

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2019

THESES 2019 TOU3 2032

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

Aurélie MONTAGNE

**LES ANTAGONISTES DES RECEPTEURS 5-HT₃, DE NOUVEAUX ENJEUX DANS
LES TROUBLES COGNITIFS ?**

Vendredi 5 juillet 2019

Directeur de thèse : M. Laurent MEIJER

JURY

Président : M. Jean-Edouard GAIRIN (Professeur)
1er assesseur : M. Laurent MEIJER (Docteur)
2ème assesseur : Mme. Emilie JOUANJUS (Docteur)
3ème assesseur : M. Anthony LEMARIE (Docteur)

PERSONNEL ENSEIGNANT
de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques de l'Université Paul Sabatier
au 1^{er} janvier 2019

Professeurs Emérites

M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
M. CHAVANT L.	Mycologie
M. MOULIS C.	Pharmacognosie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie
M. SIE P.	Hématologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C. (Doyen)	Bactériologie - Virologie
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BARRE A.	Biologie
Mme BAZIARD G.	Chimie pharmaceutique
Mme BERNARDES-GÉNISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
M. GAIRIN J-E.	Pharmacologie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
Mme MULLER-STAU MONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
M. VERHAEGHE P.	Chimie Thérapeutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitolo-Universitaires		Universitaires	
M. CESTAC P. (*)	Pharmacie Clinique	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique	Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique	M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme ROUZAUD-LABORDE C.	Pharmacie Clinique	Mme BON C.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S. (*)	Biochimie	M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie	M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
		Mme CABOU C.	Physiologie
		Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme CHAPUY-REGAUD S.	Bactériologie - Virologie
		Mme COLACIOS C.	Immunologie
		Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
		M. DELCOURT N.	Biochimie
		Mme DERAEEVE C.	Chimie Thérapeutique
		Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
		Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F.	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
		Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
		Mme LEFEVRE L.	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C.	Pharmacognosie
		M. LEMARIE A.	Biochimie
		M. MARTI G.	Pharmacognosie
		Mme MIREY G. (*)	Toxicologie
		Mme MONFERRAN S.	Biochimie
		M. OLICHON A.	Biochimie
		Mme REYBIER-VUATTOUX K. (*)	Chimie Analytique
		M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
		Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
		Mme VANSTEEELANDT M.	Pharmacognosie
		Mme WHITE-KONING M. (*)	Mathématiques

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitolo-Universitaires		Assistant Associé des Universités	
Mme LARGEAUD L.	Immunologie	Mme MARTINI H	Physiologie
M. MOUMENI A.	Biochimie		
M. METSU D.	Pharmacologie		
Mme PALUDETTO M.N.	Chimie thérapeutique		
M. PAGES A.	Pharmacie Clinique		
Mme SALABERT A.S	Biophysique		

Remerciements

Je souhaite chaleureusement et sincèrement remercier :

Le professeur Jean-Edouard Gairin, de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Au-delà du professeur de faculté, je vous remercie pour tous vos conseils ainsi que nos échanges toujours intéressants, et de m'avoir accompagnée pendant ces années d'études de Pharmacie.

Aux docteurs Emilie Jouanjus et Anthony Lemarié, de me faire l'honneur de faire partie de mon jury de thèse. Je vous remercie pour vos enseignements dispensés tout au long de mes études.

A mon directeur de thèse et président de ManRos Therapeutics Laurent Meijer. Cher Laurent, vous êtes bien plus que mon directeur de thèse. Il est des rencontres qui vous marquent à vie, vous êtes de celles-ci. Pour nos échanges toujours passionnants sur les sciences, sur la vie, je vous remercie sincèrement. Votre confiance et votre enthousiasme, votre bienveillance et votre sagesse, ont été d'une aide précieuse pour avancer en tout point.

A toute l'équipe de ManRos Therapeutics, Sarah, Emmanuel, Jonathan, Mattias, Charlène, Marie-Line, Mikaëlle, pour votre accueil et votre bienveillance, pour m'avoir fait découvrir et adorer cette magnifique région qu'est la Bretagne. Pour tous ces moments partagés avec beaucoup de rire, je vous remercie.

A mes parents, pour votre amour et votre soutien inconditionnels, pour toutes les valeurs que vous m'avez transmises qui me permettent d'être qui je suis aujourd'hui. A mes frères, Thomas et Loïc, que j'aime profondément. Pour la famille que nous formons, pour notre courage et notre ténacité et pour chaque moment partagé qui me sont si précieux, je vous aime.

A Marion, Maud, Marion, Laura, Marie-Lou, Maryam, pour toutes ces années passées à vos côtés. Pour tous ces moments partagés, pour toutes les palettes d'émotions que nous avons traversé pendant toutes ces années, et pour toujours se retrouver avec la même joie, je vous remercie.

Table des matières

Remerciements	5
Table des matières	7
Liste des figures	9
Liste des tableaux	12
Liste des abréviations	13
Introduction	15
Partie 1 : Les antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ : ondansétron, granisétron, tropisétron et palonosétron.	17
1. Introduction	19
1.1. Historique	19
1.2. Présentation et indications des antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ dans la stratégie thérapeutique actuelle	20
2. Le récepteur 5-HT ₃	21
2.1. Historique et définition	21
2.2. Structure	22
2.3. Localisation	23
3. Pharmacodynamie	25
3.1. Propriétés physico-chimiques	25
3.2. Affinité, sélectivité	26
3.3. Mécanisme d'action	28
4. Modèles précliniques	31
4.1. Activité <i>in vitro</i>	31
4.2. Activité <i>in vivo</i>	32
5. Pharmacocinétique	35
5.1. Absorption – Distribution	38
5.2. Métabolisation	39
5.3. Elimination	40
5.4 Insuffisances rénales et hépatiques	41
5.5. Relation dose-réponse	41
6. Tolérance, toxicologie	42
6.1. Tolérance et index thérapeutique	42

6.2. Toxicologie	44
6.3. Sécurité cardiovasculaire	45
Partie 2 : Les antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ , état des lieux précliniques et cliniques dans les troubles cognitifs.	49
1. Evaluation de la cognition <i>in vivo</i>	51
1.1. Le labyrinthe d'eau de Morris.....	51
1.2. L'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y ou en T	54
1.3. Test de la mémoire de reconnaissance de nouvel objet	55
1.4. Test de reconnaissance spatiale d'objet.....	57
2. Effets des antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ dans les troubles cognitifs.....	59
2.1. Etudes <i>in vivo</i> des antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ dans les troubles cognitifs ...	59
2.2. Etudes cliniques	65
2.3. Antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ : troubles cognitifs et maladie d'Alzheimer	65
Partie 3 : Etudes précliniques des effets des antagonistes 5-HT ₃ sur les troubles cognitifs au sein de ManRos Therapeutics	71
1. Présentation de la société ManRos Therapeutics	73
1.1. Présentation et historique	73
1.2. Contexte et missions réalisées.....	73
2. Etude d'une formulation innovante	73
2.1. Formulations transdermiques commercialisées.....	74
2.2. Autres formulations à l'étude	78
3. Etudes précliniques menées à ManRos Therapeutics	80
3.1. Etude de pharmacocinétique et distribution dans le cerveau de l'ondansétron	80
3.2. Etude de l'ondansétron sur des modèles de souris Trisomie 21.....	82
3.3. Etude de l'ondansétron dans un modèle de souris Alzheimer.....	88
3.4. Etude des antagonistes des récepteurs 5-HT ₃ dans un modèle de souris Alzheimer	93
Discussion et conclusion	97
Références.....	101

Liste des figures

Figure 1 : Topologie du récepteur 5-HT₃, avec les domaines extracellulaire, transmembranaire et le petit domaine intracellulaire.

Figure 2 : Structure schématique du récepteur 5-HT₃.

Figure 3 : Structures chimiques des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

Figure 4 : Schéma des mécanismes impliqués dans le vomissement.

Figure 5 : Antagonisme de la dépolarisation induite par la sérotonine par GR38032F (ondansétron) sur nerf vague de rat (a) et ganglion cervical supérieur (b).

Figure 6 : Antagonisme par GR38032F (ondansétron) de la dépolarisation induite par la sérotonine sur nerf vague isolé de lapin.

Figure 7 : Etude pharmacocinétique de l'ondansétron IV et oral chez le volontaire sain.

Figure 8 : Voies métaboliques de l'ondansétron.

Figure 9 : Voies métaboliques du palonosétron.

Figure 10 : Représentation schématique du labyrinthe d'eau de Morris.

Figure 11 : Photographie d'une souris explorant le labyrinthe en Y.

Figure 12 : Schéma du labyrinthe en T.

Figure 13 : Les trois configurations d'arène de test pour la reconnaissance de nouvel objet.

Figure 14 : Test de reconnaissance spatiale.

Figure 15 : Protocole de test de reconnaissance spatiale.

Figure 16 : Effet de l'ondansétron sur la performance des rats traités par l'atropine en labyrinthe de d'eau de Morris.

Figure 17 : Effets de l'ondansétron (0.1 mg/kg) sur des rats âgés déficients et non déficient en labyrinthe d'eau de Morris.

Figure 18 : Effets de l'injection intrahippocampique de granisétron sur (A) les temps d'évasion, (B) les distances parcourues et (C) les vitesses de nage dans la tâche en labyrinthe d'eau de Morris.

Figure 19 : Fonctions cognitives au cours de la vie chez les sujets sains, présentant des déficits cognitifs légers, et chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Figure 20 : Graphiques de discrimination et d'amélioration de la mémoire par administration de tropisetron chez les rats Sprague-Dawley effectuant la tâche de reconnaissance d'objet.

Figure 21 : Graphiques de discrimination et d'amélioration de la mémoire par administration de tropisetron chez les rats Fischer 344 effectuant la tâche de reconnaissance d'objet.

Figure 22 : Patch transdermique de granisetron, Sancuso[®], Kyowa Kirin.

Figure 23 : Etude pharmacocinétique illustrant la biodisponibilité relative de la formulation de granisetron orale (2 mg) et du patch transdermique.

Figure 24 : Mécanisme d'action de la technologie brevetée Biochronomer[®].

Figure 25 : Mécanisme de libération du granisetron, Sustol[®].

Figure 26 : Concentrations plasmatiques de granisetron suivant l'administration d'un patch transdermique ou d'une injection sous-cutanée (Sustol[®]).

Figure 27 : Evolution de la concentration plasmatique d'ondansétron (MRT-11) après administration par voie orale (PO) à une dose de 2 et 5 mg/kg.

Figure 28 : Evolution de la quantité d'ondansétron (MRT11) distribuée dans le cerveau après administration par voie orale (PO) après administration d'une dose de 2 et 5 mg/kg.

Figure 29 : Alternance spontanée en labyrinthe en Y chez des souris sauvages (WT) et présentant un syndrome de trisomie 21 (Dp(16)Yey) avant et après traitement par ondansétron (MRT10-110).

Figure 30 : Exploration d'objet lors du test de reconnaissance spatiale d'objets (SOR) chez les souris sauvages (WT) et Dp(16)Yey traitées ou non par ondansétron (MRT10-110).

Figure 31 : Exploration du nouvel objet lors du test de reconnaissance d'objets (NOR) chez les souris sauvages (WT) et Dp(16)Yey traitées ou non par ondansétron (MRT10-110).

Figure 32 : Exploration d'objet lors du test de reconnaissance spatiale d'objets (SOR) chez les souris sauvages (WT) et Tg(Dyrk1a) traitées ou non par ondansétron (MRT10-110).

Figure 33 : Exploration d'objet lors du test de reconnaissance de nouvel objet (NOR) chez les souris sauvages (WT) et Tg(Dyrk1a) traitées ou non par ondansétron (MRT10-110).

Figure 34 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) sur la mémoire spatiale de travail en labyrinthe en Y.

Figure 35 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) à 1 mg/kg chez les souris déficientes A β ₂₅₋₃₅ par test de reconnaissance de nouvel objet (NOR).

Figure 36 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) à 3 mg/kg sur l'alternance spontanée en labyrinthe en Y chez les souris A β ₂₅₋₃₅.

Figure 37 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) à 3 mg/kg chez les souris déficientes $A\beta_{25-35}$ par test de reconnaissance de nouvel objet (NOR).

Figure 38 : Effet du granisétron (MRTO-11G), ondansétron (MRTO-11O), palonosétron (MRTO-11P) et tropisétron (MRTO-11T) sur l'alternance spontanée en labyrinthe en Y chez les souris $A\beta_{25-35}$.

Figure 39 : Effet du granisétron (MRTO-11G), ondansétron (MRTO-11O), palonosétron (MRTO-11P) et tropisétron (MRTO-11T) sur les déficiences cognitives en test de reconnaissance d'objet NOR chez les souris $A\beta_{25-35}$.

Liste des tableaux

Table 1 : Nom chimique, nombre CAS et formule empirique des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

Table 2 : Profil d'affinité des antagonistes aux récepteurs 5-HT₃.

Table 3 : Données pharmacocinétiques des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

Table 4 : Profil des effets indésirables des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

Table 5 : Résultats des études de toxicité aiguës (4 semaines) et à long terme (26 semaines) pour le tropisétron chez le rat et le chien.

Table 6 : Aperçu des différentes formulations d'antagonistes des récepteurs 5-HT₃ à l'étude.

Table 7 : Paramètres pharmacocinétiques après administration d'ondansétron 5 et 2 mg/kg.

Table 8 : Distribution dans le cerveau après administration d'ondansétron 5 et 2 mg/kg.

