synergie n'a été observé entre les facteurs. Il est intéressant de noter que les modèles 1-hit pris séparément ne présentent pas non plus ce type d'atteinte. Pourtant, il faut souligner que les modèles 1-hit basés sur des facteurs environnementaux précoces, tels que la séparation maternelle, ont permis de montrer la pertinence de l'hypothèse neurodéveloppementale de la SCZ (perturbation précoce du développement cérébral qui serait à l'origine de l'émergence d'une psychose, pour revue : McGrath et al., 2003) dans le développement des symptômes de type déficitaires (pour revue voir Limosin, 2014). De plus, d'autres modèles de SM présentent des altérations de la sociabilité (Bouet et al., 2011; Girardi et al., 2014). L'absence de ce type de déficit n'était pas attendue dans ce modèle 2-hit, suggérant qu'il est nécessaire de l'améliorer pour les induire. On peut envisager d'utiliser un protocole de SM plus sévère (en augmentant la durée ou la fréquence de la séparation par exemple) ou ajouter un troisième facteur environnemental (par exemple : isolement social, traitement pharmacologique au tetrahydrocannabinol THC, ou MK-801.). Il faut également savoir que dans les tableaux cliniques, les symptômes déficitaires sont présents chez 15 % des patients lors du premier épisode psychotique et jusqu'à 30 % chez les patients atteints de SCZ chronique (Kirkpatrick et al., 2001) indiquant l'importance de les retrouver dans les modèles animaux pour obtenir une meilleure validité d'apparence (Davis et al., 2016; Guerrin et al., 2021).

Dans nos études, le modèle 2-hit présente des déficits cognitifs, notamment d'inhibition comportementale et de mémoire de travail qui sont dus à la synergie des deux facteurs de risque. Reproduire les déficits cognitifs chez les modèles animaux est un enjeu important puisqu'en effet ces déficits sont présents chez 70 à 80 % des patients atteints de SCZ (Heinrichs and Zakzanis, 1998). Il est à noter que jusqu'à présent, ces deux types de déficits cognitifs ne

## | Discussion générale

sont que rarement mis en évidence dans les modèles 2-hit de SCZ (pour revue voir : Guerrin et al., 2021), conférant à notre modèle un phénotype comportemental intéressant avec une validité d'apparence augmentée par rapport à ces atteintes.

Comme nous avons pu le constater (voir le Tableau 10), mise à part l'hyperactivité, les autres déficits ne sont pas présents dans les modèles 1-hit bien que les cibles choisies soient proposées comme étant des facteurs de risque de la maladie (Balu, 2016; De Miranda et al., 2000; Morita et al., 2007; Nakazawa & Sapkota, 2020b; Popovic et al., 2019; Stilo & Murray, 2019; Trovão et al., 2022). Les atteintes présentes dans le modèle 2-hit montrent donc toute l'importance de combiner au minimum deux facteurs de risque pour induire certains déficits comportementaux. D'autre part, choisir des facteurs qui n'induisent que peu d'atteintes comportementales se révèle comme une stratégie intéressante pour mettre en évidence plus facilement des effets de synergies entre les facteurs. Par exemple, notre équipe a récemment caractérisé un modèle à 3 facteurs combinant une délétion partielle du gène *MAP6* avec une SM et un traitement sub-chronique au MK-801 (Percelay et al., 2021b). La délétion partielle de *MAP6* (souris hétérozygotes) a été décrite comme une susceptibilité à un événement ultérieur telle que la SM (Bouet et al., 2021; Percelay et al., 2021a, 2021b; Volle et al., 2013). De la même façon, les administrations de MK-801 étaient réalisées avec une dose sous-efficace (0.05 mg/kg) afin de ne pas induire de déficits comportementaux en elles-mêmes, comme on l'observe à plus forte dose (Carey et al., 1998; Curzon and Decker, 1998; Lee et al., 2020; Thonnard et al., 2019). Ainsi, l'association de ces facteurs a permis de montrer un effet de synergie chez les souris 3-hit, notamment sur l'activité spontanée, la mémoire de travail, la sociabilité, et le niveau d'anxiété (Percelay et al., 2021b).

Afin de compléter la validité du modèle 2-hit, nous nous sommes aussi intéressés à des aspects de fonctionnalité cérébrale grâce à des approches électrophysiologiques, avec un focus particulier sur l'activité synaptique de l'hippocampe et sa plasticité, en regard de par son implication critique dans les processus mnésiques (Kogan et al., 2000; Morris et al., 1990; Opitz, 2014) et dans la physiopathologie de la SCZ (Howes et al., 2015; Wegrzyn et al., 2022). En ce sens, notre recherche se démarque de la plupart des études existantes dans lesquelles ces aspects physiopathologiques ne sont généralement que peu ou pas considérés (Badowska et al., 2020; Guerrin et al., 2021; Horvath et al., 2016; Percelay et al., 2021a). Un hypofonctionnement glutamatergique ainsi qu'une altération du tonus inhibiteur

## | Discussion générale

GABAergique sont deux atteintes suggérées dans la physiopathologie de la SCZ (Coyle et al., 2003; Nakazawa et al., 2012; Nakazawa and Sapkota, 2020a). La caractérisation électrophysiologique du modèle 2-hit n'a révélé qu'une atteinte modérée de la fonctionnalité hippocampique puisque la neurotransmission médiée par les non-NMDAR, l'activation basale des NMDAR ou encore l'expression de la plasticité fonctionnelle (PLT et PCT) ne sont pas affectées. Seule la sensibilité au co-agoniste D-sérine des NMDAR est modifiée, ce qui suggère que le taux de sites glycine disponibles de ces récepteurs semblerait réduit dans notre modèle, par un effet de synergie entre les facteurs. Ceci demeure un résultat intéressant considérant le rôle critique de ce site glycine dans l'induction de la plasticité synaptique (Bashir et al., 1990; Oliver et al., 1990). Parallèlement, nous avons mis en évidence une atteinte de la balance excitation/inhibition dans le modèle, contrairement aux souris 1-hit SR-KO et SM, montrant ici un effet de synergie entre les facteurs. Toutefois, il est important de noter que notre interprétation ne peut se baser que sur l'atteinte de l'activation des NMDAR induite en réponse au blocage des GABAR par l'antagoniste bicuculline. En effet, une étude plus directe, notamment en enregistrant les courants post-synaptiques inhibiteurs et excitateurs des cellules pyramidales grâce à une approche en patch-clamp reste nécessaire à réaliser.

Différentes hypothèses peuvent être avancées pour rendre compte des atteintes fonctionnelles plutôt modérées du modèle 2-hit. Dans un premier temps, nous pouvons nous demander si le choix des facteurs est idéal où s'il est nécessaire de choisir des facteurs plus sévères pour induire une altération de la neurotransmission glutamatergique. En effet, le modèle SR-KO présente un phénotype fonctionnel limité qui peut notamment être due par la présence de mécanismes compensatoires. Notre équipe a récemment mis en évidence une augmentation du niveau de glycine chez les souris SR-KO au niveau de l'hippocampe, ce qui compenserait la déplétion en D-sérine et préserverait la transmission glutamatergique (Ploux et al., 2021). Nous pouvons émettre comme hypothèse que par son génotype SR-KO, le modèle 2-hit présente lui aussi des mécanismes compensatoires. Dans un second temps, notre niveau d'analyse électrophysiologique se tient à l'activité hippocampique essentiellement au niveau des synapses CA3/CA1. Or, des atteintes dans d'autres parties de l'hippocampe (CA3, gyrus denté), tout autant impliqués dans les processus mnésiques (Gilbert et al., 2001; Hainmueller and Bartos, 2020; Hitti and Siegelbaum, 2014; Opitz, 2014), sont envisageables et devraient être analysées. D'autre part, l'hippocampe n'est pas la seule région

## | Discussion générale

impliquée dans les processus de mémoire et il serait aussi pertinent de s'intéresser à d'autres structures cérébrales comme le cortex préfrontal, de par son implication dans la mémoire de travail (Bahmani et al., 2019; Murray et al., 2017), ses interactions avec l'hippocampe pour la création et le maintien de souvenirs (Jung et al., 2008; Preston and Eichenbaum, 2013; Sekeres et al., 2018) et son implication dans la physiopathologie de la SCZ (Brady et al., 2019; Ferguson and Gao, 2018; Ohnuma et al., 2005; Tan et al., 2007). Enfin, notre étude s'est focalisée sur les systèmes glutamatergique et GABAergique de neurotransmission mais, comme discuté précédemment, d'autres systèmes comme les voies dopaminergiques sont également impliqués dans certains déficits comportementaux comme l'hyperactivité et il serait donc pertinent de davantage les étudier (Howes et al., 2015; Kesby et al., 2018; Van Den Buuse, 2010).

Il est à noter ici une autre limite de notre étude fonctionnelle qui repose sur le fait que nous avons considéré les effets de la combinaison des facteurs de risque uniquement chez des individus mâles. En effet, des différences entre les hommes et les femmes atteints de SCZ sont rapportés dans la littérature, non seulement par rapport à l'âge d'apparition mais, également en termes de présence de certains symptômes (Abel et al., 2010; Mendrek and Mancini-Marie, 2016). Évidemment, lors du développement de modèles multifactoriels de SCZ, l'étude des deux sexes rajoute un niveau de complexité expérimentale puisqu'il implique d'augmenter encore plus le nombre de groupes (8 groupes pour les modèles 2-hit et 16 pour les modèles 3-hit). Néanmoins, étudier les deux sexes peut être une source d'informations importantes et pourrait permettre de mettre en évidence des différences inter-sexe (potentiellement liées à des effets hormonaux) (Hamson et al., 2016; Marrocco and McEwen, 2016; Yagi and Galea, 2019) comme dans l'étude de Percelay et al. (2021a) dans laquelle les femelles 3-hit présentaient une augmentation de la transmission glutamatergique contrairement aux mâles.

Pour conclure, même si la caractérisation de notre modèle 2-hit reste encore partielle, elle nous a permis de mettre en évidence que certaines altérations comportementales ou fonctionnelles hippocampiques sont étroitement dépendantes d'interactions entre les différents facteurs de risque, ce qui pourrait expliquer pourquoi elles ne se retrouvent pas dans d'autres modèles 2-hit présentant des facteurs différents (Guerrin et al., 2021).

#### 4.1.2. Le modèle 2-hit : un modèle reproductible et robuste ?

Un aspect important, et parfois négligé d'études de modèles animaux, repose sur la robustesse et la reproductibilité des atteintes observées. Selon Goodman et al. (2016) et selon la *Subcommittee on Replicability in Science* (Bollen et al., 2015), la **reproductibilité** peut se définir comme : *“the ability of a researcher to duplicate the results of a prior study using the same materials and procedures as were used by the original investigator”*. En d'autres termes, considérer les mêmes facteurs de risque et réaliser les mêmes procédures expérimentales devraient nous amener à retrouver les mêmes phénotypes. Goodman et al. (2016) définissent également la **robustesse** comme : *“the stability of experimental conclusions to variations in either baseline assumptions or experimental procedures”*. Ainsi, un modèle robuste signifie que les déficits observés à un instant  $t$  persistent dans le temps. Mais pourquoi rechercher un modèle robuste et reproductible dans notre cas ? Il est important de noter que les traitements pharmacologiques utilisés dans la SCZ sont généralement prescrits sur une longue durée, parfois à vie, afin de stabiliser l'état du patient (Patel et al., 2014; Remington et al., 2017). Dans nos travaux, nous avons été amenés à travailler sur deux cohortes de souris âgées de 3-4 mois pour la première et de 9-10 mois pour la seconde, afin de déterminer si le modèle 2-hit était un modèle robuste.

Un résumé des résultats obtenus lors de l'étude comportementale complémentaire à l'Article 1 est présenté dans le Tableau 11 ci-dessous et nous permet de discuter de la reproductibilité et de la robustesse du modèle 2-hit.

**Tableau 11. Tableau récapitulatif des données obtenus lors de l'étude comportementale complémentaire à l'article 1.**

Les observations (tests/mesures) de l'étude comportementale ont été classés en fonction des symptômes de la SCZ (productifs / déficitaires / cognitifs / autres déficits associés). Les résultats concernent les quatre groupes expérimentaux témoins, SR-KO (sérine racémase KO), SM (séparation maternelle) et 2-hit (SR-KO combinée à SM). ↗ augmentation. ∅ absence de déficit ; ↘ : diminution. La reproductibilité indique que les résultats sont retrouvés lorsque l'expérimentation est reproduite à l'identique (comparaison avec les résultats de l'Article 1) ; la robustesse indique que les déficits qui sont observés à 3-4 mois perdurent à 9-10 mois.

	Tests	3-4 mois				9-10 mois				Repro-ductible	Robuste
		Té-moin	SR-KO	MS	2-hit	Té-moin	SR-KO	MS	2-hit		
<b>Symptômes de type productif</b>	Actimétrie (Activité spontanée)	∅	↗	↗	↗	∅	↗	∅	↗	Oui	Oui SR-KO et 2-hit
<b>Symptômes de type déficitaire</b>	Test de sociabilité	∅	↘	↘	↘	↘	↘	↘	∅	Non	Oui SR-KO et SM
<b>Déficits cognitifs</b>	Alternance spontanée (Mémoire de travail)	∅	↘	↘	∅	↘	↘	∅	∅	Non	Oui SR-KO
	Reconnaissance sociale	∅	↘	∅	∅	∅	∅	∅	∅	Non	Non
<b>Autres</b>	EPM (Comportement de type anxieux)	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	/	/

La lecture du Tableau 11 nous apporte plusieurs informations. D'une part, il montre que l'hyperactivité du modèle 2-hit est reproductible et robuste. A l'inverse, d'autres déficits ne se retrouvent pas à l'âge de 9 – 10 mois que cela soit au niveau des symptômes de type déficitaire (sociabilité) ou des déficits cognitifs (mémoire de travail). Enfin, il faut prendre en compte qu'une altération des performances de sociabilité et de mémoire de travail a été observée au cours du vieillissement dans le groupe témoin. Deux éléments sont à prendre en compte face à ces résultats. Le premier, qui est l'influence de l'âge qui peut altérer les performances cognitives (Shoji et al., 2016; Shoji and Miyakawa, 2019). En effet, des études ont montré que des modifications de la mémoire à court et long terme, du niveau d'anxiété ou encore des interactions sociales ont été observées sur cette souche de souris C57BL/6J avec l'âge, et ce, dès l'âge de 8-10 mois (Prieur and Jadavji, 2019; Shoji et al., 2016; Shoji and Miyakawa, 2019) expliquant l'apparition de déficits dans le groupe témoin à l'âge de 9 - 10 mois.

## | Discussion générale

Le deuxième élément est l'hétérogénéité du nombre d'animaux par groupe. En effet, le groupe témoin ne présente qu'un nombre restreint (5 animaux par groupe à l'âge de 3-4 mois et 4 animaux par groupe à l'âge de 9-10 mois) rendant les analyses statistiques plus difficiles et moins fiables. Nous avons de plus observé une variabilité importante dans ces groupes. On pourrait alors se demander le rôle de cette variabilité dans la reproductibilité des résultats. Les modèles 1-hit et 2-hit ont été générés à partir de souris de souche C57BL/6J connues pour être une souche consanguine qui présente une variabilité interindividuelle théoriquement réduite (grande proximité génétique entre les individus). Durant le protocole de SM, les mères témoins C57BL/6J et SR-KO étaient, elles aussi, manipulées (20 s de séparation) afin de les soumettre au stress lié à la manipulation (sans la durée de la séparation). Au contraire, les souriceaux étaient le moins manipulés possible lors de la SM ainsi que lors des différents changes de litière, pouvant avoir lieu et ce, jusqu'au moment du sevrage. D'autre part, les procédures expérimentales étaient réalisées généralement par la même expérimentatrice et une phase de handling était réalisée au minimum une semaine avant chaque expérimentation afin d'habituer les animaux à l'environnement et à l'expérimentateur.

On pourrait alors se poser la question de savoir si la variabilité, qui est finalement présente chez les patients, ne serait pas indissociable des études de modèles de SCZ. En effet, cette maladie présente une grande hétérogénéité des symptômes, chaque patient pouvant développer certains symptômes plutôt que d'autres (Arango et al., 2000). C'est la raison pour laquelle le DSM-IV (Guze, 1995) avait initialement défini 5 sous-types différents de SCZ : type paranoïde, catatonique, désorganisé, indifférencié, résiduel, catégories qui ont été abandonnés plus tard dans le DSM-V (Biedermann and Fleischhacker, 2016). Bien que ces sous-types ne soient plus reconnus, le phénotype présenté par notre modèle 2-hit peut se rapprocher le plus d'un type de SCZ caractérisée par l'existence prépondérante de symptômes de type productif, qui pourrait être d'après le DSM-IV le type paranoïde (Guze, 1995). De manière intéressante, il est à noter que Morita et al. (2007) ont montré qu'un polymorphisme de la région codante 5 du gène *SR* était significativement associé à la présence de ce sous-type paranoïde de la SCZ chez les patients.

Le fait que les symptômes de type déficitaires et les déficits cognitifs ne soient que partiellement présents dans le modèle, avec une hétérogénéité dans les cohortes, nous amène à considérer des moyens d'améliorer le modèle, par exemple en ajoutant un troisième

facteur afin de rendre les déficits encore plus marqués. Cependant comme déjà considéré précédemment, l'ajout d'un troisième facteur rend la réalisation des procédures plus complexes et longues avec l'augmentation du nombre d'animaux / groupes (minimum 8 groupes pour avoir tous les hits contre 4 pour les 2-hit) rendant les analyses et les interprétations encore plus complexes (voir la Revue soumise à *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*). Enfin, il faut prendre en compte que l'ajout d'un facteur supplémentaire apporte une variabilité en plus dans les groupes. En effet, les souris vont réagir de façon différente à chacun de ces facteurs, réaction qui sera propre à chaque individu. C'est pourquoi, des sous-catégories peuvent apparaître au sein même des groupes avec des sujets « *High responders* » et « *low responders* » (Carreira et al., 2017; Mann et al., 2014). La différenciation des sous-groupes pourrait permettre de regarder plus spécifiquement la vulnérabilité à une maladie (Feyissa et al., 2017; Ho et al., 2002), mais surtout la vulnérabilité à un traitement pharmacologique (Jama et al., 2008; Pitychoutis et al., 2011) ce qui pourrait être intéressant à analyser dans les futures études sur les modèles animaux de la SCZ.

#### **4.2. L'intérêt des 5-HT6R dans le traitement des symptômes de la schizophrénie**

A ce jour, les médicaments développés dans le cadre du traitement de la SCZ ont permis d'améliorer certains symptômes, mais sans être totalement curatifs. Ainsi, si les neuroleptiques disponibles aujourd'hui sont efficaces contre les symptômes productifs, les symptômes déficitaires et les déficits cognitifs restent non traités et certains patients deviennent résistants aux traitements développés (Correll and Howes, 2021; Nucifora et al., 2019). Récemment, les 5-HT6R ont montré un intérêt croissant de par leurs effets procognitifs marqués (voir la partie Intérêt des 5-HT6R comme cible thérapeutique 2.6 ainsi que le Tableau 6 de l'introduction) amenant à tester des ligands 5-HT6R pour le traitement des symptômes déficitaires et les déficits cognitifs dans les modèles animaux de la SCZ (de Bruin & Kruse, 2015; Meneses, 2014; Meneses et al., 2011). C'est dans ce contexte que nous avons considéré les effets du blocage des 5-HT6R pour prévenir les déficits observés dans le modèle 2-hit.

#### 4.2.1. Viser les 5-HT6R pour améliorer les déficits du modèle 2-hit

Le Tableau 12 présenté ci-dessous résume les résultats obtenus à la suite du traitement pharmacologique d'une durée de 2 semaines par le SB-271046 à la dose de 10 mg/kg.

**Tableau 12. Effets du traitement sub-chronique par le SB-271046 sur les déficits observés dans le modèle SR-KO, SM et 2-hit.**

Les observations (tests/mesures) comportementales ont été classés en fonction des symptômes de la schizophrénie (productifs / déficitaires / cognitifs / autres déficits associés). Les résultats concernent tous les groupes expérimentaux témoins, SR-KO (sérine racémase KO), SM (séparation maternelle) et 2-hit (SR-KO combinée à SM) avec traitement par le SB-271046. ↗ : augmentation. ∅ absence de déficit ; ↘ : diminution. Pour chaque mesure, les effets du traitement ont été indiqués en dessous : + effet bénéfique ; - effet délétère ; ∅ pas d'effet. \* pas de différence significative avec le 50%, tendance avec une valeur de p de 0.0518.

	Tests	3-4 mois				9-10 mois			
		Témoin	SR-KO	MS	2-hit	Témoin	SR-KO	MS	2-hit
Symptôme productif	Actimétrie (Activité spontanée)	∅	↗	↗	↗	∅	↗	∅	↗
	Traitement SB-271046	∅	∅	∅	∅	∅	+	∅	∅
Symptôme déficitaire	Test de sociabilité	∅	↘	↘	↘	↘	↘	↘	∅
	Traitement SB-271046	+	∅	∅	+	-	+	∅	-
Déficits cognitifs	Alternance spontanée (Mémoire de travail)	∅	↘	↘	∅	↘	↘	∅	∅
	Traitement SB-271046	∅	+	+	∅	+	+	+	-*
	Reconnaissance sociale	∅	↘	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	Traitement SB-271046	∅	+	∅	∅	∅	∅	∅	∅
Autre	EPM (Comportement de type anxieux)	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅
	Traitement SB-271046	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅	∅

En premier lieu, il apparaît que le blocage des 5-HT6R par le SB-271046 n'a pas d'effet significatif sur l'hyperlocomotion des souris 2-hit et ce, quel que soit l'âge des animaux. Ce résultat est à rapprocher d'observations analogues montrant une absence d'effet de ce blocage sur l'hyperactivité des souris induite par l'amphétamine (Pouzet et al., 2002). En revanche, il est en opposition avec l'utilisation d'antipsychotiques comme la clozapine, l'halopéridol ou encore l'olanzapine qui diminuent de manière significative l'hyperactivité

## | Discussion générale

dans des modèles génétiques d'hypofonctionnement glutamatergique (Duncan et al., 2006; Gururajan et al., 2012; Ninan et al., 2003). Il faut également noter que le SB-271046 a permis de diminuer l'hyperlocomotion des souris SR-KO à l'âge de 3-4 mois.

Nous avons observé ensuite un effet bénéfique du traitement par le SB-271046 sur la sociabilité dans le modèle 2-hit. En effet, alors que les souris 2-hit présentaient des déficits de sociabilité à l'âge de 3-4 mois, on observe une sociabilité « normale » après le traitement. Ceci est en accord avec l'effet bénéfique du SB-271046 sur les performances de reconnaissance sociale et les déficits de sociabilité induits par la scopolamine, précédemment rapporté dans la littérature (Lieben et al., 2005; Loiseau et al., 2008; Schreiber et al., 2007). Cependant, d'autres travaux montrent que le blocage des 5-HT<sub>6R</sub> par d'autres antagonistes (le Lu AE58046 ou le SB-2710456) n'a pas d'effet bénéfique sur les déficits de sociabilité induits par la PCP ou la kétamine (Arnt & Olsen, 2011; Pouzet et al., 2002). De manière inattendue, nous avons observé des effets délétères du traitement sur la sociabilité chez les souris témoins et 2-hit âgées de 9-10 mois, suggérant l'apparition d'une néophobie sociale pour ces groupes. Concernant les fonctions mnésiques, le SB-271046 n'a aucun effet sur la mémoire de travail des souris 2-hit jeunes mais, semble également altérer la mémoire chez les souris vieilles. Ainsi, nous pouvons nous questionner sur l'efficacité de ce traitement en fonction de l'âge pour ces types de déficits dans notre modèle. Toutefois, de manière intéressante, le blocage des 5-HT<sub>6R</sub> par le SB-271046 améliore la mémoire de travail des groupes témoins, SR-KO et SM. Ces résultats sont en accord avec des études antérieures de notre laboratoire qui ont montré que le blocage des 5-HT<sub>6R</sub> améliorerait les déficits mnésiques liés à l'âge ou induits par la scopolamine (Asselot et al., 2017; Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; Quiedeville et al., 2015, 2014). Enfin, le traitement avec le SB-271046 n'a pas non plus d'effet sur le niveau d'anxiété de notre modèle alors que des études antérieures ont mis en évidence des effets de type anxiolytique du blocage des 5-HT<sub>6R</sub>, avec cependant, un effet plus faible que celui du diazépam (Geng et al., 2018; Wesółowska et al., 2007; Wesółowska and Jastrzębska-Więsek, 2011).

Bien que nous observons des effets bénéfiques du traitement sur la sociabilité et la mémoire de travail, nos résultats semblent indiquer que la modulation seule des 5-HT<sub>6R</sub> n'est pas suffisante pour corriger l'ensemble des déficits. Selon la littérature, les effets pro-mnésiants du blocage de ces récepteurs passerait en partie par une facilitation de la neurotransmission

cholinergique et glutamatergique (Asselot et al., 2017; Da Silva Costa-Aze et al., 2012; Foley et al., 2004; Marcos et al., 2008, 2006; Riemer et al., 2003). Cependant, nous avons montré que les souris 2-hit présentent un phénotype fonctionnel altéré avec une dérégulation de la neurotransmission glutamatergique au niveau de l'hippocampe. Nous pouvons donc supposer que les effets seuls d'un antagoniste 5-HT6R ne sont pas suffisants pour induire des effets bénéfiques dans ce modèle et compenser la dérégulation glutamatergique du modèle. Pour potentialiser les effets du SB-271046, il pourrait être envisagé de le combiner avec d'autres traitements comme des neuroleptiques ou des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase. De manière intéressante, des études ont testé la combinaison d'antagoniste 5-HT6R (dont le SB-271046) avec la clozapine, la risperidone ou avec la galantamine (inhibiteurs de l'acétylcholinestérase) et ont montré des effets de bénéfiques sur les déficits cognitifs potentialisées à la suite de la combinaison (Fijał et al., 2014; Marcos et al., 2008; Pouzet et al., 2002). Les 5-HT6R rendraient plus efficaces les effets de ces traitements.