Liste des abréviations

5-HT : 5-hydroxytryptamine
IV : intraveineux (se)
IM : intramusculaire
CINV : nausées et vomissements induits par chimiothérapie
RINV : nausées et vomissements induits par radiothérapie
PONV : nausées et vomissements post-opératoires
FDA : Food and Drug Administration
GABA : acide gamma-aminobutyrique
ECD : domaine extracellulaire
TMD : domaine transmembranaire
ICD : domaine intracellulaire
EC₅₀ : concentration efficace 50
ED₅₀ : dose efficace 50
LSD : acide lysergique diéthylamide
CTZ : zone de déclenchement des chémorécepteurs
NTEL : dose sans effet toxique
ECG : électrocardiogramme
CI₅₀ : concentration inhibitrice 50.
EMA : European Medicines Agency
ICH : International Conference on Harmonisation
ICV : intracérébroventriculaire
MWM : Morris Water Maze, labyrinthe d'eau de Morris
NOR : Novel Object Recognition
IP : intrapéritonéal
WT : wild type, sauvage
SNC : Système Nerveux Central
VO : voie orale
AUC : aire sous la courbe
CYP450 : cytochrome P450
APP : protéine précurseur de l'amyloïde
A β : amyloïde bêta
iNOS : oxyde nitrique synthase inductible
PO : *per os*
MLA : méthyl-lycaconitine
SC : sous-cutané
Ach : acétylcholine
EEG : électroencéphalogramme
Vd : volume de distribution
Cl : clairance

Introduction

Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃, récepteurs sérotoninergiques, sont des médicaments bien connus et établis dans l'arsenal thérapeutique français et mondial. L'avènement de ces antagonistes dans les années 1990 a été une révolution dans le traitement des nausées et vomissements induits par chimiothérapie et sont devenus traitement de référence dans cette indication. Ce sont des médicaments efficaces, sélectifs avec très peu d'effets indésirables. D'autre part, il est avéré que le système sérotoninergique, impliquant donc les récepteurs 5-HT₃, joue un rôle majeur dans la cognition en interagissant avec le système cholinergique dans le cerveau.

ManRos Therapeutics, petite entreprise bretonne, travaille notamment dans la recherche pour la maladie d'Alzheimer et la Trisomie 21. Des résultats préliminaires qui se sont avérés positifs dans la restauration de troubles cognitifs de modèles murins après administration d'ondansétron ont fait naître un intérêt particulier pour les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ et leur implication dans la restauration de la cognition. C'est dans ce contexte que j'ai intégré l'équipe de ManRos Therapeutics.

La problématique autour de laquelle s'articule cette thèse d'exercice est la question de l'existence d'un enjeu thérapeutique des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans les troubles cognitifs, et particulièrement dans des pathologies où ces derniers sont fortement impliqués.

C'est en premier lieu que nous avons étudié quatre antagonistes des récepteurs 5-HT₃, à savoir l'ondansétron, le granisétron, le tropisétron et le palonsétron, choisis selon certains critères, notamment réglementaires, au sein de ManRos Therapeutics. Nous tenterons de mettre en lumière leurs similitudes mais également ce qui les distingue en termes de pharmacodynamie, pharmacocinétique, toxicité. Nous aborderons en suivant dans quelles mesures les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ peuvent être une piste thérapeutique les déficiences cognitives. Enfin, les études précliniques réalisées au sein de ManRos Therapeutics permettront de mettre en perspective toutes ces données. Cependant, les troubles cognitifs étant une notion très large et impliqués dans de nombreuses pathologies, nous nous sommes focalisés sur les troubles cognitifs et la mémoire ainsi que ces troubles associés à des pathologies comme la maladie d'Alzheimer et la Trisomie 21.

**Partie 1 : Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ :
ondansétron, granisétron, tropisétron et
palonosétron.**

1. Introduction

1.1. Historique

Les réussites dans la chimiothérapie du cancer ont été remarquables depuis 1942, lorsque le Dr Lindskog, à Yale, a administré de la moutarde azotée à un patient atteint d'un lymphosarcome très avancé, inaugurant ainsi l'ère moderne du traitement systémique des maladies néoplasiques [1]. La thérapie oncologique moderne est majoritairement basée sur l'administration d'agents cytotoxiques, dont beaucoup d'entre eux sont associés à une forte incidence de vomissements. Le problème est exacerbé par l'administration de combinaisons de chimiothérapies dont le potentiel émétique est additionnel [2]. Du point de vue du patient, les vomissements et les nausées comptent parmi les effets indésirables les plus pénibles de la chimiothérapie anticancéreuse [1]. Ils sont un sérieux problème qui résultent en un inconfort sévère, un recours augmenté des soins hospitaliers, des perturbations des fluides et électrolytes, une réduction de la compliance, et même un refus de thérapies potentiellement curatives [2]. En fait, la fréquence et la gravité des vomissements induits par les médicaments cytotoxiques rendraient ces agents inutiles sur le plan clinique s'ils étaient destinés à d'autres fins. Seule leur efficacité et les conséquences potentiellement mortelles du cancer rendent ces médicaments acceptables pour une utilisation chez l'humain [1].

Jusqu'aux années 1960, le traitement des vomissements induits par des médicaments cytotoxiques était largement empirique, et ce n'est qu'en 1963 que le Dr Moertel et ses collaborateurs ont présenté un premier essai contrôlé par placebo pour évaluer cinq antiémétiques. Le thiopropazate et la prochlorpérazine ont montré un avantage thérapeutique statistiquement significatif par rapport au placebo. Lors d'un essai ultérieur, le même groupe a constaté que la thiéthylpérazine avait une activité antiémétique significative. Au milieu et à la fin des années 1970, le vomissement a été reconnu comme un problème critique dans la chimiothérapie du cancer et a conduit le Dr Whitehead à lancer « un appel à tous les groupes coopératifs de chimiothérapie pour qu'ils entreprennent une recherche sur une thérapie antiémétique efficace comme partie intégrante des essais chimiothérapeutiques actuels et futurs ». Ce plaidoyer, ainsi qu'une prise de conscience croissante des complications médicales graves des vomissements induits par la chimiothérapie, a entraîné une augmentation exponentielle de la concentration de la recherche antiémétique dans les années 1980 [1]. Des avancées ont permis la mise au point d'agents tels que les antihistamines (diphenhydramine), phénothiazines (prométhazine, prochlorpérazine), benzodiazépines (lorazépam), et les corticostéroïdes (dexaméthasone, méthylprednisolone) [3]. Puis, l'étude pionnière du Dr Gralla a introduit le métoclopramide à dose élevée [1]. Le métoclopramide bloque les récepteurs dopaminergique D2 à faible dose et antagonise le récepteur 5-HT₃ à haute dose [4]. Cependant, des sédations et des symptômes extrapyramidaux ont été des facteurs limitants à son utilisation [2].

Sur la base des structures de la sérotonine, du métoclopramide et de la cocaïne, les premiers antagonistes sélectifs et compétitifs de haute affinité ont été développés pour ce récepteur qui a été rebaptisé en 1986 « récepteur 5-HT₃ » [5]. En effet, le récepteur à la sérotonine 5-HT₃, autrefois appelé « récepteur M », a été premièrement découvert dans l'intestin par Gaddum et Picarelli en 1957 [2, 6, 7]. Cela a résulté en une amélioration significative de la gestion des nausées et vomissements [8]. Le MDL 72222 ou bémésétron et le ICS 205-930 ou tropisétron, ont été les premiers développés et leurs propriétés antiémétiques ont été évaluées [9]. L'ondansétron, synthétisé en 1983 [10] a été le premier antagoniste sélectif du récepteur 5-HT₃ à être mis sur le marché, ouvrant la voie aux autres antagonistes tels que le granisétron, le tropisétron, ainsi que le palonosétron qui constitue la seconde génération de ces antagonistes.

1.2. Présentation et indications des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans la stratégie thérapeutique actuelle

L'ondansétron, le granisétron et le tropisétron font partis des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ de première génération. Ils sont indiqués dans la prévention et le traitement des nausées et vomissements induits par chimiothérapie (CINV), et également dans les nausées et vomissements induits par radiothérapie (RINV) et, dans certains pays, dans les nausées et vomissements post-opératoires (PONV) [11, 12, 13]. Le premier antagoniste des récepteurs 5-HT₃ à rejoindre le marché est l'ondansétron, approuvé par la FDA en 1991 [7, 14]. Le granisétron a été mis sur le marché aux Etats-Unis en 1994, suivi du tropisétron en 1995 [14]. Ils sont disponibles pour une administration intraveineuse (IV), intramusculaire (IM), ou orale sous forme de comprimé, solution orale, comprimé orodispersible, et pour administration rectale sous forme de suppositoire [15].

Le palonosétron, quant à lui, représente la seconde génération d'antagonistes des récepteurs 5-HT₃ [3, 16]. En juillet 2003, la FDA a approuvé le palonosétron hydrochloride injectable pour le traitement des nausées et vomissements induits par chimiothérapie (CINV) [3]. Le palonosétron a une plus forte affinité pour les récepteurs 5-HT₃ et ainsi bloque sélectivement la sérotonine de la liaison à ces récepteurs dans le système nerveux périphérique et central. Le palonosétron est indiqué dans la prévention des nausées et vomissements aigus et retardés, associés à une chimiothérapie initiale ou répétée modérément à hautement émétisante [3, 16]. Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ de première génération ne sont pas aussi efficaces contre les vomissements retardés qu'ils ne le sont contre les CINV aigus. En revanche, le palonosétron a une efficacité prolongée dans le contrôle des CINV retardés comparativement aux antagonistes des récepteurs 5-HT₃ de première génération [16, 17].

L'administration prophylactique d'antiémétiques est une routine chez les patients recevant une chimiothérapie et/ou radiothérapie moyennement à hautement émétisante,

avec des antagonistes des récepteurs 5HT₃ qui constituent aujourd'hui le « gold standard » antiémétique dans ces circonstances [11].

2. Le récepteur 5-HT₃

2.1. Historique et définition

Le récepteur 5-HT₃ est un canal ionique à ligand sélectif de cations, le plus étroitement apparenté aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nACh), et il est structuellement et fonctionnellement distinct des six autres classes de récepteurs sérotoninergiques dont les actions sont médiées par les protéines G [9, 18]. La 5-hydroxytryptamine (5-HT, sérotonine) a été premièrement décrite en tant qu'entéramine dans l'intestin en 1937. D'après son activité vasoconstrictrice puissante, elle a été nommée sérotonine en 1948. La sérotonine exerce une variété de fonctions physiologiques, pas seulement dans le système nerveux central ni dans le système nerveux périphérique, mais aussi dans le tractus gastrointestinal, le système cardiovasculaire et immunitaire [19]. La proposition d'un récepteur spécifique pour ce composé a été soulevée pour la première fois dans la littérature en 1953, lorsque Rocha e Silva et al. [20] ont remarqué que la sérotonine agissait sur l'iléon de cobaye et que ses effets pouvaient être bloqués par la cocaïne à des concentrations micromolaires [9, 19]. À peu près au même moment, Gaddum [21] a proposé que les récepteurs 5-HT agissent sur des récepteurs spécifiques, dont deux types : un dans les muscles lisses, inhibé par le LSD (acide lysergique diéthylamide), et un autre dans le système nerveux, non inhibé par le LSD. Cependant, la découverte classique du récepteur 5-HT₃ est généralement liée aux travaux de Gaddum et Picarelli en 1957 [22], qui ont défini deux classes de récepteurs à la sérotonine dans l'iléon : les « récepteurs M », qui étaient situés principalement dans le système nerveux et inhibés par la morphine, l'atropine et la cocaïne, et les « récepteurs D », qui étaient situés principalement dans le muscle et bloqués par la dibenzylène. Lorsque les récepteurs de la sérotonine ont été reclassés en 1986 [23], le récepteur M est devenu le récepteur 5-HT₃ et le récepteur D le récepteur 5-HT₂. Ce ne sont que deux des sept familles de récepteurs 5-HT actuellement connues, dont la plupart ont une gamme de sous-types, en plus des variantes d'épissage et des récepteurs post-traductionnellement modifiés, créant ainsi une des plus grandes familles de récepteurs de neurotransmetteurs [2, 6, 7, 9, 19, 23]. La 5-hydroxytryptamine ou sérotonine est un neurotransmetteur monoaminergique qui module de nombreuses fonctions neuronales et est impliquée dans l'étiologie de nombreuses maladies. La sérotonine peut jouer un rôle particulièrement important dans les maladies mentales, comme la dépression, l'anxiété, la schizophrénie, les troubles de l'alimentation, le trouble obsessionnel-compulsif, les troubles paniques et les migraines. En termes de fonctions physiologiques, la sérotonine aide à moduler la contraction et la relaxation des muscles lisses des voies respiratoires et gastro-intestinales et des vaisseaux sanguins, la formation du clou plaquettaire pendant l'hémostase, la provocation de la douleur, l'induction des vomissements, la précipitation des sautes d'humeur et l'induction du sommeil. La sérotonine produit ses effets physiologiques en interagissant avec divers sous-types de récepteurs 5-HT

[24]. Il y a 7 classes de récepteurs 5-HT, de 5-HT₁ à 5-HT₇ [18, 24, 25]. Le récepteur 5-HT₃ est phylogénétiquement beaucoup plus ancien que les autres récepteurs de la sérotonine, qui se sont tous développés à partir d'un seul récepteur 5-HT primordial [5]. Tous sont des récepteurs couplés aux protéines G à l'exception du récepteur 5-HT₃. Le récepteur 5-HT₃ est un canal ionique à ligand sélectif de cations. Il appartient à la superfamille des récepteurs à boucle cystéine, responsables de la neurotransmission synaptique rapide dans le système nerveux central et périphérique. Cette famille inclut également les récepteurs nicotiniques à acétylcholine, les récepteurs acide gamma-aminobutyrique A (GABA-A) et les récepteurs à la glycine [18].