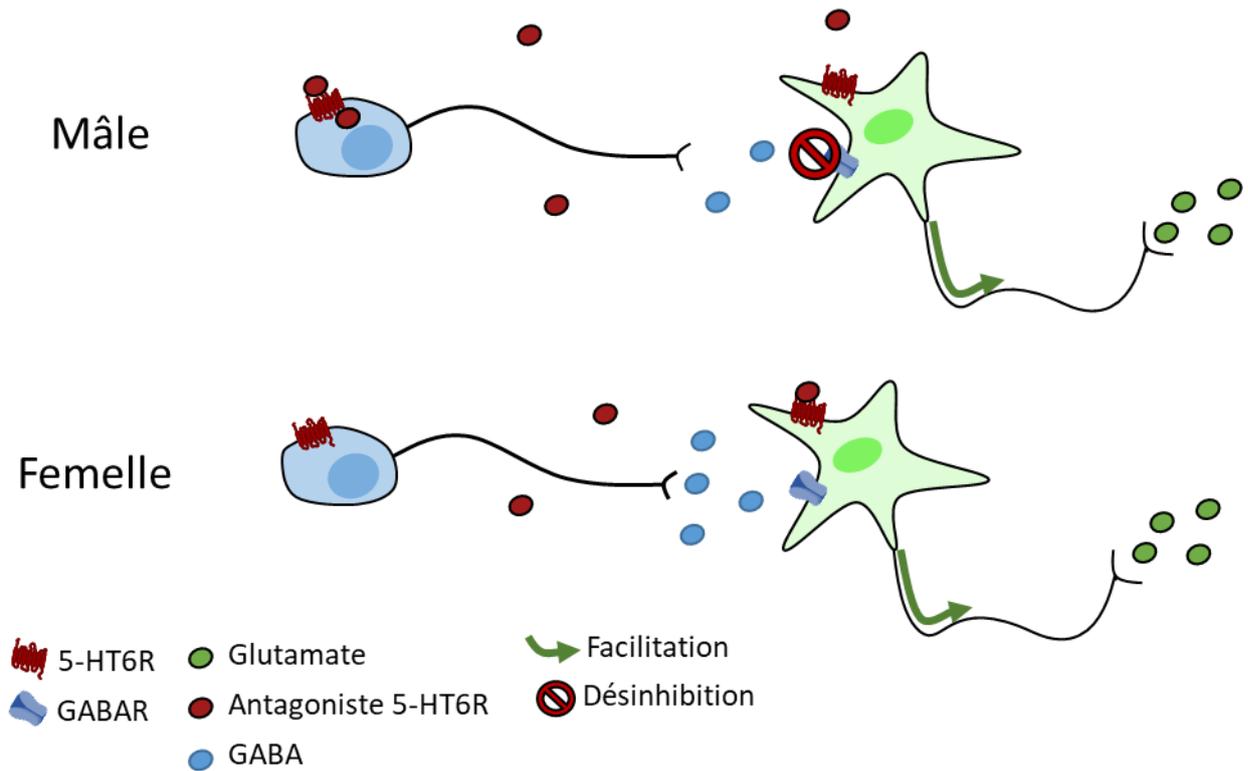
Une autre explication possible concernant ces différences observées concerne le protocole d'administration utilisé (dose, durée du traitement et voie d'administration). En effet, nous avons utilisé une administration sub-chronique avec une injection par jour pendant deux semaines et nous pouvons supposer que la durée du traitement pharmacologique n'est pas suffisante pour avoir des effets bénéfiques plus marqués. Tout comme la durée du traitement, la dose utilisée a été choisie en fonction des données antérieures de notre laboratoire qui montraient des effets bénéfiques sur la mémoire à la dose de 10 mg/kg (Asselot et al., 2017; Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; Quiedeville et al., 2015, 2014). Augmenter la dose pourrait également être envisagé mais, il serait alors important de vérifier l'absence d'effets indésirables.

#### **4.2.2. Les 5-HT6R modulent l'activité synaptique hippocampique : implication du système GABAergique et glutamatergique**

Les capacités cognitives sont étroitement dépendantes de la régulation de l'activité synaptique engendrée au sein des réseaux neuronaux du SNC. Toute intervention pharmacologique affectant les performances cognitives, comme c'est le cas par le blocage des 5-HT6R, est donc suspectée modifier l'activité neuronale par des mécanismes synaptiques qui doivent être déterminés. De ce qui est connu sur la localisation des 5-HT6R, il est rapporté qu'ils sont présents à la fois sur les neurones GABAergiques, glutamatergiques ainsi qu'en plus

faible quantité sur les neurones cholinergiques (Codony et al., 2011; de Jong and Mørk, 2017; Dupuy et al., 2023; Helboe et al., 2015). Les 5-HT<sub>6</sub>R ont notamment été colocalisés avec la GAD67 au niveau des neurones GABAergiques dans diverses régions cérébrales incluant l'hippocampe (Woolley et al., 2004). Cette localisation préférentielle suggère ainsi un rôle de ces récepteurs comme modulateur de la balance excitation / inhibition au sein des réseaux neuronaux. Ainsi, notre hypothèse initiale de travail était que le blocage sélectif des 5-HT<sub>6</sub>R faciliterait la neurotransmission glutamatergique dans l'hippocampe par le biais d'une désinhibition des neurones pyramidaux, mécanisme qui permettrait les effets promnésiants retrouvés dans notre travail ainsi que dans des études antérieures de notre laboratoire (Asselot et al., 2017; Da Silva Costa-Aze et al., 2012, 2011; Quiedeville et al., 2015, 2014).

Les résultats obtenus dans les études électrophysiologiques, aussi bien chez les individus mâles que femelles, montrent que le blocage des 5-HT<sub>6</sub>R augmente de manière significative la transmission synaptique véhiculée par les non-NMDAR du glutamate ainsi que l'activation basale des NMDAR, sans modifier la libération présynaptique de neurotransmetteur. De manière intéressante, la potentialisation des NMDAR est prévenue lorsque les récepteurs GABA<sub>A</sub> sont bloqués au préalable par la bicuculline. Ainsi, en accord avec notre hypothèse de travail, la facilitation glutamatergique résulterait indirectement d'une désinhibition des neurones pyramidaux. Cette conclusion cependant n'est valable que chez les mâles et n'est pas retrouvée chez les femelles indiquant un dimorphisme sexuel pour ce mécanisme synaptique. Chez les femelles, l'action pourrait donc être « directe » sur les neurones pyramidaux (Figure 35).



**Figure 35. Possible dimorphisme sexuel du mécanisme d'action des récepteurs 5-HT6R sur la régulation de la neurotransmission glutamatergique.**

Chez les souris mâles (schéma du haut) le blocage des 5-HT6R induirait une diminution du tonus inhibiteur GABAergique entraînant une désinhibition de la transmission glutamatergique des neurones pyramidaux. Chez les souris femelles (schéma du bas), la facilitation de la neurotransmission passerait directement par le blocage des 5-HT6R présents sur les neurones pyramidaux.

Ce dimorphisme est, à notre connaissance, une donnée originale qui nécessite cependant d'être précisée. Il serait important de savoir s'il existe une localisation préférentielle de ces récepteurs sur les neurones GABAergiques et glutamatergiques en fonction du sexe. Cette hypothèse de dimorphisme va dans le sens d'études cliniques qui mettent en évidence des différences de sensibilité à des neuroleptiques (comme l'olanzapine), entre les hommes et les femmes (Crawford and DeLisi, 2016; Morozova et al., 2017; Rabinowitz et al., 2014; Seeman, 2020). De manière intéressante, l'équipe de Morozova et al. (2017) a observé un dimorphisme sexuel à la suite d'un traitement utilisant un antagoniste 5-HT6R, l'avisetron qui aurait un effet positif sur les symptômes psychotiques et résiduels uniquement chez les patientes et pas les patients atteints de SCZ.

A la suite de cette caractérisation des effets de la modulation synaptique des 5-HT6R déterminée chez les souris témoins, nous avons voulu savoir ce qu'il en advenait chez les souris 2-hit. Dans ce modèle (comme pour les groupes 1-hit), les modifications d'activité

## | Discussion générale

synaptique induites par le SB-271046 restent analogues à celles observées chez les animaux témoins que ce soit pour les individus mâles que pour les sujets femelles à savoir, une facilitation de la neurotransmission glutamatergique et de l'activation des NMDAR, sans atteinte de la libération du glutamate ni de modification de l'expression de la plasticité hippocampique. Cependant, nous observons une différence marquée après le blocage des récepteurs GABAA par la bicuculline. En effet, un accroissement est maintenu chez le groupe 2-hit mâles contrairement à ce qui se passe chez les animaux témoins suggérant une atteinte du mécanisme de désinhibition. De manière intéressante, un résultat similaire est observé chez les souris 1-hit SR-KO pour lesquelles une diminution du tonus inhibiteur associé à une baisse de synapses GABAergiques a été reporté (Jami et al., 2021; Ploux et al., 2020). D'autre part, on constate que le processus de désinhibition induit par le blocage des 5-HT6R n'est pas affecté chez les souris 1-hit SM qui ne présente pas d'atteinte du tonus inhibiteur. De plus, il est intéressant de souligner que l'effet potentialisateur « direct » du SB-271046 sur les cellules pyramidales caractérisé chez les souris témoins femelles n'est pas modifié dans le modèle 2-hit (ni dans les modèles 1-hit).

Prises dans leur ensemble, ces données fonctionnelles soulignent toute l'importance du tonus inhibiteur GABAergique, non seulement pour le bon fonctionnement synaptique des réseaux de neurones dans les conditions normales mais aussi pour l'efficacité de stratégies thérapeutiques comme dans le cas d'un traitement par le SB-271046.

## Conclusion et Perspectives

Ce travail de thèse a permis dans un premier temps de caractériser un nouveau modèle animal de SCZ, à deux facteurs, qui présente un phénotype comportemental intéressant mimant à la fois des symptômes de type productif et des déficits cognitifs. Les modèles 2-hit permettent de mieux comprendre les interactions entre des facteurs, de modéliser certains aspects de la maladie et peuvent constituer une base au développement de modèles plus complexes comme des modèles à 3 facteurs (3-hit). Cependant, notre modèle présente des limites, notamment le fait que nous ne sommes pas parvenus à observer des symptômes de type déficitaire. Une amélioration du modèle s'avère donc nécessaire, soit par la modification des facteurs déjà utilisés (notamment du protocole de SM) soit par l'ajout d'un autre facteur environnemental tardif (agent pharmacologique par exemple). Toutefois, l'ajout d'un 3<sup>ème</sup> facteur peut être compliqué à mettre en place au niveau expérimental, en augmentant le nombre de groupes et d'animaux nécessaires mais, également dans la réalisation des différents protocoles et dans l'interprétation des résultats obtenus. Néanmoins, ces modèles multifactoriels peuvent être utiles dans l'évaluation de nouvelles cibles thérapeutiques comme l'évaluation des effets bénéfiques des 5-HT6R, cible thérapeutique ayant déjà montré un intérêt dans le cas de la maladie d'Alzheimer. Ainsi, ce travail de thèse a permis dans un second temps de montrer l'intérêt de viser les 5-HT6R dans le cadre de la SCZ.

Une des questions que l'on pourrait se poser à l'issue de ce travail serait de savoir si des ligands 5-HT6R pourraient être utilisés comme neuroleptiques à part entière. Au vu des effets des antagonistes actuellement utilisés en recherches pré-cliniques incluant ceux que nous avons obtenus ici, il paraît peu probable que ces ligands soient utilisables directement comme traitement pour les patients atteints de SCZ. Certaines études ont de plus comparé l'efficacité d'antagonistes 5-HT6R associés avec des neuroleptiques (clozapine, rispéridone), sans montrer d'effet marquant pour les ligands 5-HT6R (Fijał et al., 2014; Pouzet et al., 2002). Ainsi, ces agents pharmacologiques pourraient donc davantage être considérés comme traitement adjuvant, en complément d'un neuroleptique (Fijał et al., 2014; Li et al., 2007) mais, également comme choix dans le développement de médicaments multi-cibles (Ripke et al., 2014; Stępnicki et al., 2021; Więckowska et al., 2016; Zajdel et al., 2018). Une prochaine étape à ce travail de thèse serait donc de combiner l'emploi d'antagoniste 5-HT6R avec des neuroleptiques pour voir si la combinaison des deux traitements aurait davantage d'effets bénéfiques sur le modèle.

## **Références bibliographiques**

**A**

- Abazyan, B., Dziedzic, J., Hua, K., Abazyan, S., Yang, C., Mori, S., Pletnikov, M. V., Guilarte, T.R., 2014. Chronic exposure of mutant DISC1 mice to lead produces sex-dependent abnormalities consistent with schizophrenia and related mental disorders: a gene-environment interaction study. *Schizophr. Bull.* 40, 575–84. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbt071>
- Abel, K.M., Drake, R., Goldstein, J.M., 2010. Sex differences in schizophrenia. *Int. Rev. Psychiatry* 22, 417–428. <https://doi.org/10.3109/09540261.2010.515205>
- Acevedo-Triana, C.A., León, L.A., Cardenas, F.P., 2017. Comparing the Expression of Genes Related to Serotonin (5-HT) in C57BL/6J Mice and Humans Based on Data Available at the Allen Mouse Brain Atlas and Allen Human Brain Atlas. *Neurol. Res. Int.* 2017, 7138926. <https://doi.org/10.1155/2017/7138926>
- Aleman, A., Kahn, R.S., Selten, J.-P., 2003. Sex differences in the Risk of Schizophrenia Evidence From Meta-analysis. *Arch Gen Psychiatry* 60, 565–571. <https://doi.org/10.1111/j.1464-0597.1985.tb01327.x>
- Alexander, D.M., Flynn, G.J., Wong, W., Whitford, T.J., Harris, A.W.F., Galletly, C.A., Silverstein, S.M., 2009. Spatio-temporal EEG waves in first episode schizophrenia. *Clin. Neurophysiol.* 120, 1667–82. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2009.06.020>
- Amani, M., Samadi, H., Doosti, M.-H., Azarfarin, M., Bakhtiari, A., Majidi-Zolbanin, N., Mirza-Rahimi, M., Salari, A.-A., 2013. Neonatal NMDA receptor blockade alters anxiety- and depression-related behaviors in a sex-dependent manner in mice. *Neuropharmacology* 73, 87–97. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.04.056>
- Amodeo, D.A., Peterson, S., Pahua, A., Posadas, R., Hernandez, A., Hefner, E., Qi, D., Vega, J., 2018. 5-HT6 receptor agonist EMD386088 impairs behavioral flexibility and working memory. *Behav. Brain Res.* 349, 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.04.032>
- Anderson, W.W., Collingridge, G.L., 2001. The LTP Program: A data acquisition program for on-line analysis of long-term potentiation and other synaptic events. *J. Neurosci. Methods* 108, 71–83. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(01\)00374-0](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(01)00374-0)
- Andreasen, N.C., 1989. The Scale for the Assessment of Negative Symptoms (SANS): Conceptual and theoretical foundations. *Br. J. Psychiatry* 155, 49–52. <https://doi.org/10.1192/s0007125000291496>
- Andreasen, N.C., 1986. Scale for the Assessment of Positive Symptoms (SAPS). <https://doi.org/10.1037/t48377-000>
- Arango, C., Kirkpatrick, B., Buchanan, R.W., 2000. Neurological signs and the heterogeneity of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 157, 560–5. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.4.560>
- Arnt, J., Bang-Andersen, B., Grayson, B., Bymaster, F.P., Cohen, M.P., DeLapp, N.W., Giethlen, B., Kreilgaard, M., McKinzie, D.L., Neill, J.C., Nelson, D.L., Nielsen, S.M., Poulsen, M.N., Schaus, J.M., Witten, L.M., 2010. Lu AE58054, a 5-HT6 antagonist, reverses cognitive impairment induced by subchronic phencyclidine in a novel object recognition test in rats. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13, 1021–33. <https://doi.org/10.1017/S1461145710000659>
- Arnt, J., Olsen, C.K., 2011. 5-HT6 receptor ligands and their antipsychotic potential. *Int. Rev. Neurobiol.* 96, 141–61. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00006-1>
- Ashby, D.M., Habib, D., Dringenberg, H.C., Reynolds, J.N., Beninger, R.J., 2010. Subchronic MK-801 treatment and post-weaning social isolation in rats: Differential effects on locomotor activity and hippocampal long-term potentiation. *Behav. Brain Res.* 212, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.041>
- Asselot, R., Simon-O'Brien, E., Lebourgeois, S., Nee, G., Delaunay, V., Duchatelle, P., Bouet, V., Dauphin, F., 2017. Time-dependent impact of glutamatergic modulators on the promnesiant effect of 5-HT6R blockade on mice recognition memory. *Pharmacol. Res.* 118, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.06.009>
- Asztely, F., Xiao, M.Y., Gustafsson, B., 1996. Long-term potentiation and paired-pulse facilitation in the hippocampal CA1 region. *Neuroreport* 7, 1609–12. <https://doi.org/10.1097/00001756-199607080-00016>

**B**

- Babenko, O., Kovalchuk, I., Metz, G.A.S., 2015. Stress-induced perinatal and transgenerational epigenetic programming of brain development and mental health. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 48, 70–91. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.11.013>
- Bacqué-Cazenave, J., Bharatiya, R., Barrière, G., Delbecq, J.-P., Bouguiyou, N., Di Giovanni, G., Cattaert, D., De Deurwaerdère, P., 2020. Serotonin in Animal Cognition and Behavior. *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21051649>
- Badowska, D.M., Brzózka, M.M., Kannaiyan, N., Thomas, C., Dibaj, P., Chowdhury, A., Steffens, H., Turck, C.W., Falkai, P., Schmitt, A., Papiol, S., Scheuss, V., Willig, K.I., Martins-de-Souza, D., Rhee, J.S., Malzahn, D., Rossner, M.J., 2020. Modulation of cognition and neuronal plasticity in gain- and loss-of-function mouse models of the schizophrenia

## | Références bibliographiques

- risk gene Tcf4. *Transl. Psychiatry* 10, 343. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-01026-7>
- Bahmani, Z., Clark, K., Merrikhi, Y., Mueller, A., Pettine, W., Isabel Vanegas, M., Moore, T., Noudoost, B., 2019. Prefrontal Contributions to Attention and Working Memory. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 41, 129–153. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2018\\_74](https://doi.org/10.1007/7854_2018_74)
- Balu, D.T., 2016. The NMDA Receptor and Schizophrenia: From Pathophysiology to Treatment. *Adv. Pharmacol.* 76, 351–82. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2016.01.006>
- Balu, D.T., Li, Y., Puhl, M.D., Benneyworth, M.A., Basu, A.C., Takagi, S., Bolshakov, V.Y., Coyle, J.T., 2013. Multiple risk pathways for schizophrenia converge in serine racemase knockout mice, a mouse model of NMDA receptor hypofunction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110, E2400–9. <https://doi.org/10.1073/pnas.1304308110>
- Balu, D.T., Takagi, S., Puhl, M.D., Benneyworth, M.A., Coyle, J.T., 2014. d-Serine and Serine Racemase are Localized to Neurons in the Adult Mouse and Human Forebrain. *Cell. Mol. Neurobiol.* 34, 419–435. <https://doi.org/10.1007/s10571-014-0027-z>
- Ban, T.A., 2007. Fifty years chlorpromazine: a historical perspective. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 3, 495–500.
- Bardin, L., 2011. The complex role of serotonin and 5-HT receptors in chronic pain. *Behav. Pharmacol.* 22, 390–404. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328349aae4>
- Barkus, C., Sanderson, D.J., Rawlins, J.N.P., Walton, M.E., Harrison, P.J., Bannerman, D.M., 2014. What causes aberrant salience in schizophrenia? A role for impaired short-term habituation and the GRIA1 (GluA1) AMPA receptor subunit. *Mol. Psychiatry* 19, 1060–70. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.91>
- Barnes, N.M., Ahern, G.P., Becamel, C., Bockaert, J., Camilleri, M., Chaumont-Dubel, S., Claeysen, S., Cunningham, K.A., Fone, K.C., Gershon, M., Di Giovanni, G., Goodfellow, N.M., Halberstadt, A.L., Hartley, R.M., Hassaine, G., Herrick-Davis, K., Hovius, R., Lacivita, E., Lambe, E.K., Leopoldo, M., Levy, F.O., Lummis, S.C.R., Marin, P., Maroteaux, L., McCreary, A.C., Nelson, D.L., Neumaier, J.F., Newman-Tancredi, A., Nury, H., Roberts, A., Roth, B.L., Roumier, A., Sanger, G.J., Teitler, M., Sharp, T., Villalón, C.M., Vogel, H., Watts, S.W., Hoyer, D., 2021. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CX. Classification of Receptors for 5-hydroxytryptamine; Pharmacology and Function. *Pharmacol. Rev.* 73, 310–520. <https://doi.org/10.1124/pr.118.015552>
- Bashir, Z.I., Tam, B., Collingridge, G.L., 1990. Activation of the glycine site in the NMDA receptor is necessary for the induction of LTP. *Neurosci. Lett.* 108, 261–6. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(90\)90651-o](https://doi.org/10.1016/0304-3940(90)90651-o)
- Bassett, A.S., Chow, E.W., Weksberg, R., 2000. Chromosomal abnormalities and schizophrenia. *Am. J. Med. Genet.* 97, 45–51. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-8628\(200021\)97:1<45::aid-ajmg6>3.0.co;2-9](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-8628(200021)97:1<45::aid-ajmg6>3.0.co;2-9)
- Basu, A.C., Tsai, G.E., Ma, C.L., Ehmsen, J.T., Mustafa, A.K., Han, L., Jiang, Z.I., Benneyworth, M.A., Froimowitz, M.P., Lange, N., Snyder, S.H., Bergeron, R., Coyle, J.T., 2009. Targeted disruption of serine racemase affects glutamatergic neurotransmission and behavior. *Mol. Psychiatry* 14, 719–727. <https://doi.org/10.1038/mp.2008.130>
- Beasley, C.L., Reynolds, G.P., 1997. Parvalbumin-immunoreactive neurons are reduced in the prefrontal cortex of schizophrenics. *Schizophr. Res.* 24, 349–55. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(96\)00122-3](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(96)00122-3)
- Beck, K., Hindley, G., Borgan, F., Ginestet, C., McCutcheon, R., Brugger, S., Driesen, N., Ranganathan, M., D’Souza, D.C., Taylor, M., Krystal, J.H., Howes, O.D., 2020. Association of Ketamine With Psychiatric Symptoms and Implications for Its Therapeutic Use and for Understanding Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Netw. open* 3, e204693. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.4693>
- Belzung, C., Lemoine, M., 2011. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biol. Mood Anxiety Disord.* 1, 9. <https://doi.org/10.1186/2045-5380-1-9>
- Benhamú, B., Martín-Fontecha, M., Vázquez-Villa, H., Pardo, L., López-Rodríguez, M.L., 2014. Serotonin 5-HT6 receptor antagonists for the treatment of cognitive deficiency in Alzheimer’s disease. *J. Med. Chem.* 57, 7160–81. <https://doi.org/10.1021/jm5003952>
- Bentley, J.C., Bourson, A., Boess, F.G., Fone, K.C., Marsden, C.A., Petit, N., Sleight, A.J., 1999. Investigation of stretching behaviour induced by the selective 5-HT6 receptor antagonist, Ro 04-6790, in rats. *Br. J. Pharmacol.* 126, 1537–42. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0702445>
- Berdenis van Berlekom, A., Notman, N., Sneeboer, M.A., Snijders, G.J., Houtepen, L.C., Nispeling, D.M., He, Y., Dracheva, S., Hol, E.M., Kahn, R.S., de Witte, L.D., Boks, M.P., Psychiatric Donor Program of the Netherlands Brain Bank (NBB-PSY), 2021. DNA methylation differences in cortical grey and white matter in schizophrenia. *Epigenomics* 13, 1157–1169. <https://doi.org/10.2217/epi-2021-0077>
- Biedermann, F., Fleischhacker, W.W., 2016. Psychotic disorders in DSM-5 and ICD-11. *CNS Spectr.* <https://doi.org/10.1017/S1092852916000316>
- Billard, J.-M., Rouaud, E., 2007. Deficit of NMDA receptor activation in CA1 hippocampal area of aged rats is rescued by D-cycloserine. *Eur. J. Neurosci.* 25, 2260–8. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05488.x>
- Billard, J., 2010. Long-term depression in the hippocampal CA1 area of aged rats, revisited: contribution of temporal constraints related to slice preparation. *PLoS One* 5, e9843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009843>
- Bird, E.D., Spokes, E.G., Barnes, J., MacKay, A. V, Iversen, L.L., Shepherd, M., 1977. Increased brain dopamine and reduced glutamic acid decarboxylase and choline acetyl transferase activity in schizophrenia and related psychoses. *Lancet (London, England)* 2, 1157–8. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(77\)91542-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(77)91542-2)

## | Références bibliographiques

- Bleuler, E., 1911. Dementia Praecox ou groupe des schizophrénies. [dementia Praecox oder Gruppe der Schizophrenien] [1993].
- Bliss, T.V.P., Collingridge, G.L., 1993. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31–39. <https://doi.org/10.1038/361031a0>
- Bockaert, J., Bécamel, C., Chaumont-Dubel, S., Claeysen, S., Vandermoere, F., Marin, P., 2021. Novel and atypical pathways for serotonin signaling. *Fac. Rev.* 10, 52. <https://doi.org/10.12703/r/10-52>
- Bockaert, J., Claeysen, S., Dumuis, A., Marin, P., 2010. Classification and Signaling Characteristics of 5-HT Receptors. pp. 103–121. [https://doi.org/10.1016/S1569-7339\(10\)70073-4](https://doi.org/10.1016/S1569-7339(10)70073-4)
- Boess, F.G., Riemer, C., Bös, M., Bentley, J., Bourson, A., Sleight, A.J., 1998. The 5-hydroxytryptamine<sub>6</sub> receptor-selective radioligand [<sup>3</sup>H]Ro 63-0563 labels 5-hydroxytryptamine receptor binding sites in rat and porcine striatum. *Mol. Pharmacol.* 54, 577–83. <https://doi.org/10.1124/mol.54.3.577>
- Bollen, K., Cacioppo, J.T., Kaplan, R.M., Krosnick, J.A., Olds, J.L., Dean, H., 2015. Social, behavioral, and economic sciences perspectives on robust and reliable science. Report of the Subcommittee on Replicability in Science Advisory Committee to the National Science Foundation Directorate for Social, Behavioral, and Economic Sciences. [WWW Document].
- Bondar, N.P., Lepeshko, A.A., Reshetnikov, V. V., 2018. Effects of Early-Life Stress on Social and Anxiety-Like Behaviors in Adult Mice: Sex-Specific Effects. *Behav. Neurol.* 2018, 32–34. <https://doi.org/10.1155/2018/1538931>
- Bönsch, D., Wunschel, M., Lenz, B., Janssen, G., Weisbrod, M., Sauer, H., 2012. Methylation matters? Decreased methylation status of genomic DNA in the blood of schizophrenic twins. *Psychiatry Res.* 198, 533–7. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2011.09.004>
- Boog, G., 2003. [Obstetrical complications and further schizophrenia of the infant: a new medicolegal threat to the obstetrician?]. *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod. (Paris)*. 32, 720–7.
- Bora, E., Yücel, M., Pantelis, C., 2010. Cognitive impairment in schizophrenia and affective psychoses: Implications for dsm-v criteria and beyond. *Schizophr. Bull.* 36, 36–42. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp094>
- Bös, M., Sleight, A.J., Godel, T., Martin, J.R., Riemer, C., Stadler, H., 2001. 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists: lead optimisation and biological evaluation of N-aryl and N-heteroaryl 4-amino-benzene sulfonamides. *Eur. J. Med. Chem.* 36, 165–78. [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(00\)01209-5](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(00)01209-5)
- Boucher, A.A., Arnold, J.C., Duffy, L., Schofield, P.R., Micheau, J., Karl, T., 2007. Heterozygous neuregulin 1 mice are more sensitive to the behavioural effects of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol. *Psychopharmacology (Berl)*. 192, 325–336. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0721-3>
- Boucher, A.A., Hunt, G.E., Micheau, J., Huang, X., McGregor, I.S., Karl, T., Arnold, J.C., 2011. The schizophrenia susceptibility gene neuregulin 1 modulates tolerance to the effects of cannabinoids. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 14, 631–643. <https://doi.org/10.1017/S146114571000091X>
- Bouet, V., Boulouard, M., Freret, T., 2016. Animal Models of Schizophrenia: An Update [WWW Document]. *Adv. Schizophr. Res.* URL <http://openaccessebooks.com/schizophrenia-research/animal-models-of-schizophrenia-an-update.pdf> (accessed 9.21.23).
- Bouet, V., Lecrux, B., Tran, G., Freret, T., 2011. Effect of pre- versus post-weaning environmental disturbances on social behaviour in mice. *Neurosci. Lett.* 488, 221–224. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.11.033>
- Bouet, V., Percelay, S., Leroux, E., Diarra, B., Léger, M., Delcroix, N., Andrieux, A., Dollfus, S., Freret, T., Boulouard, M., 2021. A new 3-hit mouse model of schizophrenia built on genetic, early and late factors. *Schizophr. Res.* 228, 519–528. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2020.11.043>
- Bourc'his, D., 2015. Épigénétique. [WWW Document]. URL <https://www.inserm.fr/dossier/epigenetique/>
- Bowers, M.B., 1974. Central Dopamine Turnover in Schizophrenic Syndromes. *Arch. Gen. Psychiatry* 31, 50. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1974.01760130034005>
- Boyd-Kimball, D., Gonczy, K., Lewis, B., Mason, T., Siliko, N., Wolfe, J., 2019. Classics in Chemical Neuroscience: Chlorpromazine. *ACS Chem. Neurosci.* 10, 79–88. <https://doi.org/10.1021/acchemneuro.8b00258>
- Brady, R.O., Gonsalvez, I., Lee, I., Öngür, D., Seidman, L.J., Schmahmann, J.D., Eack, S.M., Keshavan, M.S., Pascual-Leone, A., Halko, M.A., 2019. Cerebellar-Prefrontal Network Connectivity and Negative Symptoms in Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 176, 512–520. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2018.18040429>
- Brandon, N.J., Sawa, A., 2011a. Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 707–22. <https://doi.org/10.1038/nrn3120>
- Brandon, N.J., Sawa, A., 2011b. Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1. *Nat. Rev. Neurosci.* 12, 707–22. <https://doi.org/10.1038/nrn3120>
- Brindisi, M., Butini, S., Franceschini, S., Brogi, S., Trotta, F., Ros, S., Cagnotto, A., Salmona, M., Casagni, A., Andreassi, M., Saponara, S., Gorelli, B., Weikop, P., Mikkelsen, J.D., Scheel-Kruger, J., Sandager-Nielsen, K., Novellino, E., Campiani, G., Gemma, S., 2014. Targeting dopamine D<sub>3</sub> and serotonin 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2A</sub> receptors for developing effective antipsychotics: synthesis, biological characterization, and behavioral studies. *J. Med. Chem.* 57, 9578–97. <https://doi.org/10.1021/jm501119j>
- Brodsky, M., Lesiak, A.J., Croicu, A., Cohenca, N., Sullivan, J.M., Neumaier, J.F., 2017. 5-HT<sub>6</sub> receptor blockade regulates

## | Références bibliographiques

- primary cilia morphology in striatal neurons. *Brain Res.* 1660, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2017.01.010>
- Bromidge, Steven M., Brown, A.M., Clarke, S.E., Dodgson, K., Gager, T., Grassam, H.L., Jeffrey, P.M., Joiner, G.F., King, F.D., Middlemiss, D.N., Moss, S.F., Newman, H., Riley, G., Routledge, C., Wyman, P., 1999. 5-Chloro-N-(4-methoxy-3-piperazin-1-yl-phenyl)-3-methyl-2-benzothiophenesulfonamide (SB-271046): A potent, selective, and orally bioavailable 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist [1]. *J. Med. Chem.* 42, 202–205. <https://doi.org/10.1021/jm980532e>
- Bromidge, S M, Brown, A.M., Clarke, S.E., Dodgson, K., Gager, T., Grassam, H.L., Jeffrey, P.M., Joiner, G.F., King, F.D., Middlemiss, D.N., Moss, S.F., Newman, H., Riley, G., Routledge, C., Wyman, P., 1999. 5-Chloro-N-(4-methoxy-3-piperazin-1-yl- phenyl)-3-methyl-2-benzothiophenesulfon- amide (SB-271046): a potent, selective, and orally bioavailable 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist. *J. Med. Chem.* 42, 202–5. <https://doi.org/10.1021/jm980532e>
- Bromidge, S.M., Clarke, S.E., Gager, T., Griffith, K., Jeffrey, P., Jennings, A.J., Joiner, G.F., King, F.D., Lovell, P.J., Moss, S.F., Newman, H., Riley, G., Rogers, D., Routledge, C., Serafinowska, H., Smith, D.R., 2001. Phenyl benzenesulfonamides are novel and selective 5-HT<sub>6</sub> antagonists: identification of N-(2,5-dibromo-3-fluorophenyl)-4-methoxy-3-piperazin-1-ylbenzenesulfonamide (SB-357134). *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11, 55–8. [https://doi.org/10.1016/s0960-894x\(00\)00597-7](https://doi.org/10.1016/s0960-894x(00)00597-7)
- Buck, S.A., Quincy Erickson-Oberg, M., Logan, R.W., Freyberg, Z., 2022. Relevance of interactions between dopamine and glutamate neurotransmission in schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 27, 3583–3591. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01649-w>
- Buckley, P.F., 2005. Neuroimaging of schizophrenia: structural abnormalities and pathophysiological implications. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 1, 193–204.

## C

- Callicott, J.H., Straub, R.E., Pezawas, L., Egan, M.F., Mattay, V.S., Hariri, A.R., Verchinski, B.A., Meyer-Lindenberg, A., Balkissoon, R., Kolachana, B., Goldberg, T.E., Weinberger, D.R., 2005. Variation in DISC1 affects hippocampal structure and function and increases risk for schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102, 8627–32. <https://doi.org/10.1073/pnas.0500515102>
- Carey, R.J., Dai, H., Gui, J., 1998. Effects of dizocilpine (MK-801) on motor activity and memory. *Psychopharmacology (Berl)*. 137, 241–6. <https://doi.org/10.1007/s002130050616>
- Carreira, M.B., Cossio, R., Britton, G.B., 2017. Individual and sex differences in high and low responder phenotypes. *Behav. Processes* 136, 20–27. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2017.01.006>
- Čater, M., Majdič, G., 2022. How early maternal deprivation changes the brain and behavior? *Eur. J. Neurosci.* 55, 2058–2075. <https://doi.org/10.1111/ejn.15238>
- Cavalli, G., Heard, E., 2019. Advances in epigenetics link genetics to the environment and disease. *Nature* 571, 489–499. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1411-0>
- Center for Behavioral Health Statistics and Quality, 2016. IMPACT OF THE DSM-IV TO DSM-5 CHANGES ON THE NATIONAL SURVEY ON DRUG USE AND HEALTH. Substance Abuse and Mental health Services Admistration.
- Chang, H., Li, L., Li, M., Xiao, X., 2017. Rare and common variants at 16p11.2 are associated with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 184, 105–108. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.11.031>
- Chang, Y.-C., Li, W.-Y., Lee, L.J.-H., Lee, L.-J., 2020. Interplay of Prenatal and Postnatal Risk Factors in the Behavioral and Histological Features of a “Two-Hit” Non-Genetic Mouse Model of Schizophrenia. *Int. J. Mol. Sci.* 21. <https://doi.org/10.3390/ijms21228518>
- Charnay, Y., Léger, L., 2010. Brain serotonergic circuitries. *Dialogues Clin. Neurosci.* 12, 471–87. <https://doi.org/10.31887/DCNS.2010.12.4/ycharnay>
- Charpentier, P., Gailliot, P., Jacob, P., Gaudechon, J., Buisson, P., 1952. Recherches sur les diméthylaminopropyl-N phénothiazines substituées.
- Chaumont-Dubel, S., Dupuy, V., Bockaert, J., Bécamel, C., Marin, P., 2020. The 5-HT<sub>6</sub> receptor interactome: New insight in receptor signaling and its impact on brain physiology and pathologies. *Neuropharmacology* 172, 107839. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.107839>
- Chou, I.-J., Kuo, C.-F., Huang, Y.-S., Grainge, M.J., Valdes, A.M., See, L.-C., Yu, K.-H., Luo, S.-F., Huang, L.-S., Tseng, W.-Y., Zhang, W., Doherty, M., 2017. Familial Aggregation and Heritability of Schizophrenia and Co-aggregation of Psychiatric Illnesses in Affected Families. *Schizophr. Bull.* 43, 1070–1078. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbw159>
- Choy, K.H.C., de Visser, Y.P., van den Buuse, M., 2009. The effect of “two hit” neonatal and young-adult stress on dopaminergic modulation of prepulse inhibition and dopamine receptor density. *Br. J. Pharmacol.* 156, 388–96. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2008.00008.x>
- Clapcote, S.J., Lipina, T. V., Millar, J.K., Mackie, S., Christie, S., Ogawa, F., Lerch, J.P., Trimble, K., Uchiyama, M., Sakuraba, Y., Kaneda, H., Shiroishi, T., Houslay, M.D., Henkelman, R.M., Sled, J.G., Gondo, Y., Porteous, D.J., Roder, J.C.C., 2007. Behavioral Phenotypes of Disc1 Missense Mutations in Mice. *Neuron* 54, 387–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.04.015>

## | Références bibliographiques

- Clapcote, S.J., Roder, J.C., 2006. Deletion polymorphism of Disc1 is common to all 129 mouse substrains: Implications for gene-targeting studies of brain function. *Genetics* 173, 2407–2410. <https://doi.org/10.1534/genetics.106.060749>
- Codony, X., Vela, J.M., Ramírez, M.J., 2011. 5-HT(6) receptor and cognition. *Curr. Opin. Pharmacol.* 11, 94–100. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2011.01.004>
- Collingridge, G.L., Bliss, T.V.P., 1995. Memories of NMDA receptors and LTP. *Trends Neurosci.* 18, 54–56. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(95\)80016-U](https://doi.org/10.1016/0166-2236(95)80016-U)
- Correll, C.U., Howes, O.D., 2021. Treatment-Resistant Schizophrenia: Definition, Predictors, and Therapy Options. *J. Clin. Psychiatry* 82. <https://doi.org/10.4088/JCP.MY20096AH1C>
- Coyle, J.T., Balu, D.T., 2018. The Role of Serine Racemase in the Pathophysiology of Brain Disorders, in: *Physiology & Behavior*. pp. 35–56. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.10.002>
- Coyle, J.T., Tsai, G., Goff, D., 2003. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1003, 318–27. <https://doi.org/10.1196/annals.1300.020>
- Crawford, M.B., DeLisi, L.E., 2016. Issues related to sex differences in antipsychotic treatment. *Curr. Opin. Psychiatry* 29, 211–217. <https://doi.org/10.1097/YCO.0000000000000243>
- Crouzin, N., Baranger, K., Cavalier, M., Marchalant, Y., Cohen-Solal, C., Roman, F.S., Khrestchatisky, M., Rivera, S., Féron, F., Vignes, M., 2013. Area-Specific Alterations of Synaptic Plasticity in the 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease: Dissociation between Somatosensory Cortex and Hippocampus. *PLoS One* 8, e74667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074667>
- Crunfli, F., Brandão-Teles, C., Zuccoli, G.S., Chaves Filho, A.J.M., Vieira, G.M., Silva-Amaral, D., Crippa, J.A., Pedrazzi, J.F.C., Macêdo, D.S., Del-Bel, E., Gomes, F. V., 2022. What Can We Learn from Animal Models to Study Schizophrenia? *Adv. Exp. Med. Biol.* 1400, 15–33. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-97182-3\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-97182-3_2)
- Curzon, P., Decker, M.W., 1998. Effects of phencyclidine (PCP) and (+)MK-801 on sensorimotor gating in CD-1 mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 22, 129–46. [https://doi.org/10.1016/s0278-5846\(97\)00184-x](https://doi.org/10.1016/s0278-5846(97)00184-x)

## D

- Da Silva Costa-Aze, V., Dauphin, F., Boulouard, M., 2011. Serotonin 5-HT6 receptor blockade reverses the age-related deficits of recognition memory and working memory in mice. *Behav. Brain Res.* 222, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.046>
- Da Silva Costa-Aze, V., Quiedeville, A., Boulouard, M., Dauphin, F., 2012. 5-HT6 receptor blockade differentially affects scopolamine-induced deficits of working memory, recognition memory and aversive learning in mice. *Psychopharmacology (Berl.)* 222, 99–115. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2627-3>
- Dahlström, A., Fuxe, K., 1964. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia* 20, 398–9. <https://doi.org/10.1007/BF02147990>
- Davies, C., Segre, G., Estradé, A., Radua, J., De Micheli, A., Provenzani, U., Oliver, D., Salazar de Pablo, G., Ramella-Cravaro, V., Besozzi, M., Dazzan, P., Miele, M., Caputo, G., Spallarossa, C., Crossland, G., Ilyas, A., Spada, G., Politi, P., Murray, R.M., McGuire, P., Fusar-Poli, P., 2020. Prenatal and perinatal risk and protective factors for psychosis: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Psychiatry* 7, 399–410. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(20\)30057-2](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(20)30057-2)
- Davis, J., Eyre, H., Jacka, F.N., Dodd, S., Dean, O., McEwen, S., Debnath, M., McGrath, J., Maes, M., Amminger, P., McGorry, P.D., Pantelis, C., Berk, M., 2016. A review of vulnerability and risks for schizophrenia: Beyond the two hit hypothesis. *Neurosci. Biobehav. Rev.* <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.03.017>
- Davis, K.L., Kahn, R.S., Ko, G., Davidson, M., 1991. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. *Am. J. Psychiatry* 148, 1474–86. <https://doi.org/10.1176/ajp.148.11.1474>
- Dawson, L.A., Nguyen, H.Q., Li, P., 2001. The 5-HT6 receptor antagonist SB-271046 selectively enhances excitatory neurotransmission in the rat frontal cortex and hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 25, 662–668. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(01\)00265-2](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(01)00265-2)
- Dawson, L.A., Nguyen, H.Q., Li, P., 2000. In vivo effects of the 5-HT6 antagonist SB-271046 on striatal and frontal cortex extracellular concentrations of noradrenaline, dopamine, 5-HT, glutamate and aspartate. *Br. J. Pharmacol.* 130, 23–26. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703288>
- de Bruin, N., Kruse, C., 2015. 5-HT6 Receptor Antagonists: Potential Efficacy for the Treatment of Cognitive Impairment in Schizophrenia. *Curr. Pharm. Des.* 21, 3739–3759. <https://doi.org/10.2174/1381612821666150605112105>
- de Bruin, N.M.W.J., Prickaerts, J., Lange, J.H.M., Akkerman, S., Andriambelosen, E., de Haan, M., Wijnen, J., van Drimmelen, M., Hissink, E., Heijink, L., Kruse, C.G., 2010. SLV330, a cannabinoid CB1 receptor antagonist, ameliorates deficits in the T-maze, object recognition and Social Recognition Tasks in rodents. *Neurobiol. Learn. Mem.* 93, 522–31. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2010.01.010>
- de Bruin, N.M.W.J., van Drimmelen, M., Kops, M., van Elk, J., Wetering, M.M. de, Schwienbacher, I., 2013. Effects of risperidone, clozapine and the 5-HT6 antagonist GSK-742457 on PCP-induced deficits in reversal learning in the two-lever operant task in male Sprague Dawley rats. *Behav. Brain Res.* 244, 15–28.

## | Références bibliographiques

- <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.01.035>
- de Bruin, N.M.W.J., van Loevezijn, A., Wicke, K.M., de Haan, M., Venhorst, J., Lange, J.H.M., de Groote, L., van der Neut, M.A.W., Prickaerts, J., Andriambelosen, E., Foley, A.G., van Drimmelen, M., van der Wetering, M., Kruse, C.G., 2016. The selective 5-HT6 receptor antagonist SLV has putative cognitive- and social interaction enhancing properties in rodent models of cognitive impairment. *Neurobiol. Learn. Mem.* 133, 100–117. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2016.06.020>
- de Jong, I.E.M., Mørk, A., 2017. Antagonism of the 5-HT6 receptor - Preclinical rationale for the treatment of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 125, 50–63. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.07.010>
- De Miranda, J., Santoro, A., Engelen, S., Wolosker, H., 2000. Human serine racemase: Molecular cloning, genomic organization and functional analysis. *Gene* 256, 183–188. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(00\)00356-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(00)00356-5)
- De Vadder, F., Grasset, E., Mannerås Holm, L., Karsenty, G., Macpherson, A.J., Olofsson, L.E., Bäckhed, F., 2018. Gut microbiota regulates maturation of the adult enteric nervous system via enteric serotonin networks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 6458–6463. <https://doi.org/10.1073/pnas.1720017115>
- Debnath, M., Venkatasubramanian, G., Berk, M., 2015. Fetal programming of schizophrenia: Select mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 49, 90–104. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.12.003>
- DeCarolis, N.A., Eisch, A.J., 2010. Hippocampal neurogenesis as a target for the treatment of mental illness: a critical evaluation. *Neuropharmacology* 58, 884–93. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.12.013>
- Deng, W., Aimone, J.B., Gage, F.H., 2010. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat. Rev. Neurosci.* 11, 339–50. <https://doi.org/10.1038/nrn2822>
- Deraredj Nadim, W., Chaumont-Dubel, S., Madouri, F., Cobret, L., De Tauzia, M.-L., Zajdel, P., Bénédicti, H., Marin, P., Morisset-Lopez, S., 2016. Physical interaction between neurofibromin and serotonin 5-HT6 receptor promotes receptor constitutive activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 113, 12310–12315. <https://doi.org/10.1073/pnas.1600914113>
- Desbonnet, L., Konkoth, A., Laigne, A., McKernan, D., Holleran, L., McDonald, C., Morris, D.W., Donohoe, G., Kelly, J., 2022. Dual hit mouse model to examine the long-term effects of maternal immune activation and post-weaning social isolation on schizophrenia endophenotypes. *Behav. Brain Res.* 430. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113930>
- Deslauriers, J., Belleville, K., Beaudet, N., Sarret, P., Grignon, S., 2016. A two-hit model of suicide-trait-related behaviors in the context of a schizophrenia-like phenotype: Distinct effects of lithium chloride and clozapine. *Physiol. Behav.* 156, 48–58. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.01.002>
- Dienel, S.J., Lewis, D.A., 2019. Alterations in cortical interneurons and cognitive function in schizophrenia. *Neurobiol. Dis.* 131, 104208. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.06.020>
- Divac, N., Prostran, M., Jakovcević, I., Cerovac, N., 2014. Second-generation antipsychotics and extrapyramidal adverse effects. *Biomed Res. Int.* 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/656370>
- Djavadian, R.L., 2004. Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals. *Acta Neurobiol. Exp. (Wars)*. 64, 189–200.
- Dold, M., Samara, M.T., Li, C., Tardy, M., Leucht, S., 2015. Haloperidol versus first-generation antipsychotics for the treatment of schizophrenia and other psychotic disorders. *Cochrane database Syst. Rev.* 1, CD009831. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD009831.pub2>
- Dolinoy, D.C., Weidman, J.R., Jirtle, R.L., 2007. Epigenetic gene regulation: Linking early developmental environment to adult disease. *Reprod. Toxicol.* 23, 297–307. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2006.08.012>
- Dollfus, S., Delouche, C., Hervochon, C., Mach, C., Bourgeois, V., Rotharmel, M., Tréhout, M., Vandeveld, A., Guillin, O., Morello, R., 2019. Specificity and sensitivity of the Self-assessment of Negative Symptoms (SNS) in patients with schizophrenia. *Schizophr. Res.* 211, 51–55. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2019.07.012>
- Doucet, E., Grychowska, K., Zajdel, P., Bockaert, J., Marin, P., Bécamel, C., 2021. Blockade of Serotonin 5-HT6 Receptor Constitutive Activity Alleviates Cognitive Deficits in a Preclinical Model of Neurofibromatosis Type 1. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms221810178>
- Downhill, J.E., Buchsbaum, M.S., Hazlett, E.A., Barth, S., Lees Roitman, S., Nunn, M., Lekarev, O., Wei, T., Shihabuddin, L., Mitropoulou, V., Silverman, J., Siever, L.J., 2001. Temporal lobe volume determined by magnetic resonance imaging in schizotypal personality disorder and schizophrenia. *Schizophr. Res.* 48, 187–99. [https://doi.org/10.1016/S0920-9964\(00\)00131-6](https://doi.org/10.1016/S0920-9964(00)00131-6)
- Dracheva, S., Elhakem, S.L., McGurk, S.R., Davis, K.L., Haroutunian, V., 2004. GAD67 and GAD65 mRNA and protein expression in cerebrocortical regions of elderly patients with schizophrenia. *J. Neurosci. Res.* 76, 581–92. <https://doi.org/10.1002/jnr.20122>
- Duan, X., Chang, J.H., Ge, S., Faulkner, R.L., Kim, J.Y., Kitabatake, Y., Liu, X., Yang, C.-H., Jordan, J.D., Ma, D.K., Liu, C.Y., Ganesan, S., Cheng, H.-J., Ming, G., Lu, B., Song, H., 2007. Disrupted-In-Schizophrenia 1 regulates integration of newly generated neurons in the adult brain. *Cell* 130, 1146–58. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.07.010>
- Duhr, F., Délérès, P., Raynaud, F., Séveno, M., Morisset-Lopez, S., Mannoury la Cour, C., Millan, M.J., Bockaert, J., Marin, P., Chaumont-Dubel, S., 2014. Cdk5 induces constitutive activation of 5-HT6 receptors to promote neurite growth.