2.2. Structure

Le récepteur 5-HT₃ est un assemblage pentamérique de cinq sous-unités identiques ou non, qui entourent un pore central perméable aux cations Na⁺, Ca²⁺, K⁺ [5, 9, 18, 19]. Chaque sous-unité comprend un grand domaine extracellulaire (ECD) qui forme le site de liaison du ligand, un domaine transmembranaire (TMD) composé de quatre hélices α chevauchantes (M1-M4) qui permettent aux ions de traverser la membrane, et un domaine intracellulaire (ICD) formé par la grande boucle intracellulaire M3-M4, qui est responsable de la modulation du récepteur, et qui contrôle les ouvertures qui influencent la conductance des ions (figure 1). Les sites de liaison orthostériques sont situés dans le domaine extracellulaire et sont formés de boucles d'acides aminés qui convergent à l'interface des sous-unités adjacentes. Les modulateurs allostériques affectent les fonctions du récepteur 5-HT₃ en modifiant la sensibilité de l'agoniste (EC₅₀), l'efficacité de l'agoniste (réponse maximale), et la cinétique du canal. Les modulateurs allostériques à coopération positive agissent en facilitant l'ouverture du canal. Ils se lient dans le domaine extracellulaire et transmembranaire à des sites distincts des sites de liaison orthostériques (figure 2) [9, 18].

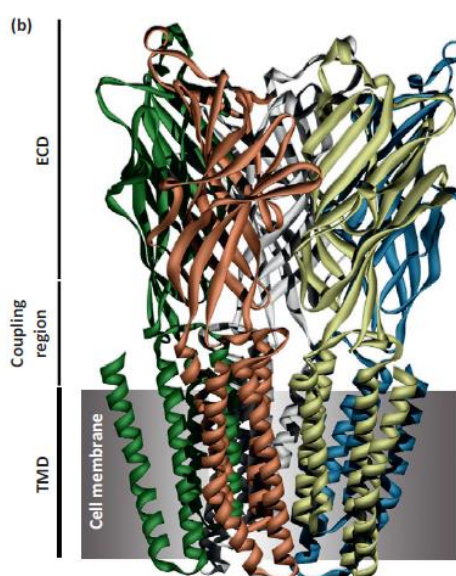


Figure 1 : Topologie du récepteur 5-HT₃, avec les domaines extracellulaire, transmembranaire et le petit domaine intracellulaire [18].

Cinq sous-unités distinctes du récepteur 5-HT_{3(A-E)} ont été identifiées jusqu'à présent, bien que le répertoire soit augmenté par un certain nombre d'isoformes différentes. Il existe, par exemple, une forme longue et courte de la sous-unité 5-HT_{3A} humaine qui diffère par 32 acides aminés, trois variantes traductionnelles de la sous-unité 5-HT_{3B} humaine et cinq isoformes de la sous-unité 5-HT_{3E}. La stœchiométrie des récepteurs hétéromères n'est toujours pas claire, bien qu'il ait été établi que seules les sous-unités 5-HT_{3A} peuvent former des récepteurs 5-HT₃ homopentamériques fonctionnels, et la présence d'au moins une sous-unité 5-HT_{3A} semble être obligatoire dans les récepteurs hétéromères. Le site de liaison aux agonistes se trouve à l'interface de deux sous-unités adjacentes dans le domaine extracellulaire N-terminal et est formé de trois boucles (A-C) à partir d'une sous-unité (principale) et de trois feuillets β (appelés boucles D-F) de la sous-unité adjacente ou complémentaire, comme dans les autres récepteurs de boucle cystéine (figure 2) [9].

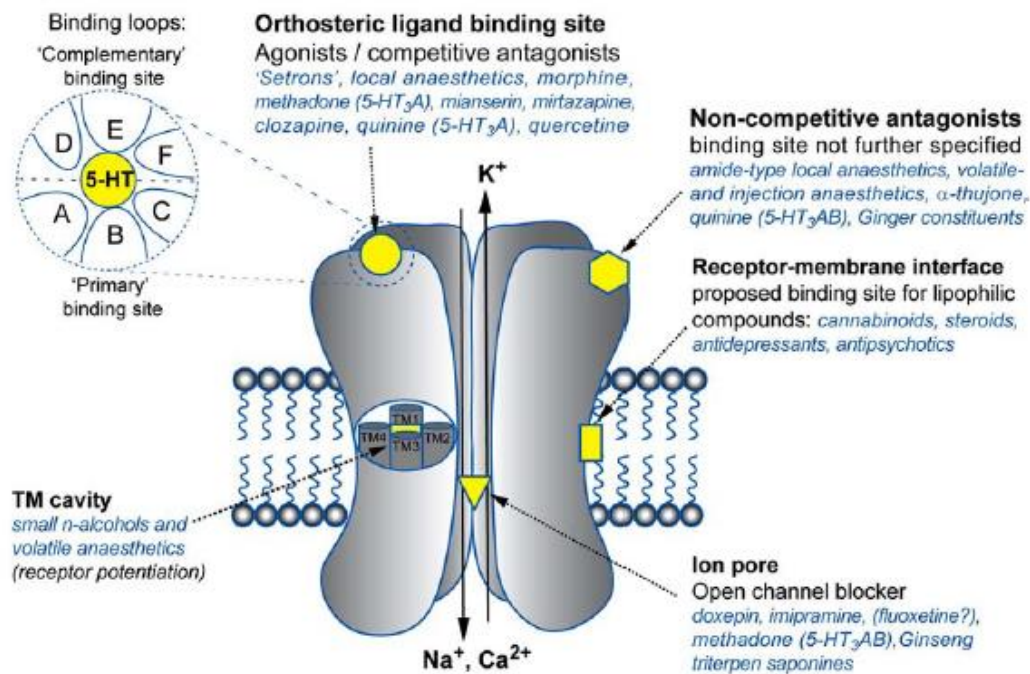


Figure 2 : Structure schématique du récepteur 5-HT₃. Sont indiqués par des flèches les sites de liaison des ligands orthostériques et les ligands allostériques et modulateurs positifs [19].

2.3. Localisation

Comme l'ont démontré des études *in vitro* chez l'animal, les récepteurs 5-HT₃ sont situés à la fois en périphérique et en central. Les récepteurs 5-HT₃ ont été identifiés dans des modèles tissulaires périphériques isolés tels que le nerf vague de rat [26], l'iléon de cobaye [27] et le cœur de lapin [4, 28]. Des études utilisant des ligands sélectifs 5HT₃ radiomarqués tels que GR65630 ont également identifié des sites de liaison 5-HT₃ dans les zones corticales et limbiques de diverses espèces animales [4, 7]. Ces études ont également été menées chez l'Homme, notamment dans le cerveau humain post-mortem [4, 29].

Chez l'humain, les récepteurs 5-HT₃ sont principalement situés au niveau neuronal et sont présents en forte densité dans le système nerveux central et périphérique [25, 30]. Des études chez l'Homme ont révélé une distribution hétérogène dans le cerveau et dans le tronc cérébral. Dans le tronc cérébral, cette distribution comprend le noyau du tractus solitaire [4, 19, 24, 25], la région post-trema du bulbe rachidien [4, 12, 19, 30] où se situe la zone de déclenchement des chemorécepteurs du vomissement ou CTZ, c'est-à-dire le centre du vomissement, [4, 12, 24, 25] ainsi que le noyau spinal du nerf trijumeau [19, 24]. Dans le cerveau, les zones où les récepteurs 5-HT₃ sont retrouvés en forte densité sont l'hippocampe, les amygdales [4, 19, 24], le nucleus accumbens, le putamen et le noyau caudé, ces deux derniers formant le striatum. Dans une moindre mesure, les régions corticales sont impliquées avec un faible niveau de liaison spécifique [4, 19, 24, 25, 31].

Les récepteurs 5-HT₃ exprimés dans le système nerveux périphérique et notamment au niveau des afférences vagales du cœur et du tractus gastro-intestinal sont également d'importance physiologique. Des études pharmacologiques chez l'animal ont révélé que leur activation médiaient le réflexe de Bezold-Jarisch et jouaient un rôle central dans l'initiation du réflexe vomitif [19]. Le nerf vague joue un rôle essentiel dans l'initiation du réflexe vomitif [30]. Les récepteurs 5-HT₃ sont présents sur les cellules entérochromaffines de l'intestin grêle qui libèrent de la sérotonine en réponse à de nombreux traitements chimiothérapeutiques [12, 24, 25]. La sérotonine stimule les afférences vagales (*via* les récepteurs 5-HT₃), puis initie le réflexe vomitif. Il n'est donc pas surprenant que les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ jouent un rôle si essentiel dans la lutte contre le vomissement [12]. Les récepteurs sont aussi présents sur les nerfs viscéraux, autonomes et sensoriels, ainsi que les neurones pré et post-ganglionnaires [24, 25].

La localisation préférentielle des récepteurs 5-HT₃ est compatible avec son rôle physiologique [12]. L'expression de ces récepteurs a été confirmée dans des régions jouant un rôle dans l'intégration du réflexe vomitif, nausée et vomissement, le traitement de la douleur, le système de la récompense ainsi que le contrôle de la cognition et de l'anxiété [19, 25, 30]. Le récepteur 5-HT₃ est lié à plusieurs processus physiologiques et pathologiques à médiation sérotoninergique. Ces processus comprennent les réflexes vasomoteurs, le contrôle de la fonction gastro-intestinale, les mécanismes de la douleur, la régulation cardiovasculaire, la fonction neuronale, le comportement et le fonctionnement limbo-cortical [24, 25]. De plus, les récepteurs 5-HT₃ sont liés à plusieurs autres systèmes de neurotransmetteurs dont la noradrénaline, l'acétylcholine, la cholécystokinine, l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), la glycine, la dopamine et le glutamate, en plus de la sérotonine [12, 19, 24, 25].

3. Pharmacodynamie

3.1. Propriétés physico-chimiques

L'ondansétron hydrochloride dihydrate (GR 38032F) (figure 3), antagoniste des récepteurs 5-HT₃ de première génération est un composé carbazole [5, 7, 8, 15, 32]. Sa formule empirique est C₁₈H₁₉N₃O.HCl.2H₂O, avec un poids moléculaire de 365,9 (table 1). C'est une base faible [15, 33], lipophile (pKa = 7,4, logD = 2,28 à pH 7,4) [10, 15] avec une solubilité réduite dans les solutions aqueuses [15]. Il est sous forme racémique [8, 32], les isomères R et S étant équipotents [7].

Le granisétron (BRL 43694) (figure 3), antagoniste compétitif de première génération, est un composé indazole [4, 5, 8, 32]. Il a pour nom chimique endo-*N*-(9-méthyl-9-azabicyclo[3.3.1]non-3-yl)-1-méthyl-1*H*-indazole-3-carboxamide hydrochloride (table 1), avec un poids moléculaire de 348,9 (312,4 seul). La formule empirique du granisétron est C₁₈H₂₄N₄O.HCl [12, 13].

Le tropisétron (figure 3) est un antagoniste compétitif du récepteur 5-HT₃ de première génération. C'est un composé indole (table 1) [5, 8, 32, 34].

Contrairement aux autres antagonistes de première génération, qui ressemblent structurellement à la sérotonine, basée sur une structure indole substituée en 3, le palonosétron possède un système tricyclique unique lié à une fraction quinuclidine et contient deux centres chiraux (figure 3) [16, 35]. Le palonosétron est une isoquinolone hydrochloride, de formule empirique C₁₉H₂₄N₂O.HCl (table 1), et de masse moléculaire de 332,87 [17] sous forme d'un seul stéréoisomère et est très soluble dans l'eau [17, 36]. Le palonosétron est un antagoniste allostérique du récepteur 5HT₃ avec une coopérativité positive [16, 35]. Il interagit à des sites différents ou additionnels des ligands orthostériques du récepteur 5HT₃. L'antagonisme se fait par une création d'un changement de conformation du récepteur inhibant indirectement la liaison de la sérotonine. Le palonosétron pourrait causer d'après des études *in vitro* une internalisation du récepteur, amenant à une inhibition plus longue de ce dernier [16, 35].

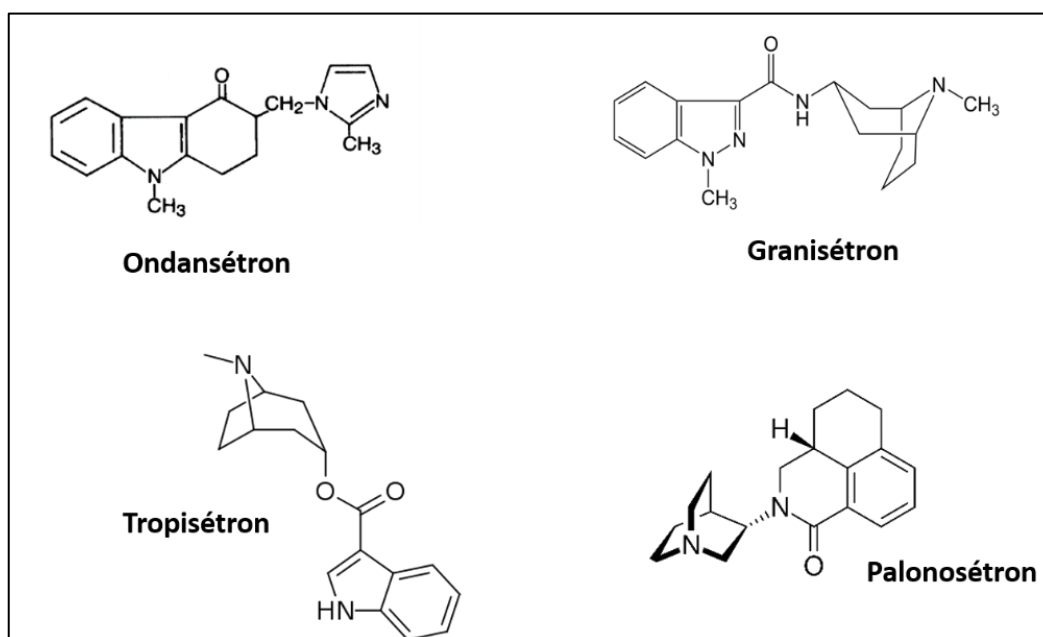


Figure 3 : Structures chimiques des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

	Ondansétron (GR 38032F)	Granisétron (BRL 43694)	Tropisétron (ICS 205-930)	Palonosétron (RS-25259-197)
Nombre CAS	99614-02-5	109889-09-0	89565-68-4	135729-56-5
Nom IUPAC	9-methyl-3-[(2-methyl-1H-imidazol-1-yl)methyl]-2,3,4,9-tetrahydro-1H-carbazol-4-one	1-methyl-N-[(1R,3r,5S)-9-methyl-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-yl]-1H-indazole-3-carboxamide	(1R,3R,5S)-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-yl 1H-indole-3-carboxylate	(5S)-3-[(3S)-1-azabicyclo[2.2.2]octan-3-yl]-3-azatricyclo[7.3.1.0 ^{5,13}]trideca-1(12),9(13),10-trien-2-one
Formule brute	C ₁₈ H ₁₉ N ₃ O	C ₁₈ H ₂₄ N ₄ O	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₂	C ₁₉ H ₂₄ N ₂ O

Table 1 : Nom chimique, nombre CAS et formule empirique des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

3.2. Affinité, sélectivité

Les différences de structure de ces antagonistes peuvent contribuer aux différences de sélectivité et d'affinité de liaison au récepteur 5-HT₃. Malgré ces différences, les données *in vitro* démontrent que les antagonistes de première génération à savoir l'ondansétron, le granisétron et le tropisétron se lient au récepteur 5-HT₃ de manière compétitive et sélective, [8] et sont tous trois puissants (granisétron > tropisétron > ondansétron). Des différences mineures existent cependant dans les profils d'activité [5].

L'ondansétron agit en tant qu'antagoniste compétitif des récepteurs 5-HT₃ et peut être facilement déplacé par des hautes concentrations de sérotonine [5, 15]. L'ondansétron

présente une forte affinité pour le récepteur 5-HT₃ avec une constante de dissociation pKi de 8,4 sur des cellules de souris (neuroblastome) et de rat (hybridome de gliome) (table 2) [36, 37]. Les isomères R et S se sont révélés équipotents sur le nerf vague de rat, bien que l'isomère S a des effets plus prononcés sur le cœur de l'animal. L'ondansétron montre une activité appréciable (pKi > 5,3) pour les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{1C}, α_1 -adrénergique et les récepteurs opioïdes μ (table 2). Cette liaison non spécifique représente 20% environ de la liaison totale de l'ondansétron [5, 11, 13, 15, 32]. Il a également une faible affinité pour les sites centraux de liaison à la dopamine [7]. L'ondansétron est donc l'antagoniste le moins sélectif [5, 8]. Il a été démontré l'existence d'une relation linéaire entre l'occupation moyenne des récepteurs et l'inhibition complète du vomissement dans les CINV [15]. Tel que calculé à partir des valeurs de pA₂ ou de pK_B, l'ondansétron est 69 à 126 fois plus puissant que le métoclopramide aux récepteurs périphériques 5-HT₃ [7].

Le granisétron se lie aux récepteurs 5-HT₃ de manière irréversible, avec une forte affinité avec un pKi de 8,9 sur cellules de souris (neuroblastome) et de rat (hybridome de gliome) (table 2) [36, 38], et présente notamment une très haute affinité pour les récepteurs 5-HT₃ périphériques [11]. Des études de liaison de radioligands ont montré que le granisétron est hautement sélectif dans sa capacité à se lier au récepteur 5-HT₃, avec une constante de liaison Ki de 0,26 nM dans du tissu cortical de rat [11, 13]. Ces résultats montrent que le granisétron a une affinité de 4 000 à 40 000 fois plus importante pour le récepteur 5-HT₃ que pour les autres types de récepteurs étudiés. Ces données ont été confirmées dans une autre étude démontrant une liaison hautement sélective (pKi > 5) pour les récepteurs 5-HT₃ (pKi = 8,42) avec aucune liaison détectable aux autres récepteurs étudiés. La sélectivité de liaison du granisétron aux récepteurs 5-HT₃ sur les autres récepteurs est donc supérieure à 1000 pour 1 alors que celui de l'ondansétron est de 250 à 400 pour 1 [11, 13]. Il présente néanmoins une faible affinité pour le récepteur 5-HT_{1A} (table 2) [5, 38].

Le tropisétron a une très forte affinité pour les récepteurs 5-HT₃ avec un pKi de 8,7 (table 2) [37] sur cellules de souris (neuroblastome) et de rat (hybridome de gliome) [36]. Cette affinité a également été démontrée par les faibles concentrations requises pour antagoniser la liaison de radioligands divers : la constante de dissociation rapportée (Ki) va de 0,38 à 3,1 nmol/L. Ces valeurs sont similaires à celles du granisétron et de l'ondansétron. Par exemple, dans du tissu de cerveau de rat, le Ki du tropisétron, granisétron et ondansétron pour le récepteur 5-HT₃ utilisant le radioligand [3H]GR65630 était de 3,1 ; 0,6 ; et 2,9 nmol/L respectivement [34]. Il a une faible affinité pour le récepteur 5-HT₄ (table 2) [5, 32, 34].

Les premiers essais de liaison *in vitro* ont démontré une affinité de liaison plus élevée du palonosétron pour le récepteur 5-HT₃ avec un pKi de 10,45 dans les neuroblastomes de souris, les cellules hybridomes de gliome de rat (table 2) [16, 17, 36, 37]. Il a cependant une faible affinité (pKi < 6) pour les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} et les récepteurs à la dopamine D1 (table 2) [35].

Cependant, les études d'affinité et de liaison au récepteur devraient être interprétées avec précaution, puisqu'elles sont réalisées *in vitro*, elles ne reflètent peut-être pas d'importantes différences cliniques [32].

	Ondansétron	Granisétron	Tropisétron	Palonosétron	Références
pK_i	8,4	8,9	8,7	10,45	[16, 17, 36, 37]
Liaison de faible affinité aux récepteurs	5-HT _{1A} , 5-HT _{1B} , 5-HT _{1C} , α ₁ -adrénergiques, opioïdes μ, dopaminergiques centraux	5-HT _{1A}	5-HT ₄	5-HT _{1A} , 5-HT _{2A} , dopaminergiques D1	[5, 7, 11, 13, 15, 32, 34, 35, 38]

Table 2 : Profil d'affinité des antagonistes aux récepteurs 5-HT₃.

3.3. Mécanisme d'action

Les vomissements résultent d'une série complexe d'événements physiologiques médiés par des facteurs humoraux et des fibres afférentes, ainsi que par l'inhibition et l'excitation de la musculature viscérale somatique qui sont finalement coordonnées par le centre du vomissement. Le centre émétique, situé dans le tronc cérébral, est un complexe de nerfs vagues qui régule la coordination motrice des vomissements. Le CTZ, située à l'intérieur du bulbe rachidien, communique avec le centre du vomissement par stimulation vagale afférente [16]. La contribution afférente au processus provient d'au moins quatre sources : le cortex, la zone de déclenchement des chimiorécepteurs (CTZ), l'appareil vestibulaire et le tractus gastro-intestinal. Le vomissement se produit lorsque des impulsions efférentes sont envoyées du centre émétique au centre de salivation, muscles abdominaux, centre respiratoire et nerfs crâniens [14, 32, 39].

Lors de l'administration d'une chimiothérapie ou d'une radiothérapie, le CTZ, le tractus gastro-intestinal et le cortex cérébral sont sources d'apport afférent au centre émétique. Le cortex cérébral ne semble pas fournir d'apport au CTZ dans les vomissements aigus provoqués par la chimiothérapie, mais peut stimuler le centre émétique dans les vomissements par anticipation. Le tractus gastro-intestinal est directement relié au centre émétique par le noyau du tractus solitaire et contient également des fibres afférentes qui se terminent au CTZ. Cette structure est dépourvue de barrière hématoencéphalique efficace, et va détecter les agents émétisant à la fois dans la circulation systémique et dans le liquide cérébrospinal [16]. Ainsi, les substances circulant dans ces deux fluides peuvent stimuler le CTZ et provoquer la libération des neurotransmetteurs. Toutes les données afférentes reçues par les vomissements sont contrôlées par des neurotransmetteurs et leurs récepteurs (figure 4) [14, 32, 39].

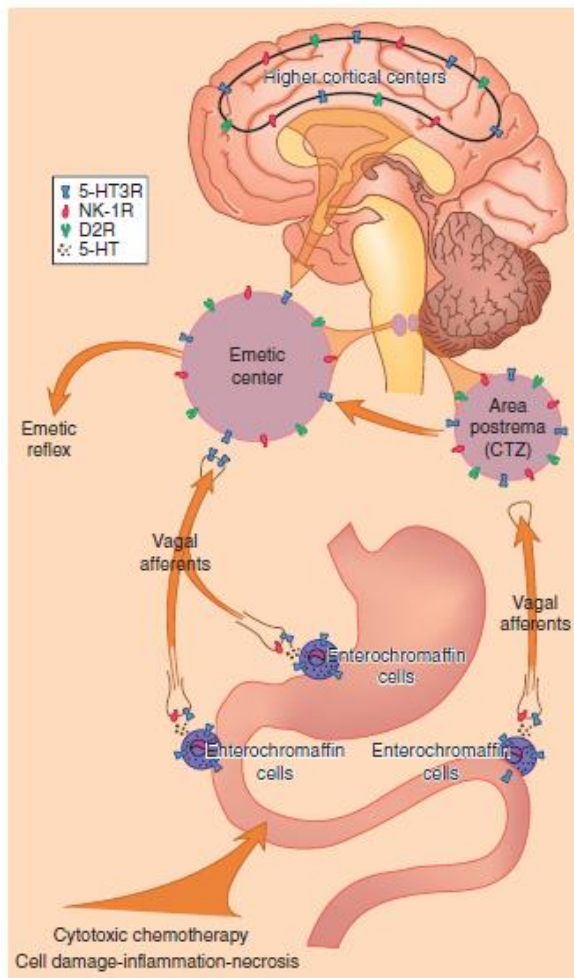


Figure 4 : Schéma des mécanismes impliqués dans le vomissement. Les chimiothérapies cytotoxiques peuvent endommager le tube digestif et activer les afférences vagales abdominales. La sérotonine, la substance P et la dopamine agissent sur les récepteurs dopaminergiques 5-HT₃, NK-1 et D₂, respectivement. Ils jouent un rôle central dans la neurotransmission qui aboutit au vomissement. Le complexe dorso-vagal englobe le centre émétique, la zone post-tréma et les terminaisons afférentes vagales. Les entrées sensorielles sont intégrées au niveau du complexe dorso-vagal, ce qui entraîne l'activation des muscles abdominaux et du diaphragme, l'estomac et l'œsophage déclenchant la réponse émétique [16].

Des investigations sur le mécanisme d'action des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ ont suggéré que les CINV et RINV sont principalement médiés par l'activation de récepteurs 5-HT₃ périphériques. Les médicaments cytotoxiques ou l'irradiation stimulent les cellules entérochromaffines dans le tractus gastro-intestinal pour libérer de la sérotonine (figure 4) [11, 39]. Cette libération de sérotonine va activer les récepteurs 5-HT₃ localisés en périphérie au niveau des terminaisons du nerf vague et en central dans le CTZ, résultant à l'initiation du réflexe émétique [3]. Des mécanismes additionnels, d'une moindre importance, incluent l'activation de nerfs afférents hépatiques après que la sérotonine ait rejoint la circulation systémique *via* la veine porte, ou par une stimulation directe du nucleus tractus solitaire par la sérotonine [11].

La liaison aux récepteurs 5-HT₃, localisés sur le nerf vague, de tous les antagonistes a été testée. Ils bloquent leur activation par la sérotonine. Le granisétron interagit également directement avec les cellules entérochromaffines présentes dans l'intestin, en bloquant les récepteurs 5-HT₃ de ces cellules et en réduisant le relargage basal de sérotonine. En revanche, l'ondansétron (et même à 100 fois la concentration en granisétron) ne modifie pas le relargage basal de sérotonine des cellules entérochromaffines. Ces différences se reflètent dans l'inhibition de la libération de sérotonine induite par le cisplatine par le granisétron, mais non par l'ondansétron. En contraste avec la bonne efficacité du granisétron administré en périphérique, des injections de granisétron intracérébroventriculaire ont montré qu'il était incapable de bloquer la réponse émétique induite par le cisplatine IV, et par conséquent démontrant l'importance des récepteurs périphériques dans l'obtention de cette réponse. En revanche, l'ondansétron administré en central peut abolir la réponse émétique induite par le cisplatine, même brièvement, suggérant que l'ondansétron agirait également sur les récepteurs 5-HT₃ centraux [11]. Ainsi, il apparaît que l'effet antiémétique de l'antagonisme de 5-HT₃ par l'ondansétron résulte de l'entrée réduite au centre émétique à partir du tractus gastro-intestinal et du CTZ [2]. Le tropisétron présente un antagonisme à la fois périphérique et central [34]. Il bloque sélectivement l'excitation des récepteurs 5-HT₃ présynaptiques des neurones périphériques impliqués dans ce réflexe (antiémétique), et peut avoir d'autres actions directes sur les récepteurs 5-HT₃ du système nerveux central, en médiant les actions des entrées vagales à la zone post-trema [40]. Le palonosétron a une activité antiémétique aussi bien aux sites centraux que gastrointestinaux [17].