## | Références bibliographiques

- Nat. Chem. Biol. 10, 590–7. <https://doi.org/10.1038/nchembio.1547>
- Duncan, G.E., Moy, S.S., Lieberman, J.A., Koller, B.H., 2006. Typical and atypical antipsychotic drug effects on locomotor hyperactivity and deficits in sensorimotor gating in a genetic model of NMDA receptor hypofunction. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 85, 481–91. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.09.017>
- Dupuy, V., Prieur, M., Pizzoccaro, A., Margarido, C., Valjent, E., Bockaert, J., Bouschet, T., Marin, P., Chaumont-Dubel, S., 2023. Spatiotemporal dynamics of 5-HT6 receptor ciliary localization during mouse brain development. *Neurobiol. Dis.* 176. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105949>
- Dussor, G., 2014. Serotonin, 5HT1 agonists, and migraine: new data, but old questions still not answered. *Curr. Opin. Support. Palliat. Care* 8, 137–42. <https://doi.org/10.1097/SPC.0000000000000044>

## E

- Eells, J.B., Mislér, J.A., Nikodem, V.M., 2006. Early postnatal isolation reduces dopamine levels, elevates dopamine turnover and specifically disrupts prepulse inhibition in Nurr1-null heterozygous mice. *Neuroscience* 140, 1117–26. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.12.065>
- Eiden, L.E., Schäfer, M.K.-H., Weihe, E., Schütz, B., 2004. The vesicular amine transporter family (SLC18): amine/proton antiporters required for vesicular accumulation and regulated exocytotic secretion of monoamines and acetylcholine. *Pflugers Arch.* 447, 636–40. <https://doi.org/10.1007/s00424-003-1100-5>
- Ellenbroek, B.A., Cools, A.R., 2002. Early maternal deprivation and prepulse inhibition: the role of the postdeprivation environment. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 73, 177–184. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(02\)00794-3](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(02)00794-3)
- Ellenbroek, B.A., van den Kroonenberg, P.T., Cools, A.R., 1998. The effects of an early stressful life event on sensorimotor gating in adult rats. *Schizophr. Res.* 30, 251–260. [https://doi.org/10.1016/s0920-9964\(97\)00149-7](https://doi.org/10.1016/s0920-9964(97)00149-7)
- Emack, J., Kostaki, A., Walker, C.-D., Matthews, S.G., 2008. Chronic maternal stress affects growth, behaviour and hypothalamo-pituitary-adrenal function in juvenile offspring. *Horm. Behav.* 54, 514–20. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2008.02.025>
- Emsley, J.G., Mitchell, B.D., Kempermann, G., Macklis, J.D., 2005. Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells. *Prog. Neurobiol.* 75, 321–41. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.04.002>
- Ersahin, T., Tuncbag, N., Cetin-Atalay, R., 2015. The PI3K/AKT/mTOR interactive pathway. *Mol. Biosyst.* 11, 1946–54. <https://doi.org/10.1039/c5mb00101c>

## F

- Fabricius, K., Wörtwein, G., Pakkenberg, B., 2008. The impact of maternal separation on adult mouse behaviour and on the total neuron number in the mouse hippocampus. *Brain Struct. Funct.* 212, 403–416. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0169-6>
- Fares, J., Bou Diab, Z., Nabha, S., Fares, Y., 2019. Neurogenesis in the adult hippocampus: history, regulation, and prospective roles. *Int. J. Neurosci.* 129, 598–611. <https://doi.org/10.1080/00207454.2018.1545771>
- Ferguson, B.R., Gao, W.-J., 2018. PV Interneurons: Critical Regulators of E/I Balance for Prefrontal Cortex-Dependent Behavior and Psychiatric Disorders. *Front. Neural Circuits* 12, 37. <https://doi.org/10.3389/fncir.2018.00037>
- Ferrarelli, F., 2021. Sleep Abnormalities in Schizophrenia: State of the Art and Next Steps. *Am. J. Psychiatry* 178, 903–913. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.20070968>
- Feyissa, D.D., Aher, Y.D., Engidawork, E., Höger, H., Lubec, G., Korz, V., 2017. Individual Differences in Male Rats in a Behavioral Test Battery: A Multivariate Statistical Approach. *Front. Behav. Neurosci.* 11, 26. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00026>
- Fijał, K., Popik, P., Nikiforuk, A., 2014. Co-administration of 5-HT6 receptor antagonists with clozapine, risperidone, and a 5-HT2A receptor antagonist: effects on prepulse inhibition in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 231, 269–81. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3234-2>
- Fišar, Z., 2023. Biological hypotheses, risk factors, and biomarkers of schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 120, 110626. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2022.110626>
- Fisher, G., Roget, N., 2014. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, in: *Encyclopedia of Substance Abuse Prevention, Treatment, & Recovery*. American Psychiatric Pub. <https://doi.org/10.4135/9781412964500.n104>
- Fitzsimmons, J., Kubicki, M., Shenton, M.E., 2013. Review of functional and anatomical brain connectivity findings in schizophrenia. *Curr. Opin. Psychiatry* 26, 172–87. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e32835d9e6a>
- Foley, A.G., Murphy, K.J., Hirst, W.D., Gallagher, H.C., Hagan, J.J., Upton, N., Walsh, F.S., Regan, C.M., 2004. The 5-HT6 Receptor Antagonist SB-271046 Reverses Scopolamine-Disrupted Consolidation of a Passive Avoidance Task and Ameliorates Spatial Task Deficits in Aged Rats. *Neuropsychopharmacology* 29, 93–100. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300332>

## | Références bibliographiques

- Fone, K.C.F., 2008. An update on the role of the 5-hydroxytryptamine<sub>6</sub> receptor in cognitive function. *Neuropharmacology* 55, 1015–22. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.06.061>
- Forrest, M.P., Hill, M.J., Quantock, A.J., Martin-Rendon, E., Blake, D.J., 2014. The emerging roles of TCF4 in disease and development. *Trends Mol. Med.* 20, 322–31. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2014.01.010>
- Foster, R.H., Goa, K.L., 1998. Risperidone. A pharmacoeconomic review of its use in schizophrenia. *Pharmacoeconomics* 14, 97–133. <https://doi.org/10.2165/00019053-199814010-00009>
- Fry, B.R., Russell, N., Gifford, R., Robles, C.F., Manning, C.E., Sawa, A., Niwa, M., Johnson, A.W., 2020. Assessing Reality Testing in Mice Through Dopamine-Dependent Associatively Evoked Processing of Absent Gustatory Stimuli. *Schizophr. Bull.* 46, 54–67. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbz043>

## G

- Gabínio, T., Ricci, T., Kahn, J.P., Malaspina, D., Moreira, H., Veras, A.B., 2018. Early trauma, attachment experiences and comorbidities in schizophrenia. *Trends psychiatry Psychother.* 40, 179–184. <https://doi.org/10.1590/2237-6089-2017-0005>
- Gaddum, J.H., Picarelli, Z.P., 1957. Two kinds of tryptamine receptor. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 12, 323–8. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1957.tb00142.x>
- Garay, R.P., Bourin, M., de Paillette, E., Samalin, L., Hameg, A., Llorca, P.-M., 2016. Potential serotonergic agents for the treatment of schizophrenia. *Expert Opin. Investig. Drugs* 25, 159–70. <https://doi.org/10.1517/13543784.2016.1121995>
- Gaskin, P.L., Alexander, S.P., Fone, K.C., 2014. Neonatal phencyclidine administration and post-weaning social isolation as a dual-hit model of ‘schizophrenia-like’ behaviour in the rat. *Psychopharmacology (Berl)*. 231, 2533–2545. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3424-y>
- Gaskin, P.L., Toledo-Rodriguez, M., Alexander, S.P., Fone, K.C., 2016. Down-Regulation of Hippocampal Genes Regulating Dopaminergic, GABAergic, and Glutamatergic Function Following Combined Neonatal Phencyclidine and Post-Weaning Social Isolation of Rats as a Neurodevelopmental Model for Schizophrenia. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 19. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw062>
- Geldenhuis, W.J., Van der Schyf, C.J., 2009. The serotonin 5-HT<sub>6</sub> receptor: a viable drug target for treating cognitive deficits in Alzheimer’s disease. *Expert Rev. Neurother.* 9, 1073–85. <https://doi.org/10.1586/ern.09.51>
- Geng, F., Tian, J., Wu, J.L., Luo, Y., Zou, W.J., Peng, C., Lu, G.F., 2018. Dorsomedial prefrontal cortex 5-HT<sub>6</sub> receptors regulate anxiety-like behavior. *Cogn. Affect. Behav. Neurosci.* 18, 58–67. <https://doi.org/10.3758/s13415-017-0552-6>
- Gérard, C., el Mestikawy, S., Lebrand, C., Adrien, J., Ruat, M., Traffort, E., Hamon, M., Martres, M.P., 1996. Quantitative RT-PCR distribution of serotonin 5-HT<sub>6</sub> receptor mRNA in the central nervous system of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *Synapse* 23, 164–73. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2396\(199607\)23:3<164::AID-SYN5>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199607)23:3<164::AID-SYN5>3.0.CO;2-6)
- Gérard, C., Martres, M.P., Lefèvre, K., Miquel, M.C., Vergé, D., Lanfumey, L., Doucet, E., Hamon, M., El Mestikawy, S., 1997. Immune-localization of serotonin 5-HT<sub>6</sub> receptor-like material in the rat central nervous system. *Brain Res.* 746, 207–219. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(96\)01224-3](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(96)01224-3)
- Gilabert-Juan, J., Belles, M., Saez, A.R., Carceller, H., Zamarbide-Fores, S., Moltó, M.D., Nacher, J., 2013. A “double hit” murine model for schizophrenia shows alterations in the structure and neurochemistry of the medial prefrontal cortex and the hippocampus. *Neurobiol. Dis.* 59, 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.07.008>
- Gilbert, P.E., Kesner, R.P., Lee, I., 2001. Dissociating hippocampal subregions: double dissociation between dentate gyrus and CA1. *Hippocampus* 11, 626–36. <https://doi.org/10.1002/hipo.1077>
- Girardi, C.E.N., Zanta, N.C., Suchecki, D., 2014. Neonatal stress-induced affective changes in adolescent Wistar rats: early signs of schizophrenia-like behavior. *Front. Behav. Neurosci.* 8, 319. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00319>
- Glatt, C.E., Snowman, A.M., Sibley, D.R., Snyder, S.H., 1995. Clozapine: Selective Labeling of Sites Resembling 5HT<sub>6</sub> Serotonin Receptors May Reflect Psychoactive Profile. *Mol. Med.* 1, 398–406. <https://doi.org/10.1007/BF03401577>
- Goltsov, A.Y., Loseva, J.G., Andreeva, T. V., Grigorenko, A.P., Abramova, L.I., Kaleda, V.G., Orlova, V.A., Moliaka, Y.K., Rogaev, E.I., 2006. Polymorphism in the 5′-promoter region of serine racemase gene in schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 11, 325–326. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001801>
- Gong, N., Li, Y., Cai, G.-Q., Niu, R.-F., Fang, Q., Wu, K., Chen, Z., Lin, L.-N., Xu, L., Fei, J., Xu, T.-L., 2009. GABA transporter-1 activity modulates hippocampal theta oscillation and theta burst stimulation-induced long-term potentiation. *J. Neurosci.* 29, 15836–45. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4643-09.2009>
- Goodman, S.N., Fanelli, D., Ioannidis, J.P.A., 2016. What does research reproducibility mean? *Sci. Transl. Med.* 8, 341ps12. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaf5027>
- Gravius, A., Laszy, J., Pietraszek, M., Ságghy, K., Nagel, J., Chambon, C., Wegener, N., Valastro, B., Danysz, W., Gyertyán, I., 2011. Effects of 5-HT<sub>6</sub> antagonists, Ro-4368554 and SB-258585, in tests used for the detection of cognitive enhancement and antipsychotic-like activity. *Behav. Pharmacol.* 22, 122–35.

## | Références bibliographiques

<https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e328343d804>

- Gründer, G., Hippus, H., Carlsson, A., 2009. The “atypicality” of antipsychotics: a concept re-examined and re-defined. *Nat. Rev. Drug Discov.* 8, 197–202. <https://doi.org/10.1038/nrd2806>
- Guerrin, C.G.J., Doorduyn, J., Sommer, I.E., de Vries, E.F.J., 2021. The dual hit hypothesis of schizophrenia: Evidence from animal models. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 131, 1150–1168. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.10.025>
- Gururajan, A., Taylor, D.A., Malone, D.T., 2012. Cannabidiol and clozapine reverse MK-801-induced deficits in social interaction and hyperactivity in Sprague-Dawley rats. *J. Psychopharmacol.* 26, 1317–32. <https://doi.org/10.1177/0269881112441865>
- Guze, S., 1995. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed. (DSM-IV). *Am. J. Psychiatry* 152, 1228–1228. <https://doi.org/10.1176/ajp.152.8.1228>

## H

- Hagiwara, H., Iyo, M., Hashimoto, K., 2013. Neonatal Disruption of Serine Racemase Causes Schizophrenia-Like Behavioral Abnormalities in Adulthood: Clinical Rescue by D-Serine. *PLoS One* 8, e62438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062438>
- Hainmueller, T., Bartos, M., 2020. Dentate gyrus circuits for encoding, retrieval and discrimination of episodic memories. *Nat. Rev. Neurosci.* 21, 153–168. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0260-z>
- Hamel, E., 2007. Serotonin and migraine: biology and clinical implications. *Cephalalgia* 27, 1293–300. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2982.2007.01476.x>
- Hamieh, A.M., Babin, D., Sablé, E., Hernier, A.M., Castagné, V., 2021. Neonatal phencyclidine and social isolation in the rat: effects of clozapine on locomotor activity, social recognition, prepulse inhibition, and executive functions deficits. *Psychopharmacology (Berl)*. 238, 517–528. <https://doi.org/10.1007/s00213-020-05700-y>
- Hamson, D.K., Roes, M.M., Galea, L.A.M., 2016. Sex Hormones and Cognition: Neuroendocrine Influences on Memory and Learning. *Compr. Physiol.* 6, 1295–337. <https://doi.org/10.1002/cphy.c150031>
- Haque, F.N., Lipina, T. V., Roder, J.C., Wong, A.H.C., 2012. Social defeat interacts with Disc1 mutations in the mouse to affect behavior. *Behav. Brain Res.* 233, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.05.037>
- Harrison, P.J., 2015. Recent genetic findings in schizophrenia and their therapeutic relevance. *J. Psychopharmacol.* 29, 85–96. <https://doi.org/10.1177/0269881114553647>
- Harrison, P.J., Lyon, L., Sartorius, L.J., Burnet, P.W.J., Lane, T.A., 2008. The group II metabotropic glutamate receptor 3 (mGluR3, mGlu3, GRM3): expression, function and involvement in schizophrenia. *J. Psychopharmacol.* 22, 308–22. <https://doi.org/10.1177/0269881108089818>
- Hashimoto, T., Volk, D.W., Eggen, S.M., Mirnics, K., Pierri, J.N., Sun, Z., Sampson, A.R., Lewis, D.A., 2003. Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J. Neurosci.* 23, 6315–26. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.23-15-06315.2003>
- Hawken, E.R., Delva, N.J., Beninger, R.J., 2013. Increased drinking following social isolation rearing: implications for polydipsia associated with schizophrenia. *PLoS One* 8, e56105. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056105>
- Hedlund, P.B., 2009. The 5-HT7 receptor and disorders of the nervous system: an overview. *Psychopharmacology (Berl)*. 206, 345–54. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1626-0>
- Hedlund, P.B., Huitron-Resendiz, S., Henriksen, S.J., Sutcliffe, J.G., 2005. 5-HT7 receptor inhibition and inactivation induce antidepressantlike behavior and sleep pattern. *Biol. Psychiatry* 58, 831–7. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.05.012>
- Heinrichs, R.W., Zakzanis, K.K., 1998. Neurocognitive deficit in schizophrenia: a quantitative review of the evidence. *Neuropsychology* 12, 426–45. <https://doi.org/10.1037//0894-4105.12.3.426>
- Helboe, L., Egebjerg, J., de Jong, I.E.M., 2015. Distribution of serotonin receptor 5-HT6 mRNA in rat neuronal subpopulations: A double in situ hybridization study. *Neuroscience* 310, 442–454. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.09.064>
- Herold, C.J., Lässer, M.M., Schmid, L.A., Seidl, U., Kong, L., Fellhauer, I., Thomann, P.A., Essig, M., Schröder, J., 2013. Hippocampal volume reduction and autobiographical memory deficits in chronic schizophrenia. *Psychiatry Res.* 211, 189–94. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.04.002>
- Herrmann, C.S., Demiralp, T., 2005. Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. *Clin. Neurophysiol.* 116, 2719–33. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2005.07.007>
- Hippius, H., 1999. A historical perspective of clozapine. *J. Clin. Psychiatry* 60, 22–23.
- Hirano, K., Piers, T.M., Searle, K.L., Miller, N.D., Rutter, A.R., Chapman, P.F., 2009. Procognitive 5-HT6 antagonists in the rat forced swimming test: potential therapeutic utility in mood disorders associated with Alzheimer’s disease. *Life Sci.* 84, 558–62. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.01.019>
- Hirano, K., Searle, K.L., Nasir, S., Aw, C.-C., Browne, E.R., Rutter, A.R., 2011. In vivo 5-HT(6) receptor occupancy by antipsychotic drugs in the rat brain. *Neurosci. Lett.* 503, 240–3. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.08.044>
- Hirst, W.D., Abrahamsen, B., Blaney, F.E., Calver, A.R., Aloj, L., Price, G.W., Medhurst, A.D., 2003. Differences in the

## | Références bibliographiques

- central nervous system distribution and pharmacology of the mouse 5-hydroxytryptamine-6 receptor compared with rat and human receptors investigated by radioligand binding, site-directed mutagenesis, and molecular modeling. *Mol. Pharmacol.* 64, 1295–308. <https://doi.org/10.1124/mol.64.6.1295>
- Hirst, W.D., Minton, J.A., Bromidge, S.M., Moss, S.F., Latter, A.J., Riley, G., Routledge, C., Middlemiss, D.N., Price, G.W., 2000. Characterization of [(125)I]-SB-258585 binding to human recombinant and native 5-HT(6) receptors in rat, pig and human brain tissue. *Br. J. Pharmacol.* 130, 1597–605. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703458>
- Hirst, W.D., Stean, T.O., Rogers, D.C., Sunter, D., Pugh, P., Moss, S.F., Bromidge, S.M., Riley, G., Smith, D.R., Bartlett, S., Heidbreder, C.A., Atkins, A.R., Lacroix, L.P., Dawson, L.A., Foley, A.G., Regan, C.M., Upton, N., 2006. SB-399885 is a potent, selective 5-HT6 receptor antagonist with cognitive enhancing properties in aged rat water maze and novel object recognition models. *Eur. J. Pharmacol.* 553, 109–119. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.09.049>
- Hitti, F.L., Siegelbaum, S.A., 2014. The hippocampal CA2 region is essential for social memory. *Nature* 508, 88–92. <https://doi.org/10.1038/nature13028>
- Hjorth, S., Bengtsson, H.J., Kullberg, A., Carlzon, D., Peilot, H., Auerbach, S.B., 2000. Serotonin autoreceptor function and antidepressant drug action. *J. Psychopharmacol.* 14, 177–85. <https://doi.org/10.1177/026988110001400208>
- Ho, Y.-J., Eichendorff, J., Schwarting, R.K.W., 2002. Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression. *Behav. Brain Res.* 136, 1–12. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(02\)00089-x](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(02)00089-x)
- Horvath, G., Petrovszki, Z., Kekesi, G., Tuboly, G., Bodosi, B., Horvath, J., Gombkőto, P., Benedek, G., Nagy, A., 2016. Electrophysiological alterations in a complex rat model of schizophrenia. *Behav. Brain Res.* 307, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.03.051>
- Howell, K.R., Pillai, A., 2016. Long-Term Effects of Prenatal Hypoxia on Schizophrenia-Like Phenotype in Heterozygous Reeler Mice. *Mol. Neurobiol.* 53, 3267–3276. <https://doi.org/10.1007/s12035-015-9265-4>
- Howes, O., McCutcheon, R., Stone, J., 2015. Glutamate and dopamine in schizophrenia: an update for the 21st century. *J. Psychopharmacol.* 29, 97–115. <https://doi.org/10.1177/0269881114563634>
- Hrnjadovic, A., Friedmann, J., Barhebreus, S., Allen, P.J., Kocsis, B., 2021. Effect of a 5-HT7 Receptor Antagonist on Reversal Learning in the Rat Attentional Set-Shifting Test. *ACS Chem. Neurosci.* 12, 42–48. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.0c00554>

## I

- Ibi, D., Nagai, T., Koike, H., Kitahara, Y., Mizoguchi, H., Niwa, M., Jaaro-Peled, H., Nitta, A., Yoneda, Y., Nabeshima, T., 2010. Combined effect of neonatal immune activation and mutant DISC1 on phenotypic changes in adulthood. *Behav. Brain Res.* 206, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.08.027>
- Ishiwata, T., Hasegawa, H., Greenwood, B.N., 2017. Involvement of serotonin in the ventral tegmental area in thermoregulation of freely moving rats. *Neurosci. Lett.* 653, 71–77. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.05.030>
- Iyegbe, C.O., O'Reilly, P.F., 2022. Genetic origins of schizophrenia find common ground. *Nature* 604, 433–435. <https://doi.org/10.1038/d41586-022-00773-5>

## J

- Jaaro-Peled, H., 2009. Gene models of schizophrenia: DISC1 mouse models, *Progress in Brain Research*. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(09\)17909-8](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(09)17909-8)
- Jacobi, A.A., Halawani, S., Lynch, D.R., Lin, H., 2019. Neuronal serine racemase associates with Disrupted-In-Schizophrenia-1 and DISC1 agglomerates: Implications for schizophrenia. *Neurosci. Lett.* 692, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.10.055>
- Jacobs, B.L., Azmitia, E.C., 1992. Structure and function of the brain serotonin system. *Physiol. Rev.* 72, 165–229. <https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.1.165>
- Jama, A., Cecchi, M., Calvo, N., Watson, S.J., Akil, H., 2008. Inter-individual differences in novelty-seeking behavior in rats predict differential responses to desipramine in the forced swim test. *Psychopharmacology (Berl)*. 198, 333–40. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1126-7>
- Jami, S.A., Cameron, S., Wong, J.M., Daly, E.R., McAllister, A.K., Gray, J.A., 2021. Increased excitation-inhibition balance and loss of gabaergic synapses in the serine racemase knockout model of nmda receptor hypofunction. *J. Neurophysiol.* 126, 11–27. <https://doi.org/10.1152/jn.00661.2020>
- Janssen, P.A.J., Van De Westeringh, C., Jageneau, A.H.M., Demoen, P.J.A., Hermans, B.K.F., Van Daele, G.H., Schellekens, K.H.L., Van Der Eycken, C.A.M., Niemegeers, C.J.E., 1959. Chemistry and Pharmacology of CNS Depressants Related to 4-(4-Hydroxy-4-phenylpiperidino)butyrophenone Part I—Synthesis and screening data in mice. *J. Med. Chem.* 1, 281–297. <https://doi.org/10.1021/jm50004a007>
- Jastrzębska-Więsek, M., Siwek, A., Partyka, A., Antkiewicz-Michaluk, L., Michaluk, J., Romańska, I., Kończakowski, M., Wesołowska, A., 2016. Study of a mechanism responsible for potential antidepressant activity of EMD 386088, a 5-

## | Références bibliographiques

- HT6 partial agonist in rats. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 389, 839–49. <https://doi.org/10.1007/s00210-016-1245-3>
- Johnston, M.M., Rapoport, A.M., 2010. Triptans for the management of migraine. *Drugs* 70, 1505–1518. <https://doi.org/10.2165/11537990-000000000-00000>
- Jones, C., Watson, D., Fone, K., 2011. Animal models of schizophrenia. *Br. J. Pharmacol.* 164, 1162–1194. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x>
- Joshi, A., 2018. Selective Serotonin Re-uptake Inhibitors: An overview. *Psychiatr. Danub.* 30, 605–609.
- Jouroukhin, Y., Zhu, X., Shevelkin, A. V., Hasegawa, Y., Abazyan, B., Saito, A., Pevsner, J., Kamiya, A., Pletnikov, M. V., 2019. Adolescent  $\Delta 9$ -Tetrahydrocannabinol Exposure and Astrocyte-Specific Genetic Vulnerability Converge on Nuclear Factor- $\kappa$ B–Cyclooxygenase-2 Signaling to Impair Memory in Adulthood. *Biol. Psychiatry* 85, 891–903. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2018.07.024>
- Jung, M.W., Baeg, E.H., Kim, M.J., Kim, Y.B., Kim, J.J., 2008. Plasticity and memory in the prefrontal cortex. *Rev. Neurosci.* 19, 29–46. <https://doi.org/10.1515/revneuro.2008.19.1.29>
- Junjaud, G., Rouaud, E., Turpin, F., Mothet, J.-P., Billard, J.-M., 2006. Age-related effects of the neuromodulator D-serine on neurotransmission and synaptic potentiation in the CA1 hippocampal area of the rat. *J. Neurochem.* 98, 1159–66. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03944.x>

## K

- Kapur, S., Zipursky, R.B., Remington, G., 1999. Clinical and theoretical implications of 5-HT<sub>2</sub> and D<sub>2</sub> receptor occupancy of clozapine, risperidone, and olanzapine in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 156, 286–93. <https://doi.org/10.1176/ajp.156.2.286>
- Kay, S.R., Fiszbein, A., Opler, L.A., 1987. The positive and negative syndrome scale (PANSS) for schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 13, 261–76. <https://doi.org/10.1093/schbul/13.2.261>
- Kegeles, L.S., Abi-Dargham, A., Frankle, W.G., Gil, R., Cooper, T.B., Slifstein, M., Hwang, D.-R., Huang, Y., Haber, S.N., Laruelle, M., 2010. Increased synaptic dopamine function in associative regions of the striatum in schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 67, 231–9. <https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2010.10>
- Kendall, I., Slotten, H.A., Codony, X., Burgueño, J., Pauwels, P.J., Vela, J.M., Fone, K.C.F., 2011. E-6801, a 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist, improves recognition memory by combined modulation of cholinergic and glutamatergic neurotransmission in the rat. *Psychopharmacology (Berl.)* 213, 413–430. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-1854-3>
- Kesby, J.P., Eyles, D.W., McGrath, J.J., Scott, J.G., 2018. Dopamine, psychosis and schizophrenia: the widening gap between basic and clinical neuroscience. *Transl. Psychiatry* 8, 30. <https://doi.org/10.1038/s41398-017-0071-9>
- Khan, A., Powell, S.B., 2018. Sensorimotor gating deficits in “two-hit” models of schizophrenia risk factors. *Schizophr. Res.* 198, 68–83. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.10.009>
- Khan, A.Q., Thielen, L., Le Pen, G., Krebs, M.-O., Kebir, O., Groh, A., Deest, M., Bleich, S., Frieling, H., Jahn, K., 2022. Methylation pattern and mRNA expression of synapse-relevant genes in the MAM model of schizophrenia in the time-course of adolescence. *Schizophr. (Heidelberg, Ger.)* 8, 110. <https://doi.org/10.1038/s41537-022-00319-8>
- Khoury, R., Grysman, N., Gold, J., Patel, K., Grossberg, G.T., 2018. The role of 5-HT<sub>6</sub>-receptor antagonists in Alzheimer’s disease: an update. *Expert Opin. Investig. Drugs* 27, 523–533. <https://doi.org/10.1080/13543784.2018.1483334>
- Kim, M., Lee, T.H., Park, H., Moon, S.-Y., Lho, S.K., Kwon, J.S., 2022. Thalamocortical dysrhythmia in patients with schizophrenia spectrum disorder and individuals at clinical high risk for psychosis. *Neuropsychopharmacology* 47, 673–680. <https://doi.org/10.1038/s41386-021-01180-6>
- Kim, S.J., Linden, D.J., 2007. Ubiquitous Plasticity and Memory Storage. *Neuron* 56, 582–592. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.10.030>
- King, M. V., Marsden, C.A., Fone, K.C.F., 2008. A role for the 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>4</sub> and 5-HT<sub>6</sub> receptors in learning and memory. *Trends Pharmacol. Sci.* 29, 482–492. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.07.001>
- King, M. V., Sleight, A.J., Woolley, M.L., Topham, I.A., Marsden, C.A., Fone, K.C.F., 2004. 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists reverse delay-dependent deficits in novel object discrimination by enhancing consolidation - An effect sensitive to NMDA receptor antagonism. *Neuropharmacology* 47, 195–204. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2004.03.012>
- Kinnunen, A.K., Koenig, J.I., Bilbe, G., 2003. Repeated variable prenatal stress alters pre- and postsynaptic gene expression in the rat frontal pole. *J. Neurochem.* 86, 736–48. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01873.x>
- Kirkpatrick, B., Buchanan, R.W., Ross, D.E., Carpenter, W.T., 2001. A separate disease within the syndrome of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 58, 165–71. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.58.2.165>
- Klug, M., van den Buuse, M., 2012. Chronic cannabinoid treatment during young adulthood induces sex-specific behavioural deficits in maternally separated rats. *Behav. Brain Res.* 233, 305–313. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.05.019>
- Kogan, J.H., Frankland, P.W., Silva, A.J., 2000. Long-term memory underlying hippocampus-dependent social recognition