4. Modèles précliniques

4.1. Activité *in vitro*

Les modèles précliniques utilisés *in vitro* pour démontrer les effets antagonistes des effets de dépolarisation de la sérotonine sur les récepteurs 5-HT₃ sont le nerf vague isolé de rat et de lapin, le ganglion cervical supérieur de rat, le cœur isolé de lapin ainsi que le muscle lisse longitudinal de l'iléon de cobaye. Il a été montré que l'antagonisme par le granisétron sur le nerf vague de rat est insurmontable [41].

L'ondansétron est un antagoniste puissant, hautement sélectif et compétitif des effets de dépolarisation de la sérotonine dans le nerf vague isolé de rat et de lapin, le ganglion cervical supérieur de rat, le muscle lisse longitudinal de cobaye [4, 6, 7].

L'administration de GR38032F (ondansétron) cause un déplacement parallèle vers la droite de la courbe dose – réponse de dépolarisation sur des préparations de nerfs vagues de rat et de ganglion cervical supérieur de rat (figure 5), avec une réduction non significative dans l'amplitude de la réponse maximale [6].

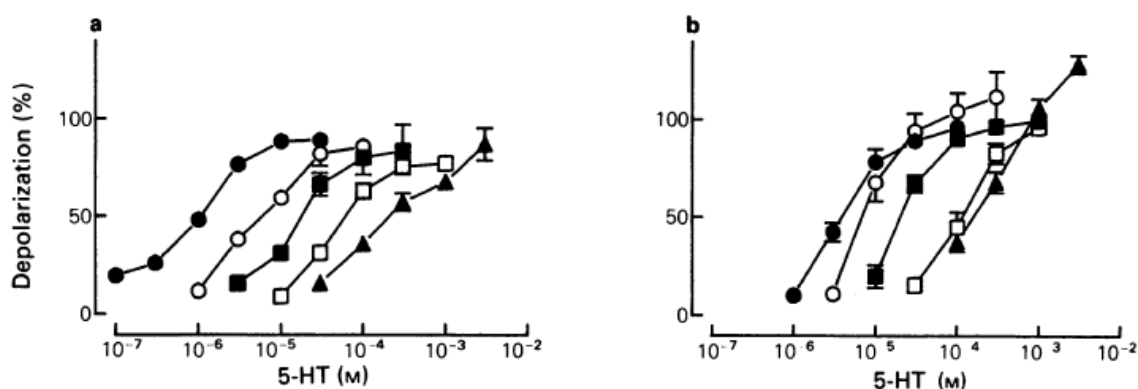


Figure 5 : Antagonisme de la dépolarisation induite par la sérotonine par GR38032F (ondansétron) sur nerf vague de rat (a) et ganglion cervical supérieur (b). Les résultats sont exprimés en pourcentage du maximum de contrôle estimé. Les symboles indiquent le contrôle (●) ou la présence de GR38032F à 1.10⁻⁸ M (○), 3.10⁻⁸ M (■), 1.10⁻⁷ M (□), ou 3.10⁻⁷ M (▲). Les courbes dose-réponse ont été construites en utilisant des additions non cumulatives de 5-HT ; chaque préparation a été exposée à une seule concentration de GR38032F [6].

L'administration de GR38032F (ondansétron) à 3 x 10⁻⁸ M cause un déplacement vers la droite de la courbe dose – réponse de dépolarisation de sérotonine sur nerf vague de lapin, accompagné par une petite réduction de la réponse maximale (figure 6) [6].

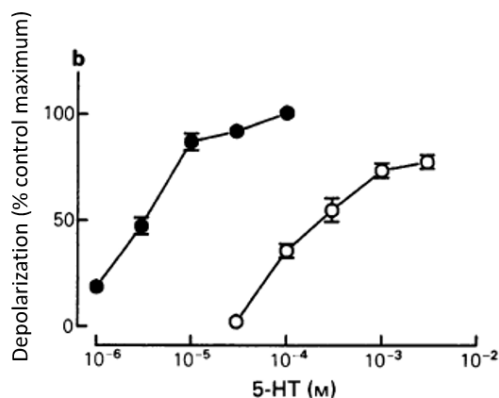


Figure 6 : Antagonisme par GR38032F (ondansétron) de la dépolarisation induite par la sérotonine sur nerf vague isolé de lapin. Les symboles indiquent la réponse contrôle (●) ou la présence de GR38032F à 3.10^{-8} M (○) [6].

Le modèle de cœur isolé de lapin de Langendorff a été utilisé pour démontrer le blocage du récepteur de la sérotonine par le tropisétron, l'ondansétron et le granisétron. Dans le cas du tropisétron, il y a une libération de noradrénaline dans ce modèle, suivi d'une fixation de la sérotonine au site présynaptique périphérique, qui produit un effet inotrope positif (augmentation de la contraction) et un effet chronotrope positif (augmentation de la fréquence) sur le muscle cardiaque. Si une relation dose-réponse est établie et que le tropisétron est ajouté à ce moment-là, il y a un déplacement de la courbe dose-réponse vers la droite, indicatif d'une puissante inhibition des récepteurs 5-HT₃ par le tropisétron. Quand l'effet du tropisétron est comparé avec celui du métoclopramide, dans le même modèle, l'inhibition de la sérotonine est 100 fois plus puissante pour le tropisétron [40].

4.2. Activité *in vivo*

Les antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT₃, dont l'ondansétron, ont été testés pour leur activité antiémétique chez les furets car ces animaux sont capables d'une expression comportementale complète des vomissements et qu'ils ont été largement utilisés comme modèle pour les vomissements cytotoxiques induits par les médicaments [7]. En plus du furet, d'autres espèces animales ont été utilisées comme modèles tels que le chat et le chien [30]. Bien que le chat soit une espèce établie pour l'étude du vomissement, le furet et le chien sont généralement considérés comme ressemblant davantage aux humains à cet égard [34]. Le prétraitement des animaux avec les antagonistes du récepteur 5-HT₃ ont inhibé les vomissements dans les trois espèces. De plus, les nausées ont été également inhibées [30].

L'évaluation fonctionnelle de l'antagonisme au récepteur 5-HT₃ se fait par l'observation de l'inhibition du réflexe sérotoninergique induit de Bezold-Jarish, qui se manifeste par une bradycardie transitoire. *In vivo*, le tropisétron, le granisétron et l'ondansétron inhibe le réflexe de Bezold-Jarisch médié par le nerf vague avec une dose efficace ED₅₀ de 0,1 à 0,7 µg/kg. En comparaison, le métoclopramide est moins puissant avec une ED₅₀ de 390 µg/kg [4, 30]. Le tropisétron à 1 µg/kg administré par voie intraveineuse inhibe la bradycardie réflexe induite chez le rat par l'administration intraveineuse de

sérotonine (réflexe de von Bezold-Jarisch) de sorte qu'il a fallu quadrupler la dose de sérotonine pour obtenir la même réduction du rythme cardiaque [34]. Le granisétron inhibe également de façon très forte le réflexe sérotoninergique induit de Bezold-Jarish [41]. L'ondansétron antagonise la réponse réflexe de Bezold-Jarisch chez le rat et le chat [4, 6, 7]. Chez le rat, le GR38032F (ondansétron) est un puissant antagoniste de la chute de la fréquence cardiaque induite par le 2-méthyl-5-HT et la 5-HT avec une bonne durée d'action. Après administration orale, les ED₅₀ (avec un intervalle de confiance à 95%) sont de 7,0 (3,0 – 22,0) µg/kg contre le 2-méthyl-5-HT et 8,0 (4,0 – 34,0) µg/kg contre la 5-HT. Les effets de l'administration intraveineuse de GR38032F contre le 2-méthyl-5-HT et la 5-HT ont donné une ED₅₀ moyenne de 0,42 (0,18 – 0,87) µg/kg. Chez le chat anesthésié, l'administration intraveineuse de GR38032F (1 – 30 µg/kg) cause une inhibition marquée des effets du 2-méthyl-5-HT. L'ondansétron à 10 – 100 µg/kg était aussi hautement efficace après administration sublinguale ou *via* la voie sous-cutanée, intramusculaire, intra-rectale ou intra-duodénale [6]. Le palonosétron parentéral inhibe de façon dose-dépendante la bradycardie induite par la 2-méthylsérotonine associée au réflexe von Bezold-Jarisch chez le rat. Le palonosétron intra-duodéal ou intraveineux était jusqu'à 15 fois plus puissant que le granisétron et jusqu'à 55 fois plus puissant que l'ondansétron pour inhiber le réflexe von Bezold-Jarisch [37].

Chez le furet, le tropisétron a aboli ou considérablement inhibé les vomissements induits par le cisplatine et le comportement qui pourrait être corrélé avec la nausée. De plus, le tropisétron a accéléré la vidange gastrique, une activité désirée dans le traitement des nausées et des vomissements provoqués par la chimiothérapie, tout en inhibant l'hypermotilité intestinale et la sécrétion pendant des conditions de libération excessive de sérotonine. Les effets sur le cœur et la pression artérielle étaient minimes et il n'y a pas eu d'altération décelable du fonctionnement du système nerveux central de base. Le tropisétron à 0,1 mg/kg administré par voie intraveineuse immédiatement avant l'administration intraveineuse de 10 mg/kg de cisplatine, une dose hautement émétisante chez les animaux témoins, a complètement contrarié la réponse émétique chez les furets [42]. Une dose plus faible de tropisétron (0,01 mg/kg) a retardé l'apparition des vomissements de 58 minutes (chez les animaux témoins) à 84 minutes et a réduit de façon significative le nombre total de vomissements et de nausées sur une période de 2 heures de 110 (chez les animaux témoins) à 52 ($p < 0,001$). Le nombre moyen d'épisodes émétiques provoqués par l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de cisplatine a été réduit de 97 % (de 11,4 à 0,3) et l'apparition des vomissements a été prolongée de 1,9 à 4,3 heures lorsque 0,1 mg/kg de tropisétron a été administré par voie intraveineuse 30 minutes avant et 2 heures après l'administration du cisplatine chez le chien. Le tropisétron en IV (0,01 à 0,1 mg/kg) était équipotent pour la même plage posologique d'ondansétron intraveineux dans la suppression des vomissements induits par le cisplatine chez le chien, le nombre d'épisodes émétiques pendant les 5 heures suivant l'administration du cisplatine aux doses les plus élevées étant respectivement 1,7 et 2,3. Le tropisétron et l'ondansétron ont été administrés 30 minutes avant et 2 heures après l'administration intraveineuse de 3 mg/kg de cisplatine, une dose de cisplatine qui a induit

14,3 épisodes émétiques chez des chiens témoins. Chez le chat, le tropisetron 1mg/kg administré par voie sous-cutanée immédiatement avant l'administration intraveineuse de 7,5 mg/kg de cisplatine a totalement supprimé la réponse émétique pendant une période d'observation de 6 heures. Chez la musaraigne domestique, le tropisetron administré par voie intraveineuse a inhibé efficacement les vomissements induits par le cisplatine intraveineux 40 mg/kg et le cyclophosphamide 200 mg/kg ; doses de tropisetron inhibant les vomissements chez 50 % des animaux (ID_{50}) étaient de 0,1 et 0,7 mg/kg, respectivement [34].

Le palonosétron a démontré un effet antiémétique dose-dépendant dans les premières études pharmacologiques chez le furet et chez le chien pour une variété d'agents chimiothérapeutiques, dont le cisplatine. Chez les furets, les effets inhibiteurs du palonosétron étaient significativement meilleurs que le véhicule contrôle à toutes les doses examinées (1, 3, 10 et 30 $\mu\text{g/kg}$ IV), avec aucun épisode émétique rapporté pour les animaux avec les doses administrées de 10 et 30 $\mu\text{g/kg}$. Chez le chien, une seule administration par voie intraveineuse des doses de palonosétron (1-100 $\mu\text{g/kg}$) ou d'ondansétron (30-300 $\mu\text{g/kg}$) a également réduit de façon significative le nombre de cas de vomissements produits par le cisplatine, l'actinomycine D, la dacarbazine et le méchloréthamine en fonction de la dose. La durée des effets antiémétiques du palonosétron (30 $\mu\text{g/kg}$) et de l'ondansétron (300 $\mu\text{g/kg}$) ont été respectivement de 7 et 4 h. Chez les furets, le palonosétron administré par voie orale a démontré une puissance antiémétique accrue comparativement au granisetron et à l'ondansétron, avec une puissance environ 2 et 13 fois supérieure respectivement. Chez les chiens traités au cisplatine, le palonosétron a été 30 fois plus puissant que l'ondansétron pour inhiber les vomissements induits par le médicament [16].

Il est important de noter qu'une inhibition complète de la réponse émétique a été observée chez trois des quatre émétogènes dans la plage posologique orale (1-100 $\mu\text{g/kg}$) étudiés chez le chien, la dose requise pour une inhibition complète étant au moins dix fois inférieure pour le palonosétron que pour l'ondansétron. Contre les vomissements induits par le cisplatine, la durée de l'effet antiémétique du palonosétron (30 $\mu\text{g/kg}$ par voie orale) était de 7 heures contre 4 heures pour celui d'une dose équivalente d'ondansétron (300 $\mu\text{g/kg}$ par voie orale) [37].

5. Pharmacocinétique

Les données pharmacocinétiques des quatre antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés sont répertoriées dans le tableau ci-dessous en table 3.

Antagoniste	Dose	Cmax	Tmax	AUC	Biodisponibilité (F)	Volume de distribution (Vd)	Liaison aux protéines plasmatiques	Demi-vie T1/2	Clairance	Références
Ondansétron	8 mg (VO) 0,15 mg/kg (IV)	Cmax (oral) = 31 – 33 µg/L Cmax (IV) = 96 – 102 µg/L	Tmax = 1 – 1,5 h	AUC = 101 – 351 µg/L	F = 60%	Vd = 160 L Vd = 1,8 – 2,5 L/kg	70 – 76 %	T1/2 = 3 – 4 h	Cl _{totale} = 420 à 845 mL/min (25 à 50,7 L/h) Cl _{rénale} = 10 à 20 mL/min (0,6 à 1,2 L/h)	[2, 5, 7, 8, 10, 15, 24, 25, 33]
Granisétron	2 mg/j (VO) 10 µg/kg (IV) 1 mg (VO) Dose max = 20 mg	Cmax (oral 1mg) = 3,6 ng/mL Cmax (40 µg/kg IV) = 27 – 37 ng/mL			F = 60%	Vd = 174 – 258 L Vd = 3 – 4 L/kg	65 – 77 %	T1/2 = 4,91 – 11,6 h	Cl _{totale} = 0,79 L/h/kg	[4, 5, 8, 11, 12, 13, 38, 41, 43]

Antagoniste	Dose	Cmax	Tmax	AUC	Biodisponibilité (F)	Volume de distribution (Vd)	Liaison aux protéines plasmatiques	Demi-vie T1/2	Clairance	Références
Tropisétron	5 mg VO et IV	Cmax (oral) = 3,5 – 9 ng/mL Cmax (IV) = 38 ng/mL	Tmax (oral) = 1,7 h		F = 60 – 80 %	Vd = 7 L/kg	65 – 77 %	T1/2 = 6 – 10 h	Cl _{totale} = 1800 mL/min	[5, 8, 34]
Palonosétron	0,25 mg à 0,75 mg IV	Cmax (VO 0,5 mg) = 0,93 ng/mL Cmax (3µg/kg IV) = 5,6 ng/mL	Tmax = 5,1 h Tmax = 0,144 h	AUC = 49,7 ng.h/mL AUC = 35,8 ng.h/mL	F = 97 %	Vd = 8,3 +/- 2,5 L/kg	62 %	T1/2 = 40 h	Cl _{totale} = 160 mL/h/kg Cl _{rénale} = 66,5 mL/h/kg	[3, 16, 17, 35, 36, 37, 44]

Table 3 : Données pharmacocinétiques des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

5.1. Absorption – Distribution

A des doses biologiquement équivalentes, l'ondansétron, le granisétron, le tropisétron et le palonosétron sont similaires en termes d'efficacité et de sureté, et apparaissent être interchangeables [14]. Les premières études cliniques de dosage ont pris en considération les différences de demi-vie des composés. Ainsi, l'ondansétron a été initialement administré 3 fois par jour comparé aux autres antagonistes qui sont administrés une fois par jour. Il est maintenant démontré que l'ondansétron, aussi bien que les autres antagonistes, peuvent être effectivement administrés une fois par jour et que l'efficacité antiémétique persiste longtemps après que leur concentration dans le plasma soit indétectable. Ceci indique que les interactions au niveau du récepteur, et non la pharmacocinétique plasmatique, sont le critère le plus important pour la détermination de l'efficacité [32]. Pour le granisétron, il n'y a pas de différences d'efficacité entre 10 et 40 µg/kg et entre 40 et 160 µg/kg [41]. Pour le tropisétron, une augmentation de la dose n'augmente pas l'efficacité thérapeutique donc 5 mg (oral et IV) suffisent. En effet, les doses de 5 à 40 mg ont la même efficacité [34]. Le palonosétron présente une pharmacocinétique linéaire, proportionnelle à la dose chez les sujets sains et les patients atteints de cancer à des doses de 1 – 90 µg/kg [37]. Après administration intraveineuse, le palonosétron suit un profil pharmacocinétique biexponentiel avec une phase initiale de distribution rapide suivie d'une phase d'élimination plus lente [36, 37]. La dose à 3 µg/kg a été identifiée comme la dose efficace la plus basse [36].

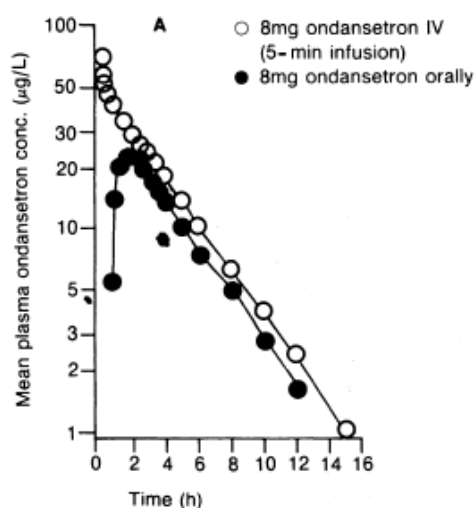


Figure 7 : Etude pharmacocinétique de l'ondansétron IV et oral chez le volontaire sain. Le graphique représente la concentration plasmatique moyenne sur une période de 16h après administration d'ondansétron (n = 18) [7].

La biodisponibilité orale pour les antagonistes de première génération est de 60 %. En revanche, le palonosétron a une biodisponibilité orale très élevée à hauteur de 97% (table 3) [35]. Des études ont été menées sur l'influence des doses orales croissantes sur l'absorption de l'ondansétron. Il apparaît qu'il y a une augmentation non proportionnelle de la biodisponibilité systémique avec 8 ;16 ;32 ;48 ;64 mg d'ondansétron. Ceci suggère une

saturation de l'effet de premier passage hépatique [25, 33]. L'administration concomitante d'aliments ou d'antiacides ne semble pas avoir d'effets cliniquement significatifs sur l'absorption ou l'élimination de l'ondansétron [24, 25].

Les quatre molécules sont largement distribuées et liées de façon modérée aux protéines plasmatiques, autour de 70%. Elles présentent également des volumes de distribution élevés (table 3), montrant une haute affinité pour les tissus [11, 34].

Les données chez l'animal indiquent un ratio cerveau/plasma de moins de 0,5 suggérant que l'ondansétron pénètre dans le système nerveux central [10, 33, 45]. Chez l'Homme, la concentration d'ondansétron dans le liquide cérébro-spinal est inférieure à 15% de la concentration plasmatique [10, 24, 25, 33]. Dans une étude portant sur 6 volontaires, les concentrations d'ondansétron ont varié de 39,5 à 147 µg/L dans le plasma et de 2,6 à 15,4 µg/L dans le liquide céphalorachidien, avec une bonne corrélation entre les concentrations plasmatiques et le liquide céphalorachidien [33, 45].

5.2. Métabolisation

Plus de 95% de la dose d'ondansétron administrée sont métabolisés par le foie [7, 10, 24, 33]. La phase 1 d'hydroxylation implique les CYP450 avec principalement le CYP450 3A puis secondairement les CYP450 2D6, 1A2 et 2E1 [5, 8, 10, 15, 24, 25, 33]. Il s'en suit une phase 2 de conjugaison avec un acide glucuronique ou un sulfate, et avec une N-déméthylation en tant que voie mineure (figure 8) [2, 7, 24].

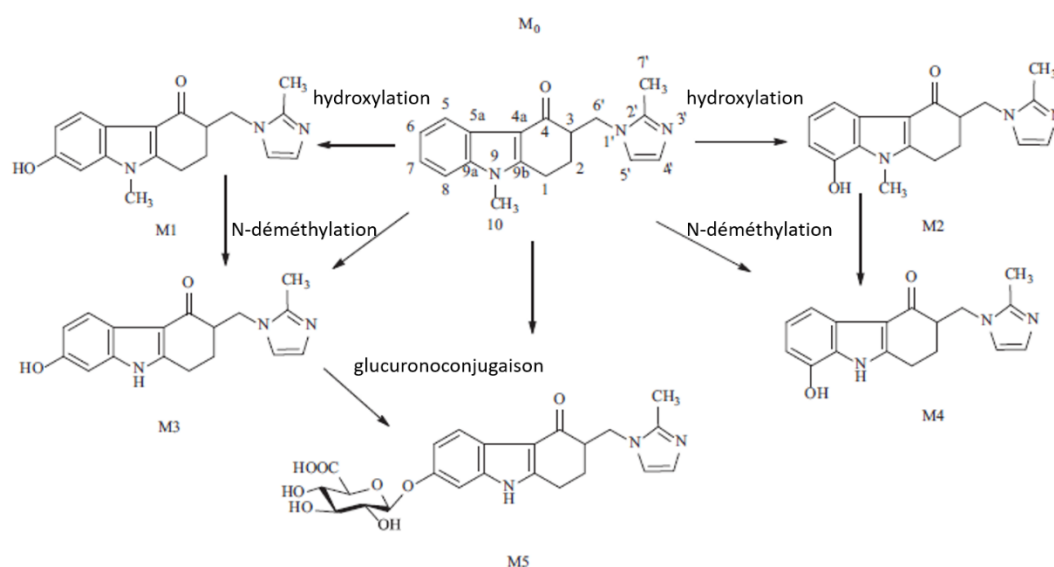


Figure 8 : Voies métaboliques de l'ondansétron. M0 : ondansétron, M1 : 7-hydroxyl-ondansétron, M2 : 8-hydroxyl-ondansétron, M3 : 7-hydroxyl-N-déméthyl-ondansétron, M4 : 8-hydroxyl-N-déméthyl-ondansétron, M5 : N-déméthyl-ondansétron-7-O-β-D-glucuronide [46].

Le granisétron est le seul antagoniste qui n'est pas métabolisé par l'isoenzyme ayant un polymorphisme génétique, le CYP450 2D6. Il est métabolisé par le CYP450 3A [5, 8, 11, 12, 13, 38]. Il subit une N-déméthylation et une oxydation de l'anneau aromatique suivi d'une

conjugaison [12]. Le tropisetron quant à lui est principalement métabolisé par le CYP2D6, et est donc influencé par son polymorphisme génétique, ce qui implique des métaboliseurs lents et rapides [5, 8, 34]. Il est métabolisé de façon plus secondaire par le CYP3A4 et 1A2 [12]. Le tropisetron compte 8 métabolites après une phase 1 d'hydroxylation et une phase 2 de glucurono et sulfo conjugaison [8, 34]. Les métabolites sont ensuite majoritairement excrétés par le rein [8].

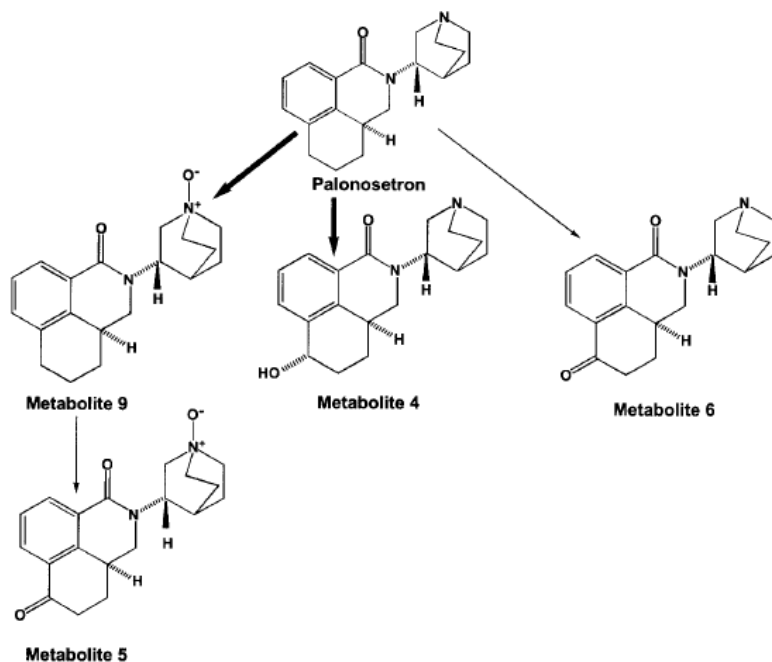


Figure 9 : Voies métaboliques du palonosétron. Les flèches en gras représentent les voies de métabolisation majeures [44].

Enfin, 50% de la dose de palonosétron administrée subit une métabolisation hépatique [3, 13, 17, 35, 37]. Le métabolisme du palonosétron implique de manière majoritaire le CYP2D6 et de manière mineure les CYP3A4 et 1A2 [3, 13, 16, 17, 35, 37]. Les paramètres pharmacocinétiques ne sont pas significativement différents entre les métaboliseurs lent et rapide avec le CYP2D6 [17, 37]. Les trois métabolites majeurs retrouvés dans les urines sont les métabolites M4, M9 et M5, le métabolite M5 étant retrouvé de façon plus minoritaire (figure 9) [16, 44].

5.3. Elimination

Les antagonistes se classent ainsi selon leur demi-vie, de la plus courte à la plus longue : ondansétron < granisétron < tropisetron < palonosétron ; avec une demi-vie de 3-4 h pour l'ondansétron allant jusqu'à plus de 40 h pour le palonosétron présentant une demi-vie significativement plus importante que les autres antagonistes (table 3). La demi-vie du tropisetron est très variable en raison de sa métabolisation quasi exclusive par le CYP2D6 [8].

Moins de 5% de l'ondansétron sont retrouvés inchangés dans les urines, [2, 10, 15, 25] montrant une clairance rénale lente [10]. De plus, 60% de l'ondansétron et ses métabolites sont éliminés dans les urines, 25% sont éliminés dans les fèces [7]. Pour le granisétron, 11 à 12% d'une dose orale sont éliminés sous forme inchangée dans les urines dans les 48h après administration, [4, 8, 12] 48% sont transformés en métabolites dans l'urine, et 38% en tant que métabolites dans les fèces [12]. Quant au tropisétron, 10% de la dose sont excrétés sous forme inchangée dans les urines et 70% en tant que métabolites. Le reste est éliminé dans les fèces, la plupart en tant que métabolites [34]. Après une dose unique IV de palonosétron, 40% sont éliminés par le rein sous forme inchangée dans les urines après 144h [3, 16, 17, 37].