## | Références bibliographiques

- in mice. *Hippocampus* 10, 47–56. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-1063\(2000\)10:1<47::AID-HIPO5>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-1063(2000)10:1<47::AID-HIPO5>3.0.CO;2-6)
- Kohen, R., Fashingbauer, L.A., Heidmann, D.E., Guthrie, C.R., Hamblin, M.W., 2001. Cloning of the mouse 5-HT6 serotonin receptor and mutagenesis studies of the third cytoplasmic loop. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 90, 110–7. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(01\)00090-0](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(01)00090-0)
- Kohen, R., Metcalf, M.A., Khan, N., Druck, T., Huebner, K., Lachowicz, J.E., Meltzer, H.Y., Sibley, D.R., Roth, B.L., Hamblin, M.W., 1996. Cloning, characterization, and chromosomal localization of a human 5-HT6 serotonin receptor. *J. Neurochem.* 66, 47–56. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1996.66010047.x>
- Koopman, N., Katsavelis, D., Hove, A.S. Ten, Brul, S., Jonge, W.J. de, Seppen, J., 2021. The Multifaceted Role of Serotonin in Intestinal Homeostasis. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22179487>
- Kraepelin, E., 1919. Dementia praecox and paraphrenia.
- Kraguljac, N. V, McDonald, W.M., Widge, A.S., Rodriguez, C.I., Tohen, M., Nemeroff, C.B., 2021. Neuroimaging Biomarkers in Schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 178, 509–521. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2020.20030340>
- Kruse, A.O., Bustillo, J.R., 2022. Glutamatergic dysfunction in Schizophrenia. *Transl. Psychiatry* 12, 500. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02253-w>
- Krystal, J.H., Karper, L.P., Seibyl, J.P., Freeman, G.K., Delaney, R., Bremner, J.D., Heninger, G.R., Bowers, M.B., Charney, D.S., 1994. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. *Arch. Gen. Psychiatry* 51, 199–214. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1994.03950030035004>

## L

- Labrie, V., Fukumura, R., Rastogi, A., Fick, L.J., Wang, W., Boutros, P.C., Kennedy, J.L., Semeralul, M.O., Lee, F.H., Baker, G.B., Belsham, D.D., Barger, S.W., Gondo, Y., Wong, A.H.C., Roder, J.C., 2009. Serine racemase is associated with schizophrenia susceptibility in humans and in a mouse model. *Hum. Mol. Genet.* 18, 3227–3243. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp261>
- Lacroix, L.P., Dawson, L.A., Hagan, J.J., Heidebreder, C.A., 2004. 5-HT6 Receptor Antagonist SB-271046 Enhances Extracellular Levels of Monoamines in the Rat Medial Prefrontal Cortex. *Synapse* 51, 158–164. <https://doi.org/10.1002/syn.10288>
- Lang, F.M., Kwon, D.Y., Aarsland, D., Boeve, B., Tousi, B., Harnett, M., Mo, Y., Noel Sabbagh, M., 2021. An international, randomized, placebo-controlled, phase 2b clinical trial of intepirdine for dementia with Lewy bodies (HEADWAY-DLB). *Alzheimer's Dement. (New York, N. Y.)* 7, e12171. <https://doi.org/10.1002/trc2.12171>
- Larsson, S., Andreassen, O.A., Aas, M., Røssberg, J.I., Mork, E., Steen, N.E., Barrett, E.A., Lagerberg, T. V, Peleikis, D., Agartz, I., Melle, I., Lorentzen, S., 2013. High prevalence of childhood trauma in patients with schizophrenia spectrum and affective disorder. *Compr. Psychiatry* 54, 123–7. <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2012.06.009>
- Lee, C.-T., Yueh Hsiao, C., Fu Lee, J., Chen, Y.C., Ndi Nfor, O., Huang, J.Y., Wang, L., Chang Ho, C., Po Liaw, Y., 2018. Relationship between Schizophrenia and Low-Income Based on Age and Sex: Results from a Nation-wide Population-Based Longitudinal Study. *Neuropsychiatry (London)*. 08, 1000–1006. <https://doi.org/10.4172/neuropsychiatry.1000426>
- Lee, J., van den Buuse, M., Nithianantharajah, J., Jones, N.C., 2020. Acute NMDA receptor antagonism impairs working memory performance but not attention in rats-Implications for the NMDAR hypofunction theory of schizophrenia. *Behav. Neurosci.* 134, 323–331. <https://doi.org/10.1037/bne0000402>
- Lee, Y.-A., Goto, Y., 2015. Prefrontal cortical dopamine from an evolutionary perspective. *Neurosci. Bull.* 31, 164–174. <https://doi.org/10.1007/s12264-014-1499-z>
- Leibowitz, S.F., Alexander, J.T., 1998. Hypothalamic serotonin in control of eating behavior, meal size, and body weight. *Biol. Psychiatry* 44, 851–64. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(98\)00186-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(98)00186-3)
- Lelong, V., Dauphin, F., Boulouard, M., 2001. RS 67333 and D-cycloserine accelerate learning acquisition in the rat. *Neuropharmacology* 41, 517–22. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(01\)00085-5](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(01)00085-5)
- Leng, A., Ouagazzal, A., Feldon, J., Higgins, G.A., 2003. Effect of the 5-HT6 receptor antagonists Ro04-6790 and Ro65-7199 on latent inhibition and prepulse inhibition in the rat: comparison to clozapine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 75, 281–8. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(03\)00082-0](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(03)00082-0)
- Leopoldo, M., Lacivita, E., Berardi, F., Perrone, R., Hedlund, P.B., 2011. Serotonin 5-HT7 receptor agents: Structure-activity relationships and potential therapeutic applications in central nervous system disorders. *Pharmacol. Ther.* 129, 120–48. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.08.013>
- Lesiak, A.J., Brodsky, M., Cohenca, N., Croicu, A.G., Neumaier, J.F., 2018. Restoration of Physiological Expression of 5-HT 6 Receptor into the Primary Cilia of Null Mutant Neurons Lengthens Both Primary Cilia and Dendrites. *Mol. Pharmacol.* 94, 731–742. <https://doi.org/10.1124/mol.117.111583>
- Lewandowski, K.E., 2007. Relationship of catechol-O-methyltransferase to schizophrenia and its correlates: evidence for associations and complex interactions. *Harv. Rev. Psychiatry* 15, 233–44. <https://doi.org/10.1080/10673220701650409>

## | Références bibliographiques

- Lewis, D.A., Curley, A.A., Glusier, J.R., Volk, D.W., 2012. Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends Neurosci.* 35, 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2011.10.004>
- Li, Z., Huang, M., Prus, A.J., Dai, J., Meltzer, H.Y., 2007. 5-HT6 receptor antagonist SB-399885 potentiates haloperidol and risperidone-induced dopamine efflux in the medial prefrontal cortex or hippocampus. *Brain Res.* 1134, 70–8. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.11.060>
- Lieben, C.K.J., Blokland, A., Sik, A., Sung, E., van Nieuwenhuizen, P., Schreiber, R., 2005. The selective 5-HT6 receptor antagonist Ro4368554 restores memory performance in cholinergic and serotonergic models of memory deficiency in the rat. *Neuropsychopharmacology* 30, 2169–79. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300777>
- Lim, A.L., Taylor, D.A., Malone, D.T., 2012. A two-hit model: behavioural investigation of the effect of combined neonatal MK-801 administration and isolation rearing in the rat. *J. Psychopharmacol.* 26, 1252–1264. <https://doi.org/10.1177/0269881111430751>
- Limosin, F., 2014. Neurodevelopmental and environmental hypotheses of negative symptoms of schizophrenia. *BMC Psychiatry* 14, 88. <https://doi.org/10.1186/1471-244X-14-88>
- Lindenmayer, J.P., 2000. Treatment refractory schizophrenia. *Psychiatr. Q.* 71, 373–384. <https://doi.org/10.1023/A:1004640408501>
- Lipina, T. V., Zai, C., Hlousek, D., Roder, J.C., Wong, A.H.C., 2013. Maternal Immune Activation during Gestation Interacts with Disc1 Point Mutation to Exacerbate Schizophrenia-Related Behaviors in Mice. *J. Neurosci.* 33, 7654–7666. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0091-13.2013>
- Lisman, J.E., McIntyre, C.C., 2001. Synaptic plasticity: A molecular memory switch. *Curr. Biol.* 11, 788–791. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(01\)00472-9](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(01)00472-9)
- Liu, J., Siyahhan Julnes, P., Chen, J., Ehrlich, S., Walton, E., Calhoun, V.D., 2015. The association of DNA methylation and brain volume in healthy individuals and schizophrenia patients. *Schizophr. Res.* 169, 447–452. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2015.08.035>
- Liu, W., Wang, X., Hong, W., Wang, D., Chen, X., 2017. Establishment of a schizophrenic animal model through chronic administration of MK-801 in infancy and social isolation in childhood. *Infant Behav. Dev.* 46, 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.infbeh.2017.01.003>
- Llorente-Berzal, A., Fuentes, S., Gagliano, H., López-Gallardo, M., Armario, A., Viveros, M.-P., Nadal, R., 2011. Sex-dependent effects of maternal deprivation and adolescent cannabinoid treatment on adult rat behaviour. *Addict. Biol.* 16, 624–37. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00318.x>
- Lobo, M.C., Whitehurst, T.S., Kaar, S.J., Howes, O.D., 2022. New and emerging treatments for schizophrenia: a narrative review of their pharmacology, efficacy and side effect profile relative to established antipsychotics. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 132, 324–361. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.11.032>
- Loiseau, F., Dekeyne, A., Millan, M.J., 2008. Pro-cognitive effects of 5-HT6 receptor antagonists in the social recognition procedure in rats: Implication of the frontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)*. 196, 93–104. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0934-5>
- Long, L.E., Chesworth, R., Huang, X.-F., McGregor, I.S., Arnold, J.C., Karl, T., 2013. Transmembrane domain Nrg1 mutant mice show altered susceptibility to the neurobehavioural actions of repeated THC exposure in adolescence. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 16, 163–75. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001854>
- Lukasz, B., O'Sullivan, N.C., Loscher, J.S., Pickering, M., Regan, C.M., Murphy, K.J., 2013. Peripubertal viral-like challenge and social isolation mediate overlapping but distinct effects on behaviour and brain interferon regulatory factor 7 expression in the adult Wistar rat. *Brain. Behav. Immun.* 27, 71–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.09.011>

## M

- Ma, T.M., Abazyan, S., Abazyan, B., Nomura, J., Yang, C., Seshadri, S., Sawa, A., Snyder, S.H., Pletnikov, M. V., 2013. Pathogenic disruption of DISC1-serine racemase binding elicits schizophrenia-like behavior via D-serine depletion. *Mol. Psychiatry* 18, 557–567. <https://doi.org/10.1038/mp.2012.97>
- Maddaloni, G., Bertero, A., Pratelli, M., Barsotti, N., Boonstra, A., Giorgi, A., Migliarini, S., Pasqualetti, M., 2017. Development of Serotonergic Fibers in the Post-Natal Mouse Brain. *Front. Cell. Neurosci.* 11, 202. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00202>
- Madigand, J., Tréhout, M., Delcroix, N., Dollfus, S., Leroux, E., 2019. Corpus callosum microstructural and macrostructural abnormalities in schizophrenia according to the stage of disease. *Psychiatry Res. Neuroimaging* 291, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.08.002>
- Magee, J.C., Grienberger, C., 2020. Synaptic Plasticity Forms and Functions. *Annu. Rev. Neurosci.* 43, 95–117. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-090919-022842>
- Mann, T.N., Lamberts, R.P., Lambert, M.I., 2014. High responders and low responders: factors associated with individual variation in response to standardized training. *Sports Med.* 44, 1113–24. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0197-3>
- Marcos, B., Cabero, M., Solas, M., Aisa, B., Ramirez, M.J., 2010. Signalling pathways associated with 5-HT6 receptors:

## | Références bibliographiques

- relevance for cognitive effects. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 13, 775–84. <https://doi.org/10.1017/S146114570999054X>
- Marcos, B., Chuang, T.T., Gil-Bea, F.J., Ramirez, M.J., 2008. Effects of 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonism and cholinesterase inhibition in models of cognitive impairment in the rat. *Br. J. Pharmacol.* 155, 434–440. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.281>
- Marcos, B., Gil-Bea, F.J., Hirst, W.D., García-Alloza, M., Ramírez, M.J., 2006. Lack of localization of 5-HT<sub>6</sub> receptors on cholinergic neurons: Implication of multiple neurotransmitter systems in 5-HT<sub>6</sub> receptor-mediated acetylcholine release. *Eur. J. Neurosci.* 24, 1299–1306. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05003.x>
- Marrocco, J., McEwen, B.S., 2016. Sex in the brain: Hormones and sex differences. *Dialogues Clin. Neurosci.* 18, 373–383. <https://doi.org/10.31887/dcns.2016.18.4/jmarrocco>
- Martin, A.M., Young, R.L., Leong, L., Rogers, G.B., Spencer, N.J., Jessup, C.F., Keating, D.J., 2017. The Diverse Metabolic Roles of Peripheral Serotonin. *Endocrinology* 158, 1049–1063. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1839>
- Masson, J., Emerit, M.B., Hamon, M., Darmon, M., 2012. Serotonergic signaling: multiple effectors and pleiotropic effects. *Wiley Interdiscip. Rev. Membr. Transp. Signal.* 1, 685–713. <https://doi.org/10.1002/wmts.50>
- Mathieson, I., Munafò, M.R., Flint, J., 2012. Meta-analysis indicates that common variants at the DISC1 locus are not associated with schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 17, 634–41. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.41>
- Matthes, S., Bader, M., 2018. Peripheral Serotonin Synthesis as a New Drug Target. *Trends Pharmacol. Sci.* 39, 560–572. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2018.03.004>
- Mattsson, C., Sonesson, C., Sandahl, A., Greiner, H.E., Gassen, M., Plaschke, J., Leibrock, J., Böttcher, H., 2005. 2-Alkyl-3-(1,2,3,6-tetrahydropyridin-4-yl)-1H-indoles as novel 5-HT<sub>6</sub> receptor agonists. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 15, 4230–4. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2005.06.067>
- Mawe, G.M., Hoffman, J.M., 2013. Serotonin signalling in the gut—functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10, 473–86. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2013.105>
- McCutcheon, R.A., Abi-Dargham, A., Howes, O.D., 2019. Schizophrenia, Dopamine and the Striatum: From Biology to Symptoms. *Trends Neurosci.* 42, 205–220. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2018.12.004>
- McGrath, J.J., Féron, F.P., Burne, T.H.J., Mackay-Sim, A., Eyles, D.W., 2003. The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia: a review of recent developments. *Ann. Med.* 35, 86–93. <https://doi.org/10.1080/07853890310010005>
- McGue, M., Gottesman, I.I., 1991. The genetic epidemiology of schizophrenia and the design of linkage studies. *Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci.* 240, 174–181. <https://doi.org/10.1007/BF02190760>
- McKinney, J., Knappskog, P.M., Haavik, J., 2005. Different properties of the central and peripheral forms of human tryptophan hydroxylase. *J. Neurochem.* 92, 311–20. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2004.02850.x>
- McLean, S.L., Woolley, M.L., Neill, J.C., 2010. Effects of subchronic phencyclidine on behaviour of female rats on the elevated plus maze and open field. *J. Psychopharmacol.* 24, 787–90. <https://doi.org/10.1177/0269881109103112>
- Meffre, J., Chaumont-Dubel, S., Mannoury la Cour, C., Loiseau, F., Watson, D.J.G., Dekeyne, A., Séveno, M., Rivet, J.-M., Gaven, F., Délérès, P., Hervé, D., Fone, K.C.F., Bockaert, J., Millan, M.J., Marin, P., 2012. 5-HT<sub>6</sub> receptor recruitment of mTOR as a mechanism for perturbed cognition in schizophrenia. *EMBO Mol. Med.* 4, 1043–56. <https://doi.org/10.1002/emmm.201201410>
- Mei, L., Nave, K.-A., 2014. Neuregulin-ERBB signaling in the nervous system and neuropsychiatric diseases. *Neuron* 83, 27–49. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.06.007>
- Mei, L., Xiong, W.-C., 2008. Neuregulin 1 in neural development, synaptic plasticity and schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 437–52. <https://doi.org/10.1038/nrn2392>
- Meltzer, H.Y., Li, Z., Kaneda, Y., Ichikawa, J., 2003. Serotonin receptors: their key role in drugs to treat schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27, 1159–72. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2003.09.010>
- Meltzer, H.Y., McGurk, S.R., 1999. The effects of clozapine, risperidone, and olanzapine on cognitive function in schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 25, 233–55. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.schbul.a033376>
- Mendrek, A., Mancini-Marie, A., 2016. Sex/gender differences in the brain and cognition in schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 67, 57–78. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2015.10.013>
- Meneses, A., 2014. Memory formation and memory alterations: 5-HT<sub>6</sub> and 5-HT<sub>7</sub> receptors, novel alternative. *Rev. Neurosci.* 25, 325–56. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0001>
- Meneses, A., Pérez-García, G., Ponce-Lopez, T., Castillo, C., 2011. 5-HT<sub>6</sub> receptor memory and amnesia: behavioral pharmacology—learning and memory processes. *Int. Rev. Neurobiol.* 96, 27–47. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00002-4>
- Merikangas, A.K., Shelly, M., Knighton, A., Kotler, N., Tanenbaum, N., Almasy, L., 2022. What genes are differentially expressed in individuals with schizophrenia? A systematic review. *Mol. Psychiatry* 27, 1373–1383. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01420-7>
- Millan, M.J., Andrieux, A., Bartzokis, G., Cadenhead, K., Dazzan, P., Fusar-Poli, P., Gallinat, J., Giedd, J., Grayson, D.R., Heinrichs, M., Kahn, R., Krebs, M.O., Leboyer, M., Lewis, D., Marin, O., Marin, P., Meyer-Lindenberg, A., McGorry, P., McGuire, P., Owen, M.J., Patterson, P., Sawa, A., Spedding, M., Uhlhaas, P., Vaccarino, F., Wahlestedt, C.,

## | Références bibliographiques

- Weinberger, D., 2016. Altering the course of schizophrenia: Progress and perspectives. *Nat. Rev. Drug Discov.* <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.28>
- Millar, J.K., Wilson-Annan, J.C., Anderson, S., Christie, S., Taylor, M.S., Semple, C.A., Devon, R.S., St Clair, D.M., Muir, W.J., Blackwood, D.H., Porteous, D.J., 2000. Disruption of two novel genes by a translocation co-segregating with schizophrenia. *Hum. Mol. Genet.* 9, 1415–23. <https://doi.org/10.1093/hmg/9.9.1415>
- Millstein, R.A., Holmes, A., 2007. Effects of repeated maternal separation on anxiety- and depression-related phenotypes in different mouse strains. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 31, 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2006.05.003>
- Misdrahi, D., 2016. Expériences traumatiques et état de stress post traumatique dans la schizophrénie. *Encephale.* 42, S7–S12. [https://doi.org/10.1016/S0013-7006\(16\)30216-0](https://doi.org/10.1016/S0013-7006(16)30216-0)
- Monsma, F.J., Shen, Y., Ward, R.P., Hamblin, M.W., Sibley, D.R., 1993. Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Mol. Pharmacol.* 43, 320–7.
- Montgomery, A., Rogowska, M., Dratcu, L., 2023. Cariprazine - an Alternative Treatment for Clozapine-resistant Schizophrenia? *Clin. Psychopharmacol. Neurosci.* 21, 202–206. <https://doi.org/10.9758/cpn.2023.21.1.202>
- Moran, P., Stokes, J., Marr, J., Bock, G., Desbonnet, L., Waddington, J., O'Tuathaigh, C., 2016. Gene × Environment Interactions in Schizophrenia: Evidence from Genetic Mouse Models. *Neural Plast.* 2016, 2173748. <https://doi.org/10.1155/2016/2173748>
- Morel, L.J., Giros, B., Daugé, V., 2009. Adolescent Exposure to Chronic Delta-9-Tetrahydrocannabinol Blocks Opiate Dependence in Maternally Deprived Rats. *Neuropsychopharmacology* 34, 2469–2476. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.70>
- Morita, Y., Ujike, H., Tanaka, Y., Otani, K., Kishimoto, M., Morio, A., Kotaka, T., Okahisa, Y., Matsushita, M., Morikawa, A., Hamase, K., Zaitzu, K., Kuroda, S., 2007. A Genetic Variant of the Serine Racemase Gene Is Associated with Schizophrenia. *Biol. Psychiatry* 61, 1200–1203. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.07.025>
- Mørk, A., Russell, R.V., de Jong, I.E.M., Smagin, G., 2017. Effects of the 5-HT6 receptor antagonist idalopirdine on extracellular levels of monoamines, glutamate and acetylcholine in the rat medial prefrontal cortex. *Eur. J. Pharmacol.* 799, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.02.010>
- Morozova, M., Burminskiy, D., Rupchev, G., Lepilkina, T., Potanin, S., Beniashvili, A., Lavrovsky, Y., Vostokova, N., Ivaschenko, A., 2017. 5-HT6 receptor antagonist as an adjunct treatment targeting residual symptoms in patients with schizophrenia: Unexpected sex-related effects (double-blind placebo-controlled trial). *J. Clin. Psychopharmacol.* 37, 169–175. <https://doi.org/10.1097/JCP.0000000000000673>
- Morris, R.G., Davis, S., Butcher, S.P., 1990. Hippocampal synaptic plasticity and NMDA receptors: a role in information storage? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 329, 187–204. <https://doi.org/10.1098/rstb.1990.0164>
- Mortensen, P.B., Pedersen, C.B., Westergaard, T., Wohlfahrt, J., Ewald, H., Mors, O., Andersen, P.K., Melbye, M., 1999. Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N. Engl. J. Med.* 340, 603–8. <https://doi.org/10.1056/NEJM199902253400803>
- Moy, S.S., Nadler, J.J., Perez, A., Barbaro, R.P., Johns, J.M., Magnuson, T.R., Piven, J., Crawley, J.N., 2004. Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes. Brain. Behav.* 3, 287–302. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1848.2004.00076.x>
- Mullard, A., 2016. Symptomatic AD treatment fails in first phase III. *Nat. Rev. Drug Discov.* 15, 738–738. <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.225>
- Murray, J.D., Jaramillo, J., Wang, X.-J., 2017. Working Memory and Decision-Making in a Frontoparietal Circuit Model. *J. Neurosci.* 37, 12167–12186. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0343-17.2017>
- Muskin, P.R., Mellman, L.A., Kornfeld, D.S., 1986. A “new” drug for treating agitation and psychosis in the general hospital: Chlorpromazine. *Gen. Hosp. Psychiatry* 8, 404–410. [https://doi.org/10.1016/0163-8343\(86\)90020-4](https://doi.org/10.1016/0163-8343(86)90020-4)
- Mutică, M., Marinescu, I., Militaru, F., Pîrlog, M.C., Udriștoiu, I., 2016. Clinical and biological outcomes of prolonged treatment with haloperidol in schizophrenia. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 57, 477–81.

## N

- Nakazawa, K., Sapkota, K., 2020a. The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Pharmacol. Ther.* 205, 107426. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107426>
- Nakazawa, K., Sapkota, K., 2020b. The origin of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. *Pharmacol. Ther.* <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.107426>
- Nakazawa, K., Zsiros, V., Jiang, Z., Nakao, K., Kolata, S., Zhang, S., Belforte, J.E., 2012. GABAergic interneuron origin of schizophrenia pathophysiology. *Neuropharmacology* 62, 1574–83. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.01.022>
- Neill, J.C., Barnes, S., Cook, S., Grayson, B., Idris, N.F., McLean, S.L., Snigdha, S., Rajagopal, L., Harte, M.K., 2010. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. *Pharmacol. Ther.* 128, 419–32. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2010.07.004>
- Newman-Tancredi, A., Gavaudan, S., Conte, C., Chaput, C., Touzard, M., Verrière, L., Audinot, V., Millan, M.J., 1998.