L'excrétion rénale est la principale voie de clairance du palonosétron. Dans l'étude de Stoltz et al., après l'administration d'une dose intraveineuse unique de [14C]-palonosétron 10 µg/kg, une moyenne de 83,2 % de la radioactivité a été récupérée dans l'urine et 3,4 % dans les fèces [44]. De la dose récupérée dans l'urine, une moyenne de 39,3 % était du médicament sous forme inchangée, 12,5 % était du M9 et 10,9 % était du M4 [44]. Après l'administration d'une dose orale unique de [14C]-palonosétron, 85 à 93 % de la radioactivité a été récupérée dans l'urine, et 5 à 8 % dans les fèces [35].

5.4 Insuffisances rénales et hépatiques

Il a été montré que la diminution de la fonction rénale ou hépatique résulte en une diminution de la clairance du granisétron, tropisétron, ondansétron et du palonosétron. Chez les patients adultes, la moyenne du taux de clairance diminue et la demi-vie plasmatique augmente autant que l'âge avance. Cependant, aucun ajustement de dose ne serait nécessaire chez les patients avec un possible trouble rénal ou hépatique [8, 12, 17, 35].

5.5. Relation dose-réponse

Les courbes dose-réponse pour le granisétron et le tropisétron démontrent une corrélation linéaire [8, 41] jusqu'à ce que la réponse aux doses croissantes devienne asymptotique à l'efficacité maximale. La courbe dose-réponse de l'ondansétron est différente. Les vomissements sont diminués à des doses relativement faibles, augmentent aux doses intermédiaires, et sont à nouveau contrôlés à plus fortes doses. Une courbe dose-réponse similaire est retrouvée avec le métoclopramide. La réponse intermédiaire reste inexpliquée [8]. Les différences de liaison au récepteur et l'antagonisme surmontable de l'ondansétron par des concentrations croissantes de sérotonine, non vues avec le granisétron ou le tropisétron, peut jouer dans la courbe dose-réponse observée avec l'ondansétron [32].

L'exposition totale du palonosétron augmente avec l'augmentation de la dose [16]. Les aires sous la courbe (AUC) (table 3) ont une augmentation proportionnelle avec une augmentation de la dose de palonosétron, démontrant des cinétiques essentiellement linéaires, tout comme le granisétron et le tropisétron [4].

6. Tolérance, toxicologie

6.1. Tolérance et index thérapeutique

	Ondansétron	Granisétron	Tropisétron	Palonosétron
Nombre de patients (dose)			n=417 (5 mg)	n=633 (0,25 mg)
Maux de tête	8 – 17 %	10 – 15 %	27 %	9 %
Constipation	2 – 7,1 %	0 – 4 %	14 %	5 %
Diarrhée	2 – 5 %	0 – 3 %	8 %	1 %
Douleurs abdominales	8,6 %			< 1%
Vertiges	2 – 12 %			1 %
Somnolence/sédation	2 %	0 – 3 %		
Asthénie	1 %		9 %	< 1 %
Insomnie	1 %			< 1%
Références	[2, 3, 7, 10, 15, 25]	[4, 12, 13, 38, 41]	[34, 47]	[3, 16, 35, 37]

Table 4 : Profil des effets indésirables des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés.

Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ sont de manière générale très sûrs et très bien tolérés. Les effets indésirables rencontrés sont transitoires et d'intensité légère à modérée [7, 8, 10, 16, 38]. Reflétant leur large marge thérapeutique évoquée plus loin, la tolérance des antagonistes des récepteurs 5HT₃ dans l'utilisation clinique courante est excellente. Les effets secondaires confirmés de cette classe de composés sont les céphalées et la constipation. On observe parfois des réactions d'intolérance, dans de rares cas, des troubles de la conduction cardiaque et des arythmies ainsi que des iléus (occlusion intestinale) [5, 7]. Il ressort clairement de toutes ces études que le profil d'innocuité de chacun des antagonistes du 5-HT₃ est superbe. Aucune des études, avec des centaines de patients enrôlés, n'a démontré d'effets indésirables significatifs ou graves. C'est particulièrement vrai en comparaison avec le profil d'effets indésirables d'autres agents antiémétiques. Tous ces agents sont sûrs, bien tolérés et, en termes de profils d'effets indésirables, similaires. En raison de leur affinité faible voire nulle pour les récepteurs à la dopamine, aucun antagoniste des récepteurs 5-HT₃ n'a causé de réactions extrapyramidales, mais surviennent à une haute fréquence chez les patients recevant une forte dose de métoclopramide [2, 32].

La sélectivité du granisétron pour les récepteurs 5-HT₃ suggère qu'il produirait moins d'effets indésirables que d'autres agents. En particulier, les vertiges et les troubles de la vision apparaissent significativement moins souvent chez les patients recevant du granisétron que ceux recevant de l'ondansétron. Ces effets sont dus en partie à l'action centrale de l'ondansétron, expliquant la rareté de ces effets lors de l'administration du granisétron [11,

38]. Le palonosétron est également très bien toléré. Aucun événement indésirable grave (de grade 3 ou 4) n'est survenu. La majorité des effets indésirables du palonosétron étaient, en termes de sévérité, faibles (64,1% des 582 patients) ou de faible à modéré (> 90% des 673 patients), et environ 80% de ces effets n'étaient pas considérés en relation au traitement [16, 35].

Dans des études sur des volontaires sains, une gamme de doses de 2,5 à 100 mg de tropisétron a été utilisée, administrée par voie intraveineuse et orale, chez environ 300 sujets. Les deux principaux effets indésirables à toutes les doses d'essai ont été la constipation et les maux de tête chez les métaboliseurs lents (42 et 52 % des patients) et les métaboliseurs rapides (17 et 17 % des patients), en lien avec le métabolisme du tropisétron par le CYP2D6. Bien qu'il y ait eu une incidence plus élevée d'effets indésirables chez les métaboliseurs lents, il s'agit d'une question de tolérance plutôt que d'innocuité des médicaments, parce que l'événement indésirable était qualitativement similaire chez les métaboliseurs lents et rapides. Les volontaires ont bien toléré les doses multiples orales de tropisétron allant jusqu'à 50 mg une fois par jour, pour 14 jours. Il en a été de même pour des doses intraveineuses allant jusqu'à 100 mg par jour [40].

Plusieurs effets secondaires sont liés à l'ondansétron. L'effet secondaire le plus souvent rapporté est le mal de tête. Bien que le mécanisme exact des céphalées induites par l'ondansétron ne soit pas connu, un faible effet antagoniste aux récepteurs 5-HT₁ peut précipiter les céphalées chez les personnes sensibles, y compris les migraineux et les patients postopératoires qui sont exposés au sevrage de la caféine en raison des besoins en anesthésie générale. Par administration intraveineuse trop rapide, l'ondansétron peut produire une hypotension significative avec tachycardie qui peut entraîner des épisodes syncopaux chez les patients éveillés. Dans de rares cas, l'ondansétron peut provoquer de l'angine de poitrine en présence de signes électrocardiographiques d'ischémie myocardique. Les sous-types de récepteurs 5-HT sont largement distribués dans les artères coronaires et leur implication dans ce phénomène est concevable. Des troubles de la fonction intestinale, la constipation étant plus fréquente que la diarrhée, une activité convulsive, une fatigue et une faiblesse excessives ont également été associés à l'ondansétron. La sérotonine joue un certain rôle dans le contrôle neural et hormonal normal de l'activité intestinale, et le blocage pharmacologique des récepteurs 5-HT₃ largement répartis dans le tractus intestinal peut expliquer ces anomalies de la fonction intestinale [24].

Le large index thérapeutique de l'ondansétron a été confirmé par Hainsworth et al., qui a administré par inadvertance une dose de 1,5 mg/kg IV, soit 10 fois la dose recommandée, à un patient et 3 de ces doses à un autre. Dans chacun des cas, les patients ont éprouvé des symptômes subjectifs, y compris des bouffées de chaleur et de l'agitation, qui ont tous disparu en 24 heures sans conséquences [2, 24]. Pour ce qui est du granisétron, son profil de tolérance ne change pas pour des doses allant de 2 à 160 µg/kg en IV [41]. De plus, une injection de plus de 38,5 mg soit près de 8 fois la dose recommandée, n'a entraîné qu'un simple mal de tête

mineur [12]. La tolérance du granisétron se semble pas dose-dépendante. De 20 à 240 µg/kg/24h, il n'y a pas eu de différences significatives dans l'incidence d'effets indésirables [4]. Le palonosétron suit le même profil. En effet, les patients ont été exposés à une vaste gamme de doses de palonosétron, jusqu'à 25 fois la dose approuvée de 0,25 mg. Les effets indésirables signalés étaient les effets les plus fréquents dans la classe des antagonistes des récepteurs 5-HT₃, à savoir les céphalées et la constipation [17].

6.2. Toxicologie

La toxicité des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ est faible. Il n'y a pas de preuves d'effets mutagène ou tératogène ou de toxicité d'organes spécifiques. Ce n'est que dans le cadre d'études à long terme utilisant des doses plus élevées que les rongeurs ont présenté des changements parenchymateux hépatiques souvent observés lors de l'administration de médicaments métabolisés par le système du cytochrome P450 [5]. Les études chez l'animal n'ont montré aucun effet tératogène de l'ondansétron. Aucun effets similaires n'ont été retrouvés chez l'humain. Chez les animaux, l'ondansétron est excrété dans le lait maternel et, comme c'est le cas pour beaucoup d'autres médicaments, la même chose peut être attendue chez la femme [24]. De même pour le palonosétron, il n'existe pas d'études adéquates et bien contrôlées sur son utilisation chez les femmes enceintes. Toutefois, les études tératologiques effectuées chez des rates ayant reçu des doses orales de 60 mg/kg/jour n'ont révélé aucun signe d'altération de la fertilité ou d'atteinte du fœtus. Bien que la dose testée chez le rat représente 1 894 fois la dose intraveineuse recommandée chez l'humain d'après la surface corporelle, les études chez l'animal ne permettent pas toujours de prédire la réponse humaine. Par conséquent, le palonosétron ne doit être utilisé pendant la grossesse qu'en cas de besoin évident [3]. Il en est de même pour l'ondansétron. En effet, il traverse le placenta pendant le premier trimestre (rapport fœtal/maternel médian = 0,41). Cependant, son utilisation n'est pas associée à une grossesse ou à des issues fœtales indésirables ou à des malformations fœtales majeures. Un risque accru de fente palatine a été observé dans une étude cas-témoin, mais d'autres études bien contrôlées sont nécessaires [15].

En 1993, Kutz a publié les résultats de ses études toxicologiques du tropisétron [40]. L'étude toxicologique en toxicité aiguë, d'une durée de 4 semaines, avec le tropisétron a consisté en un traitement oral chez le rat à des doses de 6, 19 et 58 mg/kg/jour (les doses sont de 60, 190 et 580 fois plus fortes comparativement à un homme de 50 kg) et chez le chien à des doses de 2, 6 et 18 mg/kg/jour (20, 60 et 180 fois comparativement à l'homme). L'étude toxicologique en toxicité à long terme, d'une durée de 26 semaines, a consisté en un traitement oral de tropisétron chez le rat à des doses de 5, 15 et 45 mg/kg/jour et chez le chien à des doses de 1,5, 5 et 15 mg/kg/jour.

La perte de poids corporel chez le rat s'est manifestée à toutes les doses dans les études de toxicité aiguë et à long terme, et l'ingestion d'aliments a diminué aux doses les plus élevées utilisées (58 mg/kg/jour, 4 semaines et 45 mg/kg/jour, 26 semaines). Il y avait quelques diminutions dans la numération des globules rouges et des globules blancs, et des

élevations des taux de transaminases chez le rat. Il y avait aussi des signes histologiques d'hépatite. De même, chez les chiens, la perte de poids corporel s'est produite à toutes les doses aux études toxicologiques aiguës et à long terme, et une diminution de l'ingestion d'aliments s'est produite aux doses les plus élevées utilisées (18 mg/kg/jour, 4 semaines et 15 mg/kg/jour, 26 semaines). Il y avait des signes de vomissements et d'hypersalivation chez le chien, mais ces effets sont bien connus dans cette espèce.

Rats	Doses
NTEL	19 mg/kg/jour (4 semaines tox)
	15 mg/kg/jour (26 semaines tox)
AUC_(0-24h)	26000 h.ng/mL
Chiens	
NTEL	18 mg/kg/jour (4 semaines tox)
	15 mg/kg/jour (26 semaines tox)
AUC_(0-24h)	6600 h.ng/mL

Table 5 : Résultats des études de toxicité aiguës (4 semaines) et à long terme (26 semaines) pour le tropisétron chez le rat et le chien. NTEL : No-toxic-effect level, dose sans effet toxique [40].

Les doses sans effet toxique (NTEL) chez le rat et le chien étaient de 15 mg/kg/jour au cours de la période de traitement de 26 semaines (table 5). Aucun hépatome ou carcinome hépatocellulaire n'a été trouvé. Dans l'ensemble, le tropisétron a été généralement bien toléré par toutes les espèces animales, même à des doses qui étaient d'environ 50 fois plus élevé que la dose thérapeutique chez l'Homme. Aucune toxicité organique spécifique n'a été observée, autre que la légère altération du développement du poids corporel, qui peut être expliquée par le résultat de l'action de l'antagonisme des récepteurs 5-HT₃ dans le tractus gastrointestinal [40].