## | Références bibliographiques

- Agonist and antagonist actions of antipsychotic agents at 5-HT<sub>1A</sub> receptors: a [<sup>35</sup>S]GTPγS binding study. *Eur. J. Pharmacol.* 355, 245–56. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(98\)00483-x](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(98)00483-x)
- Nicodemus, K.K., Kolachana, B.S., Vakkalanka, R., Straub, R.E., Giegling, I., Egan, M.F., Rujescu, D., Weinberger, D.R., 2007. Evidence for statistical epistasis between catechol-O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia. *Hum. Genet.* 120, 889–906. <https://doi.org/10.1007/s00439-006-0257-3>
- Nikiforuk, A., 2015. Targeting the Serotonin 5-HT<sub>7</sub> Receptor in the Search for Treatments for CNS Disorders: Rationale and Progress to Date. *CNS Drugs* 29, 265–75. <https://doi.org/10.1007/s40263-015-0236-0>
- Nikiforuk, A., 2014. The procognitive effects of 5-HT<sub>6</sub> receptor ligands in animal models of schizophrenia. *Rev. Neurosci.* 25, 367–82. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0005>
- Nikiforuk, A., Fijał, K., Potasiewicz, A., Popik, P., Kos, T., 2013. The 5-hydroxytryptamine (serotonin) receptor 6 agonist EMD 386088 ameliorates ketamine-induced deficits in attentional set shifting and novel object recognition, but not in the prepulse inhibition in rats. *J. Psychopharmacol.* 27, 469–476. <https://doi.org/10.1177/0269881113480991>
- Nikiforuk, A., Kos, T., Wesołowska, A., 2011. The 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist EMD 386088 produces antidepressant and anxiolytic effects in rats after intrahippocampal administration. *Psychopharmacology (Berl)*. 217, 411–8. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2297-1>
- Ninan, I., Jardemark, K.E., Wang, R.Y., 2003. Olanzapine and clozapine but not haloperidol reverse subchronic phencyclidine-induced functional hyperactivity of N-methyl-D-aspartate receptors in pyramidal cells of the rat medial prefrontal cortex. *Neuropharmacology* 44, 462–72. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(03\)00033-9](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(03)00033-9)
- Niwa, M., Kamiya, A., Murai, R., Kubo, K. ichiro, Gruber, A.J., Tomita, K., Lu, L., Tomisato, S., Jaaro-Peled, H., Seshadri, S., Hiyama, H., Huang, B., Kohda, K., Noda, Y., O'Donnell, P., Nakajima, K., Sawa, A., Nabeshima, T., 2010. Knockdown of DISC1 by In Utero Gene Transfer Disturbs Postnatal Dopaminergic Maturation in the Frontal Cortex and Leads to Adult Behavioral Deficits. *Neuron* 65, 480–489. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.019>
- Nucifora, F.C., Woznica, E., Lee, B.J., Cascella, N., Sawa, A., 2019. Treatment resistant schizophrenia: Clinical, biological, and therapeutic perspectives. *Neurobiol. Dis.* 131, 104257. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.08.016>

## O

- O'Leary, C., Desbonnet, L., Clarke, N., Petit, E., Tighe, O., Lai, D., Harvey, R., Waddington, J.L., O'Tuathaigh, C., 2014. Phenotypic effects of maternal immune activation and early postnatal milieu in mice mutant for the schizophrenia risk gene neuregulin-1. *Neuroscience* 277, 294–305. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2014.06.028>
- Ohnuma, T., Suzuki, T., Arai, H., 2005. Hypothesis: minimal changes in neural transmission in schizophrenia: decreased glutamatergic and GABAergic functions in the prefrontal cortex. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 889–94. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2005.04.038>
- Okkels, N., Trabjerg, B., Arendt, M., Pedersen, C.B., 2017. Traumatic Stress Disorders and Risk of Subsequent Schizophrenia Spectrum Disorder or Bipolar Disorder: A Nationwide Cohort Study. *Schizophr. Bull.* 43, 180–186. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbw082>
- Okubo, R., Hasegawa, T., Fukuyama, K., Shirogawa, T., Okada, M., 2021. Current Limitations and Candidate Potential of 5-HT<sub>7</sub> Receptor Antagonism in Psychiatric Pharmacotherapy. *Front. psychiatry* 12, 623684. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2021.623684>
- Oliver, M.W., Kessler, M., Larson, J., Schottler, F., Lynch, G., 1990. Glycine site associated with the NMDA receptor modulates long-term potentiation. *Synapse* 5, 265–70. <https://doi.org/10.1002/syn.890050403>
- Oliver, P.L., Davies, K.E., 2009. Interaction between environmental and genetic factors modulates schizophrenic endophenotypes in the Snap-25 mouse mutant blind-drunk. *Hum. Mol. Genet.* 18, 4576–4589. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp425>
- Olivier, B., Chan, J.S.W., Snoeren, E.M., Olivier, J.D.A., Veening, J.G., Vinkers, C.H., Waldinger, M.D., Oosting, R.S., 2011. Differences in sexual behaviour in male and female rodents: role of serotonin. *Curr. Top. Behav. Neurosci.* 8, 15–36. [https://doi.org/10.1007/7854\\_2010\\_116](https://doi.org/10.1007/7854_2010_116)
- Opitz, B., 2014. Memory function and the hippocampus. *Front. Neurol. Neurosci.* 34, 51–9. <https://doi.org/10.1159/000356422>
- Orzelska-Górka, J., Mikulska, J., Wiszniewska, A., Biała, G., 2022. New Atypical Antipsychotics in the Treatment of Schizophrenia and Depression. *Int. J. Mol. Sci.* 23. <https://doi.org/10.3390/ijms231810624>

## P

- Paoletti, P., Bellone, C., Zhou, Q., 2013. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 14, 383–400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>
- Paquin, V., Lapierre, M., Veru, F., King, S., 2021. Early Environmental Upheaval and the Risk for Schizophrenia. *Annu. Rev.*

## | Références bibliographiques

- Clin. Psychol. 17, 285–311. <https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-081219-103805>
- Patel, K.R., Cherian, J., Gohil, K., Atkinson, D., 2014. Schizophrenia: overview and treatment options. *P T* 39, 638–45.
- Percelay, S., 2021. Validation d'un modèle murin de schizophrénie pour évaluer la recherche de nouveaux traitements. Approche psychopharmacologique, en imagerie et en électrophysiologie. University of Caen Normandy.
- Percelay, S., Billard, J.M., Freret, T., Andrieux, A., Boulouard, M., Bouet, V., 2021a. Functional dysregulations in ca1 hippocampal networks of a 3-hit mouse model of schizophrenia. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms22052644>
- Percelay, S., Freret, T., Turnbull, N., Bouet, V., Boulouard, M., 2021b. Combination of MAP6 deficit, maternal separation and MK801 in female mice: A 3-hit animal model of neurodevelopmental disorder with cognitive deficits. *Behav. Brain Res.* 413, 113473. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113473>
- Perez-García, G., Meneses, A., 2005. Oral administration of the 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists SB-357134 and SB-399885 improves memory formation in an autoshaping learning task. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 81, 673–82. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.05.005>
- Pierce, P.A., Xie, G.X., Levine, J.D., Peroutka, S.J., 1996. 5-Hydroxytryptamine receptor subtype messenger RNAs in rat peripheral sensory and sympathetic ganglia: a polymerase chain reaction study. *Neuroscience* 70, 553–9. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00329-0](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00329-0)
- Pitsikas, N., Zisopoulou, S., Pappas, I., Sakellaris, N., 2008. The selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist Ro 04-6790 attenuates psychotomimetic effects of the NMDA receptor antagonist MK-801. *Behav. Brain Res.* 188, 304–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.11.010>
- Pitychoutis, P.M., Pallis, E.G., Mikail, H.G., Papadopoulou-Daifoti, Z., 2011. Individual differences in novelty-seeking predict differential responses to chronic antidepressant treatment through sex- and phenotype-dependent neurochemical signatures. *Behav. Brain Res.* 223, 154–68. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.04.036>
- Ploux, E., Bouet, V., Radzishewsky, I., Wolosker, H., Freret, T., Billard, J.M., 2020. Serine racemase deletion affects the excitatory/inhibitory balance of the hippocampal CA1 network. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms21249447>
- Ploux, E., Freret, T., Billard, J.-M., 2021. d-serine in physiological and pathological brain aging. *Biochim. Biophys. Acta. Proteins proteomics* 1869, 140542. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2020.140542>
- Popovic, D., Schmitt, A., Kaurani, L., Senner, F., Papiol, S., Malchow, B., Fischer, A., Schulze, T.G., Koutsouleris, N., Falkai, P., 2019. Childhood Trauma in Schizophrenia: Current Findings and Research Perspectives. *Front. Neurosci.* 13, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00274>
- Portas, C.M., Bjorvatn, B., Ursin, R., 2000. Serotonin and the sleep/wake cycle: special emphasis on microdialysis studies. *Prog. Neurobiol.* 60, 13–35. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(98\)00097-5](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00097-5)
- Pourhamzeh, M., Moravej, F.G., Arabi, M., Shahriari, E., Mehrabi, S., Ward, R., Ahadi, R., Joghataei, M.T., 2022. The Roles of Serotonin in Neuropsychiatric Disorders. *Cell. Mol. Neurobiol.* 42, 1671–1692. <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01064-9>
- Pouzet, B., Didriksen, M., Arnt, J., 2002. Effects of the 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist, SB-271046, in animal models for schizophrenia. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 71, 635–43. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(01\)00743-2](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00743-2)
- Powell, S.B., Swerdlow, N.R., 2023. The Relevance of Animal Models of Social Isolation and Social Motivation for Understanding Schizophrenia: Review and Future Directions. *Schizophr. Bull.* <https://doi.org/10.1093/schbul/sbad098>
- Preston, A.R., Eichenbaum, H., 2013. Interplay of hippocampus and prefrontal cortex in memory. *Curr. Biol.* 23, R764–73. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.041>
- Prieur, E.A.K., Jadavji, N.M., 2019. Assessing Spatial Working Memory Using the Spontaneous Alternation Y-maze Test in Aged Male Mice. *Bio-protocol* 9, e3162. <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3162>
- Prut, L., Belzung, C., 2003. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *Eur. J. Pharmacol.* [https://doi.org/10.1016/S0014-2999\(03\)01272-X](https://doi.org/10.1016/S0014-2999(03)01272-X)

## Q

- Quiedeville, A., Boulouard, M., Da Silva Costa-Aze, V., Dauphin, F., Bouet, V., Freret, T., 2014. 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists as treatment for age-related cognitive decline. *Rev. Neurosci.* 25, 417–27. <https://doi.org/10.1515/revneuro-2014-0013>
- Quiedeville, A., Boulouard, M., Hamidouche, K., Da Silva Costa-Aze, V., Nee, G., Rochais, C., Dallemagne, P., Fabis, F., Freret, T., Bouet, V., 2015. Chronic activation of 5-HT<sub>4</sub> receptors or blockade of 5-HT<sub>6</sub> receptors improve memory performances. *Behav. Brain Res.* 293, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.07.020>

## R

- Rabinowitz, J., Werbeloff, N., Caers, I., Mandel, F.S., Stauffer, V., Ménard, F., Kinon, B.J., Kapur, S., 2014. Determinants of Antipsychotic Response in Schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* 75, e308–e316. <https://doi.org/10.4088/JCP.13m08853>
- Rajagopalan, A.K., Bache, W.K., Chen, S.Z., Bojdani, E., Li, K.J., 2019. New-generation Antipsychotics and Cardiovascular Risk. *Curr. Treat. Options Psychiatry* 6, 154–163. <https://doi.org/10.1007/s40501-019-00173-z>
- Ramírez, M.J., 2013. 5-HT<sub>6</sub> receptors and Alzheimer's disease. *Alzheimers. Res. Ther.* 5, 15. <https://doi.org/10.1186/alzrt169>
- Rameyad, A., Studerus, E., Kometer, M., Uttinger, M., Gschwandtner, U., Fuhr, P., Riecher-Rössler, A., 2016. Prediction of psychosis using neural oscillations and machine learning in neuroleptic-naïve at-risk patients. *World J. Biol. Psychiatry* 17, 285–95. <https://doi.org/10.3109/15622975.2015.1083614>
- Rees, E., O'Donovan, M.C., Owen, M.J., 2015. Genetics of schizophrenia. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 2, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2014.07.001>
- Reigstad, C.S., Salmonson, C.E., Rainey, J.F., Szurszewski, J.H., Linden, D.R., Sonnenburg, J.L., Farrugia, G., Kashyap, P.C., 2015. Gut microbes promote colonic serotonin production through an effect of short-chain fatty acids on enterochromaffin cells. *FASEB J.* 29, 1395–403. <https://doi.org/10.1096/fj.14-259598>
- Remington, G., Addington, D., Honer, W., Ismail, Z., Raedler, T., Teehan, M., 2017. Guidelines for the Pharmacotherapy of Schizophrenia in Adults. *Can. J. Psychiatry*. 62, 604–616. <https://doi.org/10.1177/0706743717720448>
- Remington, G., Hahn, M.K., Agarwal, S.M., Chintoh, A., Agid, O., 2021. Schizophrenia: Antipsychotics and drug development. *Behav. Brain Res.* 414, 113507. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2021.113507>
- Riccioni, T., Bordini, F., Minetti, P., Spadoni, G., Yun, H.-M., Im, B.-H., Tarzia, G., Rhim, H., Borsini, F., 2011. ST1936 stimulates cAMP, Ca<sup>2+</sup>, ERK1/2 and Fyn kinase through a full activation of cloned human 5-HT<sub>6</sub> receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 661, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.04.028>
- Riemer, C., Borroni, E., Levet-Trafit, B., Martin, J.R., Poli, S., Porter, R.H.P., Bös, M., 2003. Influence of the 5-HT<sub>6</sub> receptor on acetylcholine release in the cortex: pharmacological characterization of 4-(2-bromo-6-pyrrolidin-1-ylpyridine-4-sulfonyl)phenylamine, a potent and selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist. *J. Med. Chem.* 46, 1273–6. <https://doi.org/10.1021/jm021085c>
- Ripke, S., Neale, B.M., Corvin, A., Walters, J.T.R., Farh, K.H., Holmans, P.A., Lee, P., Bulik-Sullivan, B., Collier, D.A., Huang, H., Pers, T.H., Agartz, I., Agerbo, E., Albus, M., Alexander, M., Amin, F., Bacanu, S.A., Begemann, M., Belliveau, R.A., Bene, J., Bergen, S.E., Bevilacqua, E., Bigdeli, T.B., Black, D.W., Bruggeman, R., Buccola, N.G., Buckner, R.L., Byerley, W., Cahn, W., Cai, G., Campion, D., Cantor, R.M., Carr, V.J., Carrera, N., Catts, S. V., Chambert, K.D., Chan, R.C.K., Chen, R.Y.L., Chen, E.Y.H., Cheng, W., Cheung, E.F.C., Chong, S.A., Cloninger, C.R., Cohen, D., Cohen, N., Cormican, P., Craddock, N., Crowley, J.J., Curtis, D., Davidson, M., Davis, K.L., Degenhardt, F., Del Favero, J., Demontis, D., Dikeos, D., Dinan, T., Djurovic, S., Donohoe, G., Drapeau, E., Duan, J., Dudbridge, F., Durmishi, N., Eichhammer, P., Eriksson, J., Escott-Price, V., Essioux, L., Fanous, A.H., Farrell, M.S., Frank, J., Franke, L., Freedman, R., Freimer, N.B., Friedl, M., Friedman, J.I., Fromer, M., Genovese, G., Georgieva, L., Giegling, I., Giusti-Rodríguez, P., Godard, S., Goldstein, J.I., Golimbet, V., Gopal, S., Gratten, J., De Haan, L., Hammer, C., Hamshere, M.L., Hansen, M., Hansen, T., Haroutunian, V., Hartmann, A.M., Henskens, F.A., Herms, S., Hirschhorn, J.N., Hoffmann, P., Hofman, A., Hollegaard, M. V., Hougaard, D.M., Ikeda, M., Joa, I., Julià, A., Kahn, R.S., Kalaydjieva, L., Karachanak-Yankova, S., Karjalainen, J., Kavanagh, D., Keller, M.C., Kennedy, J.L., Khrunin, A., Kim, Y., Klovins, J., Knowles, J.A., Konte, B., Kucinskas, V., Kucinskiene, Z.A., Kuzelova-Ptackova, H., Kähler, A.K., Laurent, C., Keong, J.L.C., Lee, S.H., Legge, S.E., Lerer, B., Li, M., Li, T., Liang, K.Y., Lieberman, J., Limborska, S., Loughland, C.M., Lubinski, J., Lönnqvist, J., Macek, M., Magnusson, P.K.E., Maher, B.S., Maier, W., Mallet, J., Marsal, S., Mattheisen, M., Mattingsdal, M., McCarley, R.W., McDonald, C., McIntosh, A.M., Meier, S., Meijer, C.J., Melegh, B., Melle, I., Meshulam-Gately, R.I., Metspalu, A., Michie, P.T., Milani, L., Milanova, V., Mokrab, Y., Morris, D.W., Mors, O., Murphy, K.C., Murray, R.M., Myin-Germeys, I., Müller-Myhsok, B., Nelis, M., Nenadic, I., Nertney, D.A., Nestadt, G., Nicodemus, K.K., Nikitina-Zake, L., Nisenbaum, L., Nordin, A., O'Callaghan, E., O'Dushlaine, C., O'Neill, F.A., Oh, S.Y., Olincy, A., Olsen, L., Van Os, J., Pantelis, C., Papadimitriou, G.N., Papiol, S., Parkhomenko, E., Pato, M.T., Paunio, T., Pejovic-Milovancevic, M., Perkins, D.O., Pietiläinen, O., Pimm, J., Pocklington, A.J., Powell, J., Price, A., Pulver, A.E., Purcell, S.M., Quedsted, D., Rasmussen, H.B., Reichenberg, A., Reimers, M.A., Richards, A.L., Roffman, J.L., Roussos, P., Ruderfer, D.M., Salomaa, V., Sanders, A.R., Schall, U., Schubert, C.R., Schulze, T.G., Schwab, S.G., Scolnick, E.M., Scott, R.J., Seidman, L.J., Shi, J., Sigurdsson, E., Silagadze, T., Silverman, J.M., Sim, K., Slominsky, P., Smoller, J.W., So, H.C., Spencer, C.C.A., Stahl, E.A., Stefansson, H., Steinberg, S., Stogmann, E., Straub, R.E., Strengman, E., Strohmaier, J., Stroup, T.S., Subramaniam, M., Suvisaari, J., Svrakic, D.M., Szatkiewicz, J.P., Söderman, E., Thirumalai, S., Toncheva, D., Tosato, S., Veijola, J., Waddington, J., Walsh, D., Wang, D., Wang, Q., Webb, B.T., Weiser, M., Wildenauer, D.B., Williams, N.M., Williams, S., Witt, S.H., Wolen, A.R., Wong, E.H.M., Wormley, B.K., Xi, H.S., Zai, C.C., Zheng, X., Zimprich, F., Wray, N.R., Stefansson, K., Visscher, P.M., Adolfsson, R., Andreassen, O.A., Blackwood, D.H.R., Bramon, E., Buxbaum, J.D., Børghlum, A.D., Cichon, S., Darvasi, A., Domenici, E., Ehrenreich, H., Esko, T., Gejman, P. V., Gill, M., Gurling, H., Hultman, C.M., Iwata, N., Jablensky, A. V., Jönsson, E.G., Kendler, K.S., Kirov, G., Knight, J.,

## | Références bibliographiques

- Lencz, T., Levinson, D.F., Li, Q.S., Liu, J., Malhotra, A.K., McCarroll, S.A., McQuillin, A., Moran, J.L., Mortensen, P.B., Mowry, B.J., Nöthen, M.M., Ophoff, R.A., Owen, M.J., Palotie, A., Pato, C.N., Petryshen, T.L., Posthuma, D., Rietschel, M., Riley, B.P., Rujescu, D., Sham, P.C., Sklar, P., St Clair, D., Weinberger, D.R., Wendland, J.R., Werge, T., Daly, M.J., Sullivan, P.F., O'Donovan, M.C., 2014. Biological insights from 108 schizophrenia-associated genetic loci. *Nature* 511, 421–427. <https://doi.org/10.1038/nature13595>
- Roberts, J.C., Reavill, C., East, S.Z., Harrison, P.J., Patel, S., Routledge, C., Leslie, R.A., 2002. The distribution of 5-HT(6) receptors in rat brain: an autoradiographic binding study using the radiolabelled 5-HT(6) receptor antagonist [(125)I]SB-258585. *Brain Res.* 934, 49–57. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)02360-0](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)02360-0)
- Romero-Reyes, J., Molina-Hernández, A., Díaz, N.F., Camacho-Arroyo, I., 2021. Role of serotonin in vertebrate embryo development. *Reprod. Biol.* 21, 100475. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2020.100475>
- Romero, G., Sánchez, E., Pujol, M., Pérez, P., Codony, X., Holenz, J., Buschmann, H., Pauwels, P.J., 2006. Efficacy of selective 5-HT6 receptor ligands determined by monitoring 5-HT6 receptor-mediated cAMP signaling pathways. *Br. J. Pharmacol.* 148, 1133–43. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706827>
- Routledge, C., Bromidge, S.M., Moss, S.F., Price, G.W., Hirst, W., Newman, H., Riley, G., Gager, T., Stean, T., Upton, N., Clarke, S.E., Brown, A.M., Middlemiss, D.N., 2000. Characterization of SB-271046: A potent, selective and orally active 5-HT6 receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.* 130, 1606–1612. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0703457>
- Roux, C.M., Leger, M., Freret, T., 2021. Memory Disorders Related to Hippocampal Function: The Interest of 5-HT4Rs Targeting. *Int. J. Mol. Sci.* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms222112082>
- Ruat, M., Traiffort, E., Arrang, J.M., Tardivellacombe, J., Diaz, J., Leurs, R., Schwartz, J.C., 1993. A Novel Rat Serotonin (5-HT6) Receptor: Molecular Cloning, Localization and Stimulation of cAMP Accumulation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* <https://doi.org/10.1006/bbrc.1993.1619>
- Ruby, E., Polito, S., McMahon, K., Gorovitz, M., Corcoran, C., Malaspina, D., 2014. Pathways Associating Childhood Trauma to the Neurobiology of Schizophrenia. *Front. Psychol. Behav. Sci.* 3, 1–17. <https://doi.org/25419548>
- Ruby, E., Rothman, K., Corcoran, C., Goetz, R.R., Malaspina, D., 2017. Influence of early trauma on features of schizophrenia. *Early Interv. Psychiatry* 11, 322–333. <https://doi.org/10.1111/eip.12239>
- Rychtyk, J., Partyka, A., Gdula-Argasińska, J., Mysłowska, K., Wilczyńska, N., Jastrzębska-Więsek, M., Wesółowska, A., 2019. 5-HT6 receptor agonist and antagonist improve memory impairments and hippocampal BDNF signaling alterations induced by MK-801. *Brain Res.* 1722. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2019.146375>

## S

- Sanguhl, K., Klein, T.E., Altman, R.B., 2009. Selective serotonin reuptake inhibitors pathway. *Pharmacogenet. Genomics* 19, 907–9. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32833132cb>
- Schechter, L.E., Lin, Q., Smith, D.L., Zhang, G., Shan, Q., Platt, B., Brandt, M.R., Dawson, L.A., Cole, D., Bernotas, R., Robichaud, A., Rosenzweig-Lipson, S., Beyer, C.E., 2008. Neuropharmacological profile of novel and selective 5-HT6 receptor agonists: WAY-181187 and WAY-208466. *Neuropsychopharmacology* 33, 1323–1335. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301503>
- Schmidt, M.J., Mirnics, K., 2015. Neurodevelopment, GABA system dysfunction, and schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 40, 190–206. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.95>
- Schreiber, R., Vivian, J., Hedley, L., Szczepanski, K., Secchi, R.L., Zuzow, M., van Laarhoven, S., Moreau, J.-L., Martin, J.R., Sik, A., Blokland, A., 2007. Effects of the novel 5-HT(6) receptor antagonist RO4368554 in rat models for cognition and sensorimotor gating. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 17, 277–88. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2006.06.009>
- Schroeder, A., Buret, L., Hill, R.A., van den Buuse, M., 2015. Gene-environment interaction of reelin and stress in cognitive behaviours in mice: Implications for schizophrenia. *Behav. Brain Res.* 287, 304–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.03.063>
- Schwartz, T.L., Sachdeva, S., Stahl, S.M., 2012. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. *Front. Pharmacol.* 3, 195. <https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00195>
- Seeman, M. V., 2020. Men and women respond differently to antipsychotic drugs. *Neuropharmacology* 163, 107631. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2019.05.008>
- Sekeres, M.J., Winocur, G., Moscovitch, M., 2018. The hippocampus and related neocortical structures in memory transformation. *Neurosci. Lett.* 680, 39–53. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2018.05.006>
- Sharp, T., Barnes, N.M., 2020. Central 5-HT receptors and their function; present and future. *Neuropharmacology* 177, 108155. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108155>
- Sheng, M., Thompson, M.A., Greenberg, M.E., 1991. CREB: a Ca(2+)-regulated transcription factor phosphorylated by calmodulin-dependent kinases. *Science* 252, 1427–30. <https://doi.org/10.1126/science.1646483>
- Shimizu, H., Iwayama, Y., Yamada, K., Toyota, T., Minabe, Y., Nakamura, K., Nakajima, M., Hattori, E., Mori, N., Osumi, N., Yoshikawa, T., 2006. Genetic and expression analyses of the STOP (MAP6) gene in schizophrenia. *Schizophr. Res.* 84, 244–52. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2006.03.017>

## | Références bibliographiques

- Shimizu, S., Mizuguchi, Y., Ohno, Y., 2013. Improving the Treatment of Schizophrenia: Role of 5-HT Receptors in Modulating Cognitive and Extrapyramidal Motor Functions. *CNS Neurol. Disord. - Drug Targets* 12, 861–869. <https://doi.org/10.2174/18715273113129990088>
- Shoji, H., Miyakawa, T., 2019. Age-related behavioral changes from young to old age in male mice of a C57BL/6J strain maintained under a genetic stability program. *Neuropsychopharmacol. reports* 39, 100–118. <https://doi.org/10.1002/npr2.12052>
- Shoji, H., Takao, K., Hattori, S., Miyakawa, T., 2016. Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Mol. Brain* 9, 11. <https://doi.org/10.1186/s13041-016-0191-9>
- Shortall, S.E., Brown, A.M., Newton-Mann, E., Dawe-Lane, E., Evans, C., Fowler, M., King, M. V., 2020. Calbindin Deficits May Underlie Dissociable Effects of 5-HT6 and mGlu7 Antagonists on Glutamate and Cognition in a Dual-Hit Neurodevelopmental Model for Schizophrenia. *Mol. Neurobiol.* 57, 3439–3457. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-01938-x>
- Silva, A.J., Kogan, J.H., Frankland, P.W., Kida, S., 1998. CREB and memory. *Annu. Rev. Neurosci.* 21, 127–48. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.21.1.127>
- Simpson, S.M., Hickey, A.J., Baker, G.B., Reynolds, J.N., Beninger, R.J., 2012. The antidepressant phenelzine enhances memory in the double Y-maze and increases GABA levels in the hippocampus and frontal cortex of rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 102, 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.03.027>
- Since, M., Freret, T., Nee, G., Terme, T., Vanelle, P., Boulouard, M., 2013. New orally effective 3-(2-nitro)phenylpropanamide analgesic derivatives: synthesis and antinociceptive evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 69, 728–34. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2013.08.041>
- Siuda, D., Wu, Z., Chen, Y., Guo, L., Linke, M., Zechner, U., Xia, N., Reifenberg, G., Kleinert, H., Forstermann, U., Li, H., 2014. Social isolation-induced epigenetic changes in midbrain of adult mice. *J. Physiol. Pharmacol.* 65, 247–255.
- Skåtun, K.C., Kaufmann, T., Brandt, C.L., Doan, N.T., Alnæs, D., Tønnesen, S., Biele, G., Vaskinn, A., Melle, I., Agartz, I., Andreassen, O.A., Westlye, L.T., 2018. Thalamo-cortical functional connectivity in schizophrenia and bipolar disorder. *Brain Imaging Behav.* 12, 640–652. <https://doi.org/10.1007/s11682-017-9714-y>
- Sleight, A.J., Boess, F.G., Bös, M., Levet-Trafit, B., Riemer, C., Bourson, A., 1998. Characterization of Ro 04-6790 and Ro 63-0563: potent and selective antagonists at human and rat 5-HT6 receptors. *Br. J. Pharmacol.* 124, 556–62. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0701851>
- Smeland, O.B., Andreassen, O.A., 2022. Schizophrenia: genetic insights with clinical potential. *Nat. Rev. Neurol.* 18, 129–130. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00613-6>
- Smeland, O.B., Frei, O., Dale, A.M., Andreassen, O.A., 2020. The polygenic architecture of schizophrenia — rethinking pathogenesis and nosology. *Nat. Rev. Neurol.* <https://doi.org/10.1038/s41582-020-0364-0>
- Smith, J.W., Gastambide, F., Gilmour, G., Dix, S., Foss, J., Lloyd, K., Malik, N., Tricklebank, M., 2011. A comparison of the effects of ketamine and phencyclidine with other antagonists of the NMDA receptor in rodent assays of attention and working memory. *Psychopharmacology (Berl)*. 217, 255–269. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2277-5>
- Sodhi, M.S.K., Sanders-Bush, E., 2004. Serotonin and brain development. *Int. Rev. Neurobiol.* 59, 111–74. [https://doi.org/10.1016/S0074-7742\(04\)59006-2](https://doi.org/10.1016/S0074-7742(04)59006-2)
- Spohn, S.N., Mawe, G.M., 2017. Non-conventional features of peripheral serotonin signalling — the gut and beyond. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 14, 412–420. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.51>
- Stahl, S.M., 1998. Mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors. Serotonin receptors and pathways mediate therapeutic effects and side effects. *J. Affect. Disord.* 51, 215–35. [https://doi.org/10.1016/S0165-0327\(98\)00221-3](https://doi.org/10.1016/S0165-0327(98)00221-3)
- Stauffer, E.-M., Bethlehem, R.A.I., Warriar, V., Murray, G.K., Romero-Garcia, R., Seidlitz, J., Bullmore, E.T., 2021. Grey and white matter microstructure is associated with polygenic risk for schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 26, 7709–7718. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01260-5>
- Stean, T.O., Hirst, W.D., Thomas, D.R., Price, G.W., Rogers, D., Riley, G., Bromidge, S.M., Serafinowska, H.T., Smith, D.R., Bartlett, S., Deeks, N., Duxon, M., Upton, N., 2002. Pharmacological profile of SB-357134: a potent, selective, brain penetrant, and orally active 5-HT(6) receptor antagonist. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 71, 645–54. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(01\)00742-0](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00742-0)
- Stefanis, N., Frangou, S., Yakeley, J., Sharma, T., O’Connell, P., Morgan, K., Sigmudsson, T., Taylor, M., Murray, R., 1999. Hippocampal volume reduction in schizophrenia: effects of genetic risk and pregnancy and birth complications. *Biol. Psychiatry* 46, 697–702. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(99\)00089-x](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(99)00089-x)
- Stein, M.B., Andrews, A.M., 2015. Serotonin States and Social Anxiety. *JAMA psychiatry* 72, 845–7. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2015.0486>
- Steiner, J., Brisch, R., Schiltz, K., Dobrowolny, H., Mawrin, C., Krzyżanowska, M., Bernstein, H.-G., Jankowski, Z., Braun, K., Schmitt, A., Bogerts, B., Gos, T., 2016. GABAergic system impairment in the hippocampus and superior temporal gyrus of patients with paranoid schizophrenia: A post-mortem study. *Schizophr. Res.* 177, 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2016.02.018>
- Stępnicki, P., Kondej, M., Koszła, O., Żuk, J., Kaczor, A.A., 2021. Multi-targeted drug design strategies for the treatment of

## | Références bibliographiques

- schizophrenia. *Expert Opin. Drug Discov.* 16, 101–114. <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1816962>
- Stilo, S.A., Murray, R.M., 2019. Non-Genetic Factors in Schizophrenia. *Curr. Psychiatry Rep.* 21, 100. <https://doi.org/10.1007/s11920-019-1091-3>
- Stone, J.M., 2009. Imaging the glutamate system in humans: relevance to drug discovery for schizophrenia. *Curr. Pharm. Des.* 15, 2594–602. <https://doi.org/10.2174/138161209788957438>
- Suárez-Santiago, J.E., Briones-Aranda, A., Espinosa-Raya, J., Picazo, O., 2017. Agonist E-6837 and antagonist SB-271046 of 5-HT 6 receptors both reverse the depressive-like effect induced in mice by subchronic ketamine administration. *Behav. Pharmacol.* 28, 582–585. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000327>
- Suárez-Santiago, J.E., Roldán Roldán, G., Picazo Picazo, O., 2022. The 5-HT6R agonist E-6837 and the antagonist SB-271046 reverse the psychotic-like behaviors induced by ketamine. *Behav. Pharmacol.* 33, 249–254. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000669>
- Sullivan, P.F., Kendler, K.S., Neale, M.C., 2003. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 1187–92. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.60.12.1187>
- Sutherland, J.E., Costa, M., 2003. Epigenetics and the environment, in: *Annals of the New York Academy of Sciences*. pp. 151–160. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb05970.x>
- Szwed, A., Kim, E., Jacinto, E., 2021. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol. Rev.* 101, 1371–1426. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2020>

## T

- Tada, M., Nagai, T., Kirihara, K., Koike, S., Suga, M., Araki, T., Kobayashi, T., Kasai, K., 2016. Differential Alterations of Auditory Gamma Oscillatory Responses Between Pre-Onset High-Risk Individuals and First-Episode Schizophrenia. *Cereb. Cortex* 26, 1027–1035. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhu278>
- Tan, H.-Y., Callicott, J.H., Weinberger, D.R., 2007. Dysfunctional and compensatory prefrontal cortical systems, genes and the pathogenesis of schizophrenia. *Cereb. Cortex* 17 Suppl 1, i171-81. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhm069>
- Tandon, R., Gaebel, W., Barch, D.M., Bustillo, J., Gur, R.E., Heckers, S., Malaspina, D., Owen, M.J., Schultz, S., Tsuang, M., Van Os, J., Carpenter, W., 2013. Definition and description of schizophrenia in the DSM-5. *Schizophr. Res.* 150, 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2013.05.028>
- Thonnard, D., Dreesen, E., Callaerts-Vegh, Z., D’Hooge, R., 2019. NMDA receptor dependence of reversal learning and the flexible use of cognitively demanding search strategies in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 90, 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.12.003>
- Tractenberg, S.G., Levandowski, M.L., de Azeredo, L.A., Orso, R., Roithmann, L.G., Hoffmann, E.S., Brenhouse, H., Grassi-Oliveira, R., 2016. An overview of maternal separation effects on behavioural outcomes in mice: Evidence from a four-stage methodological systematic review. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 68, 489–503. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.021>
- Trovão, L. de O., Alves, G.S., Carrilho, C.G., Riccio, T.G., Bittencourt, L., Alves, C., Brito, N.C., Nardi, A.E., Malaspina, D., Veras, A.B., 2022. Early trauma and schizophrenia onset: preliminary results of an outpatient cohort in Brazil. *Trends psychiatry Psychother.* 44, e20200024. <https://doi.org/10.47626/2237-6089-2020-0024>
- Tsegay, E.W., Demise, D.G., Hailu, N.A., Gufue, Z.H., 2020. Serotonin Type 6 and 7 Receptors as a Novel Therapeutic Target for the Treatment of Schizophrenia. *Neuropsychiatr. Dis. Treat.* 16, 2499–2509. <https://doi.org/10.2147/NDT.S263424>
- Twarog, B.M., Page, I.H., 1953. Serotonin Content of Some Mammalian Tissues and Urine and a Method for Its Determination. *Am. J. Physiol. Content* 175, 157–161. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1953.175.1.157>

## U

- Uhlhaas, P.J., 2013. Dysconnectivity, large-scale networks and neuronal dynamics in schizophrenia. *Curr. Opin. Neurobiol.* 23, 283–90. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2012.11.004>
- Uhlhaas, P.J., Singer, W., 2010. Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. *Nat. Rev. Neurosci.* 11, 100–113. <https://doi.org/10.1038/nrn2774>
- Uhlhaas, P.J., Singer, W., 2006. Neural synchrony in brain disorders: relevance for cognitive dysfunctions and pathophysiology. *Neuron* 52, 155–68. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.09.020>
- Uno, Y., Coyle, J.T., 2019. Glutamate hypothesis in schizophrenia. *Psychiatry Clin. Neurosci.* <https://doi.org/10.1111/pcn.12823>

V

- Valentini, V., Frau, R., Bordi, F., Borsini, F., Di Chiara, G., 2011. A microdialysis study of ST1936, a novel 5-HT<sub>6</sub> receptor agonist. *Neuropharmacology* 60, 602–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2010.12.006>
- Valverde, I., Penalva, A., Dieguez, C., 2000. Influence of different serotonin receptor subtypes on growth hormone secretion. *Neuroendocrinology* 71, 145–53. <https://doi.org/10.1159/000054530>
- Van Bodegom, M., Homberg, J.R., Henckens, M.J.A.G., 2017. Modulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by early life stress exposure. *Front. Cell. Neurosci.* 11, 1–33. <https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00087>
- van Bon, B.W., Mefford, H.C., de Vries, B.B., Schaaf, C.P., 1993. 15q13.3 Recurrent Deletion, GeneReviews®.
- Van Den Buuse, M., 2010. Modeling the positive symptoms of schizophrenia in genetically modified mice: Pharmacology and methodology aspects. *Schizophr. Bull.* 36, 246–270. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbp132>
- Van Voorhees, E., Scarpa, A., 2004. The effects of child maltreatment on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Trauma. Violence Abuse* 5, 333–52. <https://doi.org/10.1177/1524838004269486>
- Vargas, J., Junco, M., Gomez, C., Lajud, N., 2016. Early Life Stress Increases Metabolic Risk, HPA Axis Reactivity, and Depressive-Like Behavior When Combined with Postweaning Social Isolation in Rats. *PLoS One* 11, e0162665. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162665>
- Vasilu, O., 2022. Third-generation antipsychotics in patients with schizophrenia and non-responsivity or intolerance to clozapine regimen: What is the evidence? *Front. psychiatry* 13, 1069432. <https://doi.org/10.3389/fpsyt.2022.1069432>
- Verrall, L., Burnet, P.W.J., Betts, J.F., Harrison, P.J., 2010. The neurobiology of D-amino acid oxidase and its involvement in schizophrenia. *Mol. Psychiatry* 15, 122–37. <https://doi.org/10.1038/mp.2009.99>
- Vitolo, E., Tatu, M.K., Pignolo, C., Cauda, F., Costa, T., Ando', A., Zennaro, A., 2017. White matter and schizophrenia: A meta-analysis of voxel-based morphometry and diffusion tensor imaging studies. *Psychiatry Res. Neuroimaging* 270, 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.pscychresns.2017.09.014>
- Volk, D.W., Matsubara, T., Li, S., Sengupta, E.J., Georgiev, D., Minabe, Y., Sampson, A., Hashimoto, T., Lewis, D.A., 2012. Deficits in transcriptional regulators of cortical parvalbumin neurons in schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 169, 1082–91. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2012.12030305>
- Volle, J., Brocard, J., Saoud, M., Gory-Faure, S., Brunelin, J., Andrieux, A., Suaud-Chagny, M.-F., 2013. Reduced expression of STOP/MAP6 in mice leads to cognitive deficits. *Schizophr. Bull.* 39, 969–78. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbs113>
- Vuillermot, S., Joodmardi, E., Perlmann, T., Ögren, S.O., Feldon, J., Meyer, U., 2012. Prenatal immune activation interacts with genetic Nurr1 deficiency in the development of attentional impairments. *J. Neurosci.* 32, 436–51. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4831-11.2012>

W

- Wahbeh, M.H., Avramopoulos, D., 2021. Gene-environment interactions in schizophrenia: A literature review. *Genes (Basel)*. <https://doi.org/10.3390/genes12121850>
- Walther, D.J., Bader, M., 2003. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.* 66, 1673–80. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00556-2](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00556-2)
- Wang, H.-Y., Liu, Y., Yan, J.-W., Hu, X.-L., Zhu, D.-M., Xu, X.-T., Li, X.-S., 2018. Gene polymorphisms of DISC1 is associated with schizophrenia: Evidence from a meta-analysis. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 81, 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.10.008>
- Wang, J., Tang, Y., Curtin, A., Chan, R.C.K., Wang, Y., Li, H., Zhang, T., Qian, Z., Guo, Q., Li, Y., Liu, X., Tang, X., Wang, Jijun, 2018. Abnormal auditory-evoked gamma band oscillations in first-episode schizophrenia during both eye open and eye close states. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 86, 279–286. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.04.016>
- Wang, Q., Charych, E.I., Pulito, V.L., Lee, J.B., Graziane, N.M., Crozier, R.A., Revilla-Sanchez, R., Kelly, M.P., Dunlop, A.J., Murdoch, H., Taylor, N., Xie, Y., Pausch, M., Hayashi-Takagi, A., Ishizuka, K., Seshadri, S., Bates, B., Kariya, K., Sawa, A., Weinberg, R.J., Moss, S.J., Houslay, M.D., Yan, Z., Brandon, N.J., 2011. The psychiatric disease risk factors DISC1 and TNK1 interact to regulate synapse composition and function. *Mol. Psychiatry* 16, 1006–23. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.87>
- Watson, D.J.G., King, M. V., Gyertyán, I., Kiss, B., Adham, N., Fone, K.C.F., 2016. The dopamine D<sub>3</sub>-preferring D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> dopamine receptor partial agonist, cariprazine, reverses behavioural changes in a rat neurodevelopmental model for schizophrenia. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 26, 208–224. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.12.020>
- Weaver, I.C.G., Cervoni, N., Champagne, F.A., D'Alessio, A.C., Sharma, S., Seckl, J.R., Dymov, S., Szyf, M., Meaney, M.J., 2004. Epigenetic programming by maternal behavior. *Nat. Neurosci.* 7, 847–854. <https://doi.org/10.1038/nn1276>
- Wegrzyn, D., Juckel, G., Faissner, A., 2022. Structural and Functional Deviations of the Hippocampus in Schizophrenia and

## | Références bibliographiques

- Schizophrenia Animal Models. *Int. J. Mol. Sci.* 23. <https://doi.org/10.3390/ijms23105482>
- Wesołowska, A., 2010. Potential role of the 5-HT<sub>6</sub> receptor in depression and anxiety: an overview of preclinical data. *Pharmacol. Rep.* 62, 564–77. [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(10\)70315-7](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(10)70315-7)
- Wesołowska, A., Jastrzębska-Więsek, M., 2011. Behavioral pharmacology: potential antidepressant and anxiolytic properties. *Int. Rev. Neurobiol.* 96, 49–71. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385902-0.00003-6>
- Wesołowska, A., Nikiforuk, A., 2007. Effects of the brain-penetrant and selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist SB-399885 in animal models of anxiety and depression. *Neuropharmacology* 52, 1274–83. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.01.007>
- Wesołowska, A., Nikiforuk, A., Stachowicz, K., 2007. Anxiolytic-like and antidepressant-like effects produced by the selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist SB-258585 after intrahippocampal administration to rats. *Behav. Pharmacol.* 18, 439–46. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282d28f9c>
- Więckowska, A., Kołaczkowski, M., Bucki, A., Godyń, J., Marcinkowska, M., Więckowski, K., Zaręba, P., Siwek, A., Kazek, G., Głuch-Lutwin, M., Mierzejewski, P., Bienkowski, P., Sienkiewicz-Jarosz, H., Knez, D., Wichur, T., Gobec, S., Malawska, B., 2016. Novel multi-target-directed ligands for Alzheimer's disease: Combining cholinesterase inhibitors and 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonists. Design, synthesis and biological evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 124, 63–81. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2016.08.016>
- Wilson, C., Terry, A. V., 2010. Neurodevelopmental animal models of schizophrenia: role in novel drug discovery and development. *Clin. Schizophr. Relat. Psychoses* 4, 124–37. <https://doi.org/10.3371/CSRP.4.2.4>
- Winship, I.R., Dursun, S.M., Baker, G.B., Balista, P.A., Kandratavicius, L., Maia-de-Oliveira, J.P., Hallak, J., Howland, J.G., 2019. An Overview of Animal Models Related to Schizophrenia. *Can. J. Psychiatry.* 64, 5–17. <https://doi.org/10.1177/0706743718773728>
- Wolosker, H., 2007. NMDA receptor regulation by D-serine: new findings and perspectives. *Mol. Neurobiol.* 36, 152–64. <https://doi.org/10.1007/s12035-007-0038-6>
- Wolosker, H., Blackshaw, S., Snyder, S.H., 1999a. Serine racemase : A glial enzyme synthesizing D -serine to regulate glutamate-N-methyl- D - aspartate neurotransmission 96, 13409–13414.
- Wolosker, H., Sheth, K.N., Takahashi, M., Mothet, J.P., Brady, R.O., Ferris, C.D., Snyder, S.H., 1999b. Purification of serine racemase: Biosynthesis of the neuromodulator D-serine. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 96, 721–725. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.2.721>
- Woods, S., Clarke, N.N., Layfield, R., Fone, K.C.F., 2012. 5-HT(6) receptor agonists and antagonists enhance learning and memory in a conditioned emotion response paradigm by modulation of cholinergic and glutamatergic mechanisms. *Br. J. Pharmacol.* 167, 436–49. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02022.x>
- Woolley, M.L., Bentley, J.C., Sleight, A.J., Marsden, C.A., Fone, K.C., 2001. A role for 5-HT<sub>6</sub> receptors in retention of spatial learning in the Morris water maze. *Neuropharmacology* 41, 210–9. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(01\)00056-9](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(01)00056-9)
- Woolley, M.L., Marsden, C.A., Fone, K.C.F., 2004. 5-HT<sub>6</sub> Receptors. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.* 3, 59–79. <https://doi.org/10.2174/1568007043482561>
- Woolley, M.L., Marsden, C.A., Sleight, A.J., Fone, K.C.F., 2003. Reversal of a cholinergic-induced deficit in a rodent model of recognition memory by the selective 5-HT<sub>6</sub> receptor antagonist, Ro 04-6790. *Psychopharmacology (Berl).* 170, 358–67. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1552-5>

## Y

- Yagi, S., Galea, L.A.M., 2019. Sex differences in hippocampal cognition and neurogenesis. *Neuropsychopharmacology* 44, 200–213. <https://doi.org/10.1038/s41386-018-0208-4>
- Yamada, K., Ohnishi, T., Hashimoto, K., Ohba, H., Iwayama-Shigeno, Y., Toyoshima, M., Okuno, A., Takao, H., Toyota, T., Minabe, Y., Nakamura, K., Shimizu, E., Itokawa, M., Mori, N., Iyo, M., Yoshikawa, T., 2005. Identification of multiple serine racemase (SRR) mRNA isoforms and genetic analyses of SRR and DAO in schizophrenia and D-serine levels. *Biol. Psychiatry* 57, 1493–1503. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.03.018>
- Young, R.L., Lumsden, A.L., Keating, D.J., 2015. Gut Serotonin Is a Regulator of Obesity and Metabolism. *Gastroenterology* 149, 253–5. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.05.020>
- Yun, H.-M., Baik, J.-H., Kang, I., Jin, C., Rhim, H., 2010. Physical interaction of Jab1 with human serotonin 6 G-protein-coupled receptor and their possible roles in cell survival. *J. Biol. Chem.* 285, 10016–10029. <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.068759>
- Yun, H.-M., Kim, S., Kim, H.-J., Kostenis, E., Kim, J. II, Seong, J.Y., Baik, J.-H., Rhim, H., 2007. The novel cellular mechanism of human 5-HT<sub>6</sub> receptor through an interaction with Fyn. *J. Biol. Chem.* 282, 5496–505. <https://doi.org/10.1074/jbc.M606215200>

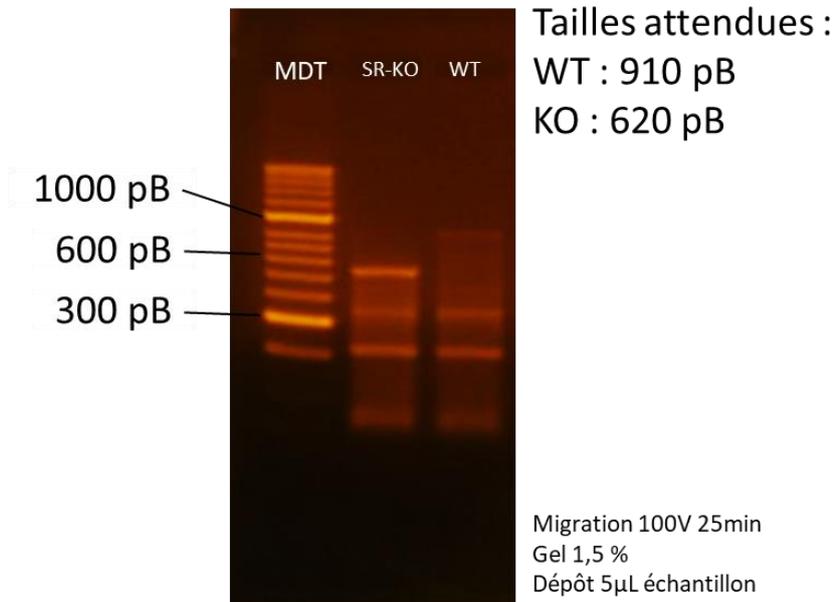
## Z

- Zajdel, P., Kos, T., Marciniak, K., Satała, G., Canale, V., Kamiński, K., Hołuj, M., Lenda, T., Koralewski, R., Bednarski, M., Nowiński, L., Wójcikowski, J., Daniel, W.A., Nikiforuk, A., Nalepa, I., Chmielarz, P., Kuśmierczyk, J., Bojarski, A.J., Popik, P., 2018. Novel multi-target azinesulfonamides of cyclic amine derivatives as potential antipsychotics with pro-social and pro-cognitive effects. *Eur. J. Med. Chem.* 145, 790–804. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.01.002>
- Zamberletti, E., Piscitelli, F., Cadeddu, F., Rubino, T., Fratta, W., Fadda, P., Di Marzo, V., Parolaro, D., 2012. Chronic blockade of CB(1) receptors reverses startle gating deficits and associated neurochemical alterations in rats reared in isolation. *Br. J. Pharmacol.* 167, 1652–64. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.02095.x>
- Zhang, T.Y., Hellstrom, I.C., Bagot, R.C., Wen, X., Diorio, J., Meaney, M.J., 2010. Maternal care and DNA methylation of a glutamic acid decarboxylase 1 promoter in rat hippocampus. *J. Neurosci.* 30, 13130–13137. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1039-10.2010>
- Zhao, C., Zhu, J., Liu, X., Pu, C., Lai, Y., Chen, L., Yu, X., Hong, N., 2018. Structural and functional brain abnormalities in schizophrenia: A cross-sectional study at different stages of the disease. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 83, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.12.017>

## **Annexes**

### Annexe 1. Exemple de résultats attendus pour le génotypage.

MDT : marqueur de taille



## Annexe 2. Mesure de la vision des souris à l'aide du dispositif d'acuité visuelle (hal-04216508v2)



### Behavioral assessment of visual acuity in a new multifactorial model of schizophrenia



Caroline Lahogue<sup>1, @</sup>, Olivia Karche<sup>2</sup>, Théo Guezennec<sup>2</sup>, Michel Bouluard<sup>1</sup>, Valentine Bouet<sup>1</sup>, Solenn Perceley<sup>1</sup>  
 @ : caroline.lahogue@unicaen.fr 1: COMETE, UMR 1075 INSERM/Université de Caen Normandie 2: Université de Caen Normandie

#### Introduction

Most behavioral tests used to assess cognitive functions (touchscreen, object recognition...) in animal models, require normal vision functioning. However, vision which could be affected by genetic alteration or brain insult, is rarely assessed, possibly leading to misinterpretation.

We are currently studying a new animal model of schizophrenia constructed on the combination of two factors (2-hit) : a genetic factor (deletion of serine racemase altered glutamate transmission) and an environmental factor (maternal separation for 24h at post-natal day 9, early stress). Serine racemase synthesizes the NMDA receptor co-agonist, D-serine and is present not only in the brain but also in the retina (Stevens et al., 2003). Its absence in SRKO mice could disturb vision development. Moreover, the second factor, maternal separation, would have long-term effects on visual functions and the retina (Grigoruta et al., 2020).

Based on virtual optomotor system of Prusky et al. (2000), our aim was herein to do a longitudinal checking of optomotor response development between 4 and 10 weeks of age in 2-hit mice.

#### Methods

**Virtual optomotor system**

Speed: 12 %/s  
 Contrast: 100%

0.1 cycle/deg 0.3 cycle/deg 0.5 cycle/deg  
 Frequency

Direction: clockwise counter-clockwise

Optomotor response

**Optomotor response:** head movement in the direction of the movement of vertical black and white bars, without body moving.

**Visual acuity threshold:** the highest frequency (cycle/deg) where the optomotor movement is visible

Longitudinal experiment to follow the evolution of visual acuity.

PN0 PND9 4 weeks 7 weeks 10 weeks

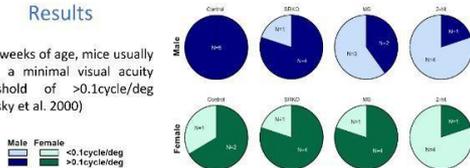
CS/RLC SRKO Maternal separation 24 h

★ Visual acuity test  
 Control SRKO  
 MS 2-hit  
 MS 2-hit

2004 Serine racemase knockout (SRKO) X Maternal separation (MS)

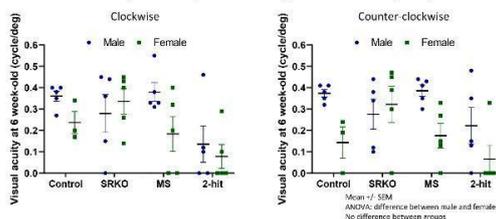
#### Results

At 4 weeks of age, mice usually have a minimal visual acuity threshold of >0.1 cycle/deg (Prusky et al. 2000)



**Number of mice that validated the criterion.** Control male and female mice predominantly validated the criterion at 4 weeks, as do the SRKO male and female and MS female groups. However, in the 2-hit male and female groups, only one mouse passed the criterion.

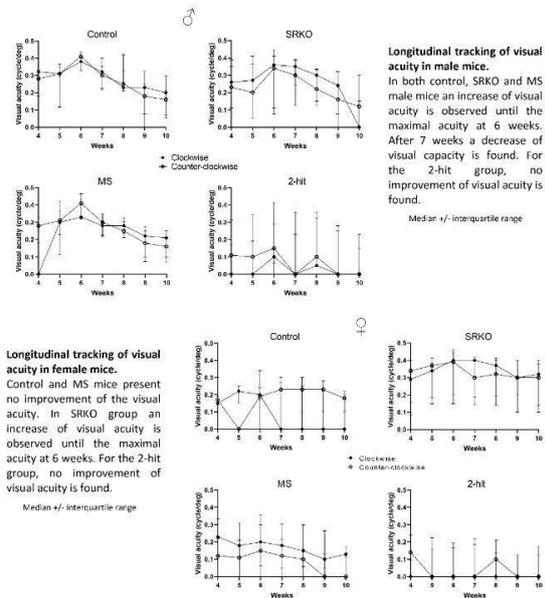
Maximal visual acuity is normally reached during mouse's 6 weeks (Prusky et al. 2000)



**Comparison of the visual acuity at 6 weeks.** The maximal visual acuity for male control and MS mice in both clockwise and counter-clockwise directions is around 0.35 cycle/deg corresponding to the normal vision in adult mice. SRKO female and male mice are a maximal visual acuity of 0.3 cycle/deg. In contrast, control and MS female mice have a maximal visual acuity of 0.2 cycle/deg. The 2-hit male and female mice, in both directions, seem to have a deleterious visual acuity (about 0.1 cycle/deg for male mice in clockwise direction and 0.2 cycle/deg in counter-clockwise and lower than 0.1 cycle/deg for female 2-hit mice in both directions).

#### Conclusion

The optomotor test was used to monitor the visual acuity of juvenile 2-hit mice. The results suggest that the combination of genetic and environmental factors has an impact on visual acuity. It will therefore be important to adapt the behavioral tests to be used to assess cognitive processes and avoid misinterpretation of measurements.



Prusky GI et al. "Behavioral assessment of visual acuity in mice and rats." *Vision research* vol. 40,16 (2000): 2201-9. doi:10.1016/S0042-6989(00)00081-X  
 Gustafson EC et al. "Endogenous D-serine contributes to NMDA-receptor-mediated light-evoked responses in the vertebrate retina." *Journal of neurophysiology* vol. 98,1 (2007): 122-30. doi:10.1152/jn.00057.2006  
 Grigoruta M et al. "Maternal separation induces retinal and peripheral blood mononuclear cell alterations across the lifespan of female rats." *Brain research* vol. 1749 (2020): 147117. doi:10.1016/j.brainres.2020.147117

## Annexe 3. Effet du blocage des 5-HT<sub>6</sub>R sur l'activation des récepteurs NMDA dans le modèle 2-hit [\(hal-04216528\)](#)



### EFFECT OF 5-HT<sub>6</sub>-R BLOCKADE ON NMDA ACTIVATION IN AN INNOVATIVE ANIMAL MODEL OF SCHIZOPHRENIA



Contact : [caroline.lahogue@unicaen.fr](mailto:caroline.lahogue@unicaen.fr)

Caroline LAHOUE<sup>1</sup>, Jean-Marie BILLARD<sup>1</sup>, Thomas FRERET<sup>1</sup>, Valentine BOUET<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Normandie Univ, UNICAEN, INSERM, COMETE GIP CYCERON, 14000 Caen, France



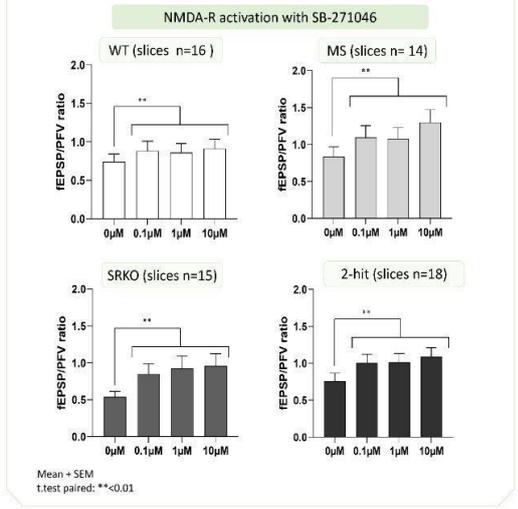
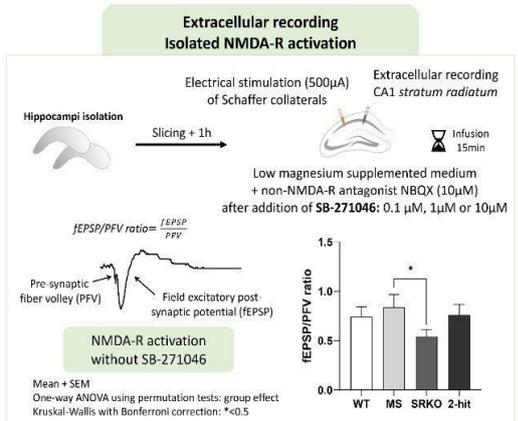
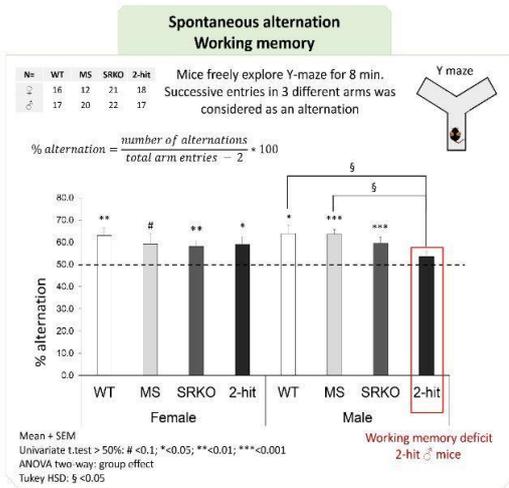
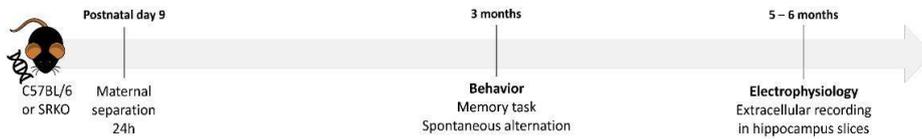
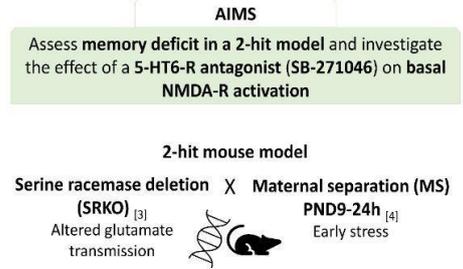
Memory impairments belong to symptoms of schizophrenia which are not alleviated by antipsychotic drugs

→ Serotonergic subtype 6 receptors (5-HT<sub>6</sub>-R) are an interesting target to improve current treatment:

- localized in regions involved in schizophrenia such as hippocampus
- reverse memory deficit by selective blockade (SB-271046) [1]

→ N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate receptors (NMDA-R):

- are key regulators of memory processes
- have crucial role in the physiopathology of schizophrenia [2]



#### TAKE HOME MESSAGE

The combination between genetic x environmental factor induces **working memory deficit** in 2-hit male mice. This is not accompanied with deficit in basal NMDA-R activation in 2-hit male mice.

We are now investigating the expression of synaptic plasticity (long term potentiation, LTP) which requires more intense NMDA-R activation, along with other memory functions (object/place discrimination).

**5-HT<sub>6</sub>-R antagonist SB-271046** whatever the dose **increases NMDA-R activation** in all groups. This increase could prevent working memory deficits and possible LTP dysregulation in 2-hit mice.

[1] Da Silva Costa-Aze V et al. Behav Brain Res. 2011. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.03.046.  
[2] Balu DT. Adv Pharmacol. 2013. DOI: 10.1016/b9a.2013.01.006.  
[3] Coyte JT, Balu DT. Adv Pharmacol. 2018. DOI: 10.1016/b9a.2017.10.002  
[4] Ellenbroek BA et al. Schizophr Res. 1998. DOI: 10.1016/S0920-9964(97)00149-7

Annexe 4. Effet du blocage des 5-HT6R sur le modèle 2-hit ([hal-04216519](#))



Efficacy of a selective 5-HT6R antagonist in an innovative 2-hit mouse model of schizophrenia



Caroline Lahogue, Morgane Jobard, Jean-Marie Billard, Valentine Bouet  
COMETE, UMR 1075 INSERM/Université de Caen Normandie

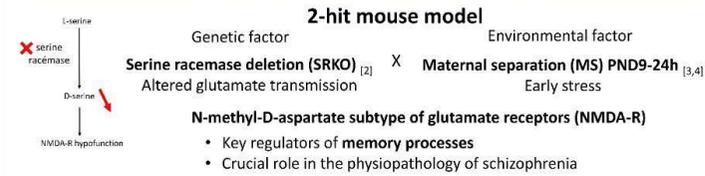
Schizophrenia

- Etiology: still unknown but possibly genetic x environmental factors
- Antipsychotic drugs improve positive symptoms (delirium, hallucination) but not **negative symptoms** (avolition, anhedonia, social withdrawal...) and **cognitive deficits** (memory impairment...)
- ▶ New therapeutic targets need to be tested in animals to improve negative and cognitive symptoms

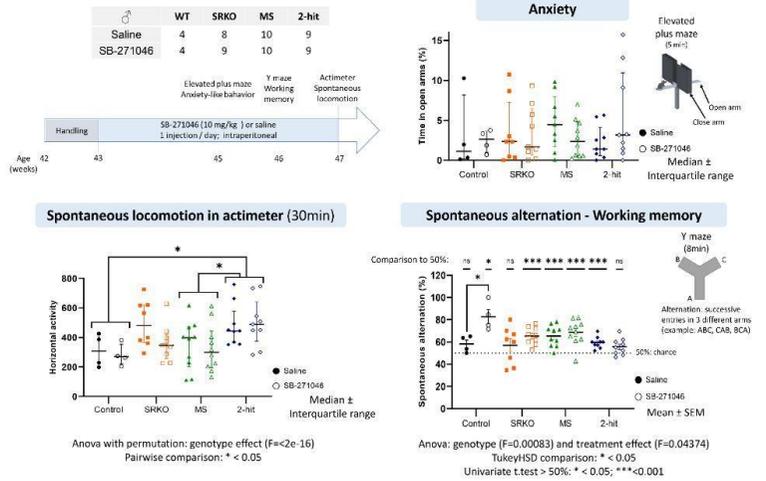
Target: Serotonergic subtype 6 receptors (5-HT6R)

- 5-HT6R expressed in the brain regions involved in schizophrenia such as hippocampus
- Blockade of 5-HT6R reverses memory deficit in aged mice [1]
- **SB-271046** is the most selective 5-HT6R antagonist
- ▶ Blockade of 5-HT6 receptors a promising strategy to improve memory deficits

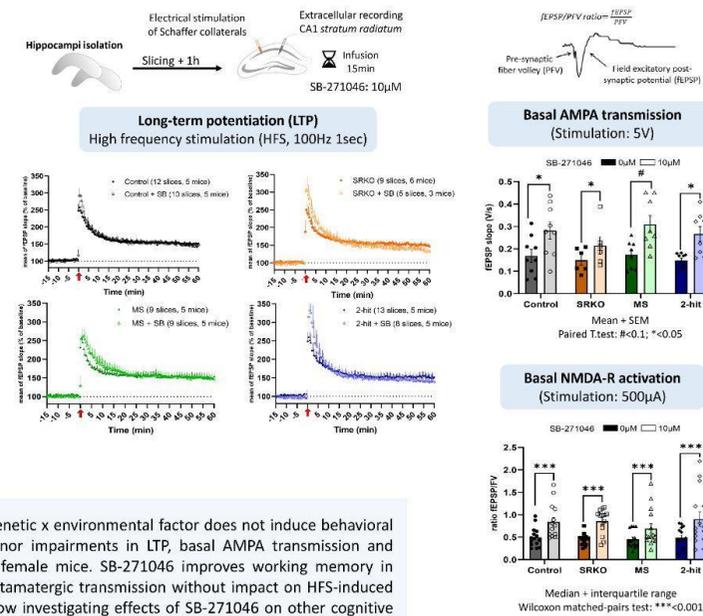
Aim: to characterize the efficacy of pharmacological modulation of 5-HT6R in a new mouse model of schizophrenia



Behavioral study in male mice



Electrophysiological study in 26 – 34 weeks female mice



Take home message

Summary: SB-271046 effects

	Anxiety	Working Memory	Spontaneous activity	AMPA transmission	NMDA-R activation	LTP
Control	-	↗	-	↗	↗	-
SRKO	-	-	-	↗	↗	-
MS	-	-	-	↗	↗	-
2-hit	-	-	-	↗	↗	-

The combination between genetic x environmental factor does not induce behavioral deficits in 2-hit male mice nor impairments in LTP, basal AMPA transmission and NMDA-R activation in 2-hit female mice. SB-271046 improves working memory in male mice and enhances glutamatergic transmission without impact on HFS-induced synaptic plasticity. We are now investigating effects of SB-271046 on other cognitive processes (sociability and sensory gating) as well as on another kind of synaptic plasticity, induced by theta burst stimulation (TBS), which also involves GABAergic system.

[1] Da Silva Costa-Aze V et al. Behav Brain Res. 2011. DOI: 10.1016/j.bbr.2011.03.046.  
[2] Coyne T, Bale DT. Adv Pharmacol. 2018. DOI: 10.1016/bs.apbs.2017.10.002  
[3] Ellenbroek BA et al. Schizophr Res. 1998. DOI: 10.1016/0920-9964(97)00149-7  
[4] Bouvet V et al. Neurosci Lett. 2011. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.11.033.

Annexe 5. Effet du blocage des 5-HT6R sur la plasticité synaptique hippocampique [\(hal-04216532\)](#)

**SEX-DEPENDENT 5-HT6RS EFFECTS ON HIPPOCAMPAL SYNAPTIC ACTIVITY**  
 Caroline Lahogue, Jean-Marie Billard, Thomas Freret, Valentine Bouet  
 UNICAEN, INSERM, COMETE, CYCERON, FHU A<sup>2</sup>MP, CHU Caen, Normandie Université, 14000 Caen FRANCE

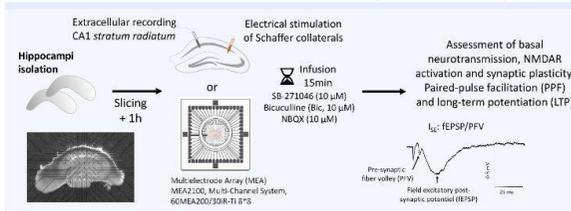
Introduction

- Memory impairments belong to symptoms of schizophrenia which are not alleviated by antipsychotic drugs
  - N-methyl-D-aspartate subtype of glutamate receptors (NMDARs):**
    - Key regulators of memory processes
    - Crucial role in the physiopathology of schizophrenia
  - Serotonergic subtype 6 receptors (5-HT6Rs):**
    - Interesting target to improve current treatment
    - Mainly expressed in brain regions involved in memory processes (Ruat et al., 1993)
    - Blockade of 5-HT6Rs (SB-271046) improve short- and long-term memory** in rodents (Da Silva Costa-Aze et al., 2011, 2012)
- underlying functional mechanisms still need to be established

Aim

To study how the blockade of 5-HTRs (SB-271046) affects synaptic activity and plasticity of CA3/CA1 synapses of hippocampus in ♂ and ♀ mice

Materials and methods

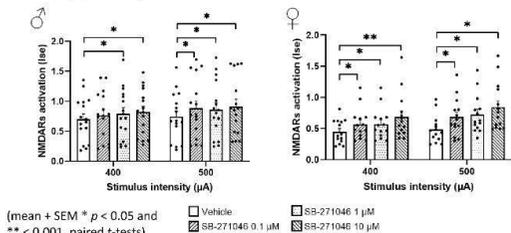


Take home message

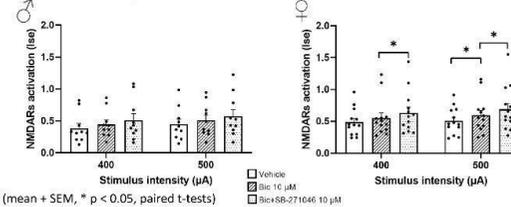
In ♂: 5-HT6Rs indirectly control glutamate transmission through the modulation of the inhibitory tone  
 In ♀: 5-HT6Rs directly act on pyramidal cells through changes in membrane excitability  
 These data could help in initiating new pharmacological strategies to treat sex-dependent cognitive impairments associated those with schizophrenia.

Bromidge et al. *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 202–205, doi:10.1021/jm980532e.  
 Da Silva Costa-Aze, V.; et al. *Psychopharmacology (Berl)*. **2012**, *222*, 99–115, doi:10.1007/s00213-011-2627-3.  
 Da Silva Costa-Aze, V. et al. *Behav. Brain Res.* **2011**, *222*, 134–140, doi:10.1016/j.bbr.2011.03.046.  
 Routledge, C. et al. *Br. J. Pharmacol.* **2000**, *130*, 1606–1612, doi:10.1038/sj.bjp.0703457.  
 Ruat, M. et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1993**, *193*, 268–276.

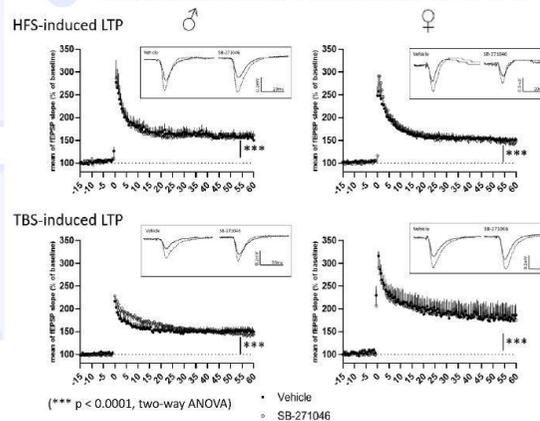
1 SB-271046 increases NMDARs activation in CA1 hippocampal networks in males and females



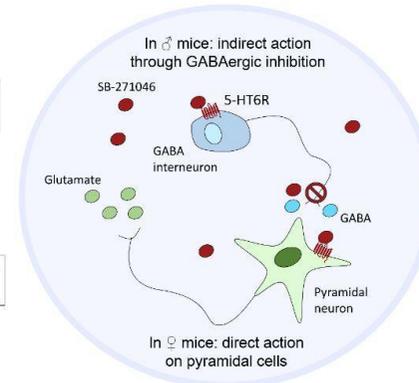
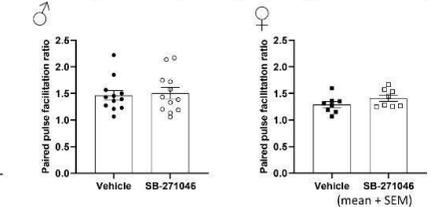
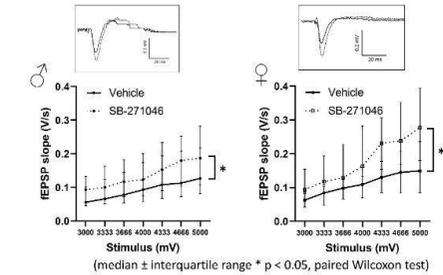
2 In male but not female mice, the potentiating effect of SB-271046 on NMDARs' activation involves GABAergic transmission



4 Long-term potentiation is not altered by SB-271046



3 SB-271046 increases basal transmission without affecting mechanisms underlying presynaptic release of glutamate



# **Abstract**

## Stratégie de traitement visant les récepteurs 5-HT6 dans un modèle animal de schizophrénie innovant

### Résumé

---

La schizophrénie (SCZ) est une maladie mentale multifactorielle qui entraîne des répercussions souvent dramatiques sur la vie personnelle et professionnelle des patients. Si au moins un tiers des patients atteints de SCZ connaît une rémission des symptômes, d'autres les voient persister, voire s'aggraver au fil du temps. Afin d'améliorer les traitements actuels et de tester de nouvelles cibles thérapeutiques de la maladie, une amélioration des modèles animaux est primordiale et doit se rapprocher de son étiologie complexe. Nous avons ici développé un nouveau modèle animal multifactoriel qui associe chez la souris un facteur génétique (1<sup>er</sup> hit, délétion du gène de la sérine racémase) avec un stress environnemental précoce (2<sup>ème</sup> hit, séparation maternelle de 24h au 9<sup>ème</sup> jour de vie). Notre étude comportementale montre que l'interaction des deux facteurs permet de générer des symptômes de type productif ainsi que des déficits cognitifs, présents dans la SCZ. Une étude électrophysiologique *ex-vivo* parallèle ne révèle pas en revanche de physiopathologie spécifique de l'activité fonctionnelle du champ CA1 de l'hippocampe dans ce modèle. Nous avons ensuite testé l'efficacité du blocage des récepteurs à la sérotonine de type 6 (5-HT6R) par un antagoniste sélectif, le SB-271046. Ce blocage induit des effets bénéfiques sur les déficits cognitifs, notamment mnésiques, et améliore les déficits de mémoire de travail et de sociabilité chez les souris 2-hit. L'étude électrophysiologique montre que l'antagonisme des 5-HT6R facilite la neurotransmission glutamatergique par deux mécanismes distincts selon le sexe : une activation indirecte des neurones pyramidaux chez les individus mâles par un mécanisme de désinhibition GABAergique et une activation directe des neurones pyramidaux chez les sujets femelles. Chez les souris 2-hit, seul le mécanisme de désinhibition des neurones pyramidaux induit chez les mâles par le blocage des 5-HT6R est altéré.

Ce travail de thèse montre l'intérêt de développer des modèles multifactoriels de SCZ pour mieux cerner les interactions pouvant exister entre différents facteurs de risque de la maladie. Il montre également des limites pour considérer les 5-HT6R comme une cible thérapeutique dans le traitement de certains déficits associés à la SCZ, mais suggère plutôt son utilité comme traitement complémentaire associé aux neuroleptiques.

**Mot clés :** schizophrénie, modèle animal multifactoriel, sérotonine, mémoire, comportement, électrophysiologie, GABA, glutamate.

### Abstract

---

Schizophrenia (SCZ) is a multifactorial mental disease which has repercussions on patients' personal and professional lives. While at least 1/3 of patients with SCZ present a remission of symptoms, other patients display persistent or even an aggravation of symptoms over time. To improve current treatments by testing new therapeutic targets, animal models need to be improved to get closer to the etiology of SCZ. We have developed a new multifactorial model which combines in mouse a genetic factor (1<sup>st</sup> hit, deletion of the serine racemase gene) with an early environmental stress (2<sup>nd</sup> hit, maternal separation for 24h on postnatal day 9). Our behavioral study showed that the interaction between the two factors in 2-hit mice leads to productive-like symptoms and cognitive deficits, observed in SCZ. However, the *ex-vivo* electrophysiological study reveals no specific pathophysiology of the functional activity of the hippocampal CA1 field in this model. Then, we tested the efficacy of blockade of serotonin subtype 6 receptors (5-HT6R) with a selective antagonist, SB-271046. This blockade induces beneficial effects on cognitive deficits, particularly memory, by improving working memory and sociability deficits in 2-hit mice. Electrophysiological studies show that 5-HT6R antagonism facilitates glutamatergic neurotransmission by two distinct sex-dependent mechanisms: an indirect activation of pyramidal neurons in males *via* a blockade of GABAergic inhibition, and a direct activation of pyramidal neurons in females. In 2-hit mice, only the disinhibition mechanism of pyramidal neurons induced in males by 5-HT6R blockade is altered.

This thesis shows the interest of developing multifactorial models to get closer to the complex etiology of SCZ. It also shows the potential of 5-HT6R to treat several SCZ-related deficits, which are currently untreated, and suggests that it could be a useful adjunct treatment to neuroleptics.

**Key words:** schizophrenia, multifactorial animal model, serotonin, memory, behavior, electrophysiology, GABA, glutamate.