6.3. Sécurité cardiovasculaire

Dans la plupart des études chez l'Homme, le granisétron a un petit effet sur la pression sanguine et la fréquence cardiaque. La prolongation du QT a été rapporté pour le granisétron. L'utilisation concomitante du granisétron et d'autres médicaments connus pour prolonger l'intervalle QT et/ou pour être arythmogènes peut entraîner des conséquences cliniques. Les patients atteints d'une maladie cardiaque, en chimiothérapie cardiotoxique, avec des anomalies électrolytiques concomitantes, et/ou sur des médicaments concomitants qui prolongent l'intervalle QT sont particulièrement à risque [12].

Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃, entre autres médicaments non cardiovasculaires, sont connus pour être associés à des modifications de la repolarisation cardiaque, en bloquant le canal potassium hERG (I_{Kr}). Trois membres de la classe (ondansétron, palonosétron et granisétron, le tropisétron n'ayant pas été considéré dans cette étude) peuvent causer une inhibition de 50 % du courant de queue I_{Kr}, à différentes concentrations du médicament, avec différentes marges de sécurité clinique pour chaque médicament administré à la dose orale recommandée. Seules quelques études ont porté sur

les modifications de l'ECG chez les patients cancéreux traités par des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ pour les CINV. L'ondansétron est le plus puissant inhibiteur de l'I_{Kr} parmi les trois antagonistes des récepteurs 5-HT₃. L'ondansétron prolonge l'intervalle QTc (correction de Fridericia) en bloquant le canal potassique dans le myocarde humain, ce qui entraîne une prolongation de l'intervalle de repolarisation. Bien que cet effet semble dépendre de la dose, une prolongation significative de l'intervalle QTc a été observée même après une dose IV d'ondansétron de 4 mg. On a signalé des cas de patients atteints du syndrome du QT long congénital qui ont développé une tachycardie ventriculaire après une dose d'ondansétron. En juin 2012, la FDA a interdit l'emploi de l'ondansétron par voie intraveineuse à des doses uniques supérieures à 16 mg en raison de l'allongement marqué de l'intervalle QTc observé dans l'étude approfondie QTc et des rapports anecdotiques d'arythmies liées à l'ondansétron [5, 39]. En août 2012, l'EMA a limité la dose intraveineuse unique maximale d'ondansétron à 16 mg, par perfusion d'au moins 15 minutes, avec une prudence particulière chez les patients atteints d'affections cliniques pouvant augmenter le risque. Les patients à risque élevé devraient être dépistés au moyen d'ECG de routine, en particulier lorsqu'ils reçoivent de l'ondansétron par voie intraveineuse. En revanche, le palonosétron a le meilleur profil d'innocuité parmi les trois antagonistes des récepteurs 5-HT₃, parce qu'il a la plus forte concentration en CI₅₀ au récepteur 5-HT₃ et presque la plus faible concentration plasmatique thérapeutique. Le granisétron a également un profil d'innocuité très satisfaisant. Toutefois, aux États-Unis, une mise en garde a été ajoutée sur la notice pour l'administration orale et intraveineuse, conseillant de l'utiliser avec prudence chez les patients présentant des arythmies préexistantes ou des troubles de la conduction cardiaque, car cela pourrait entraîner des conséquences cliniques. Sur un total de 240 sujets recrutés, ni le granisétron intraveineux, ni le granisétron transdermique n'ont été associés à des effets statistiquement ou cliniquement significatifs sur l'intervalle QTc ou d'autres variables électrocardiographiques. Ces résultats suggèrent que le granisétron a un effet minimal, s'il y a lieu, sur l'intervalle QTc [39].

L'effet du palonosétron sur les modifications de l'ECG a été évalué dans des essais de phase 2 et de phase 3, et les auteurs ont signalé que les modifications de l'intervalle QTc (de -6 à +11 ms) avaient une importance clinique minimale. L'impact minimal du palonosétron sur la prolongation de l'intervalle QTc a été signalé dans trois petites études prospectives, spécifiquement conçues pour évaluer l'impact du palonosétron sur les résultats électrocardiographiques. Les résultats de ces études ont confirmé l'innocuité cardiaque du palonosétron [16]. Aucune anomalie significative liée au traitement n'a été observée dans les valeurs de laboratoire ou les enregistrements des ECG, et le palonosétron était semblable aux comparateurs en ce qui concerne ces paramètres. Il est important de noter que les augmentations de l'intervalle QTc par rapport aux valeurs initiales avec le palonosétron dosé à 0,25 ou 0,75 mg (1-3,4 ms) étaient non significatives et semblables à celles observées avec l'ondansétron (5 ms) ou le dolasétron (5,4 ms) [37]. L'administration du palonosétron en intraveineux n'a pas été associée à un allongement de l'intervalle QT corrigé individuellement dans une étude approfondie QT/QTc, conformément aux directives E14 de l'ICH (International

Conference on Harmonisation) [35]. Cependant, même si des changements dans l'ECG ont pu être observés chez tous les antagonistes, dans la plupart des cas, aucune différence cliniquement significative n'a été observée [17, 32].

Partie 2 : Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃, état des lieux précliniques et cliniques dans les troubles cognitifs.

Le système sérotoninergique a longtemps été décrit comme un système modulateur, caractérisé par une large distribution anatomique dans le système nerveux central, suggérant un manque de spécialisation fonctionnelle. Cependant, ce système joue un rôle majeur dans la cognition à travers une interaction avec le système cholinergique dans le cerveau [48]. Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ inhibent la libération d'acétylcholine stimulée par voie sérotoninergique dans le cortex et l'hippocampe dorsal, tandis que la libération basale d'acétylcholine reste intacte. Le cortex et l'hippocampe sont des structures importantes pour le fonctionnement de la mémoire [5]. La capacité des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ à faciliter la transmission cholinergique dans le tissu cérébral cortical a soulevé la possibilité que ces composés puissent être efficaces dans le traitement du dysfonctionnement cholinergique, avec l'implication importante d'un traitement possible du dysfonctionnement cholinergique dans le vieillissement, la maladie d'Alzheimer et autres troubles similaires [19, 49].

1. Evaluation de la cognition *in vivo*

Pour évaluer la cognition *in vivo*, les modèles de rat et de souris sont largement utilisés. De nombreux tests et protocoles ont été développés dont les plus courant sont présentés ici.

1.1. Le labyrinthe d'eau de Morris

De nombreux labyrinthes d'eau ont été développés, mais celui que l'on appelle « le labyrinthe d'eau de Morris » a été développé par Richard Morris. Le labyrinthe a été conçu comme une méthode d'évaluation de l'apprentissage spatial ou territorial et sera appelé ici le labyrinthe d'eau de Morris (MWM). Morris a décrit les procédures de base en 1984 [50] et a ensuite ajouté des détails et des procédures pour évaluer les formes d'apprentissage et de mémoire connexes [51].

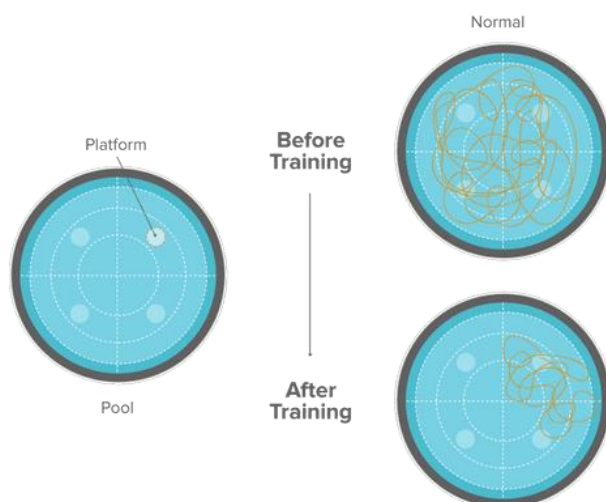


Figure 10 : Représentation schématique du labyrinthe d'eau de Morris. A gauche : représentation du labyrinthe d'eau de Morris avec les quadrants et la plateforme. A droite : le tracé orange représente le parcours de l'animal pour rejoindre la plateforme avant entraînement et après, où le trajet est beaucoup plus direct [52].

Le labyrinthe d'eau de Morris est en fait un bassin d'eau circulaire, divisé de façon imaginaire en 4 quadrants égaux (figure 10). La plateforme est positionnée au milieu de l'un des quadrants. On peut soit garder la plateforme dans un quadrant pour tous les essais, soit tester un quart des animaux avec la plateforme dans chacun des quadrants. On peut même utiliser huit positions de plateforme différentes. La plateforme est généralement située à mi-chemin entre le centre et le mur, quel que soit le quadrant choisi, bien que d'autres arrangements soient parfois utilisés [51].

1.1.1. Acquisition spatiale

L'apprentissage du lieu ou de l'espace est la procédure la plus élémentaire du MWM. Le concept sous-jacent est que l'animal doit apprendre à utiliser des repères distaux pour naviguer directement vers la plateforme cachée lorsqu'il commence à partir de différents endroits aléatoires autour du périmètre du réservoir (figure 10). La plupart des protocoles utilisent quatre emplacements de départ : nord (N), sud (S), est (E) et ouest (O) du bassin. Les animaux sont soumis à une série d'essais quotidiens en utilisant une série de points de départ aléatoire ou semi-aléatoire. Les essais d'apprentissage se déroulent sur plus de 5 jours, à raison de 4 essais par jour. L'intervalle de temps entre les essais peut varier de 10 – 15 secondes à 5 -15 minutes. Pour évaluer la mémoire de référence à la fin de l'apprentissage, la méthode la plus courante consiste à faire un essai exploratoire 24 heures après le dernier jour d'acquisition. Dans le cas de certaines procédures, l'essai exploratoire est effectué immédiatement après le dernier essai d'apprentissage. Cependant, cela ne permet pas de faire la différence entre la mémoire à court et à long terme, car elle peut refléter la mémoire de la session d'apprentissage la plus récente. Un long intervalle entre le dernier essai d'entraînement et l'essai exploratoire est essentiel si la mémoire de référence doit être déterminée indépendamment de la mémoire de la dernière session d'apprentissage [51].

D'autres essais exploratoires sont parfois intercalés pendant la phase d'apprentissage : ils sont souvent donnés avant le premier essai d'apprentissage de la journée. Ces essais supplémentaires peuvent aider à déterminer le taux de consolidation de la mémoire, car ils permettent d'observer l'émergence graduelle d'une préférence pour le quadrant cible (où se situe la plateforme) au fil des jours. Toutefois, il faut faire attention de ne pas effectuer trop d'essais exploratoires, car ils peuvent ralentir le rythme de l'apprentissage [51].

1.1.2. Inversion spatiale

Il est de plus en plus courant et souvent instructif de déplacer la plateforme dans un autre quadrant (habituellement le quadrant opposé) et de faire effectuer aux animaux une autre série de quatre essais par jour pendant cinq jours supplémentaires. C'est ce qu'on appelle souvent l'apprentissage par inversion, bien que le terme soit un abus de langage. L'apprentissage inversé dans le MWM révèle si les animaux sont capables ou non « d'effacer » l'apprentissage initial de la position de la plateforme et d'acquérir un nouveau chemin direct vers sa nouvelle position. Les modèles de suivi révèlent généralement que les souris nagent

jusqu'à la position précédente de la plateforme d'abord, puis commencent à chercher la nouvelle cible en suivant un modèle de voûte. Même après de multiples essais, les souris n'ont pas entièrement abandonné leur stratégie d'apprentissage initiale et commencent les essais en se dirigeant d'abord vers la position initiale de la plateforme, puis tournent et nagent plus directement vers le nouvel objectif. En revanche, les rats changent rapidement leur stratégie de recherche vers la nouvelle position. Comme dans la phase d'acquisition, à la fin de la phase d'inversion, un essai exploratoire d'inversion est donné 24 heures plus tard [51].

1.1.3. Double inversion spatiale avec une plateforme plus petite

De nombreuses variations peuvent être ajoutées aux procédures de base du MWM et elles peuvent ajouter des informations précieuses pour comprendre les déficits observés ou même démasquer des déficits plus subtils qui ne sont pas observés lors de l'acquisition ou de l'inversion de l'apprentissage. Une procédure qui s'est avérée efficace a été de déplacer à nouveau la plateforme, soit vers l'objectif initial (double inversion) ou vers un quadrant différent (décalage), mais avec un changement supplémentaire : l'utilisation d'une plateforme plus petite. Cette réduction de la taille de la plateforme met à l'épreuve les exigences de précision spatiale de l'animal et a révélé les effets de certains médicaments ou de doses thérapeutiques que l'on ne voit pas lors de l'acquisition ou de l'inversion. Un essai exploratoire à plateforme réduite est également donné 24 heures après la fin de cette phase d'essai [51].

1.1.4. Apprentissage répété

Une autre procédure consiste à effectuer un ensemble de phases d'inversion ou de décalage en série. Cela permet d'examiner la flexibilité des animaux dans leur capacité à apprendre à travers les multiples phases du nouvel apprentissage. Les données montrent également les effets du déplacement de la plateforme dans différents quadrants. Par exemple, si la plateforme est déplacée vers un quadrant adjacent, le nouvel apprentissage est plus rapide que si elle est déplacée vers un quadrant opposé [51].

1.1.5. Mémoire spatiale de travail

Les procédures décrites ci-dessus concernent l'évaluation de l'apprentissage indépendant de l'essai (c'est-à-dire que l'objectif ne change pas d'un essai à l'autre pendant une phase de test donnée). Pour évaluer l'apprentissage et la mémoire liés au travail ou à l'essai, une méthode différente est nécessaire. Dans cette procédure, également appelée appariement à l'échantillon, la plateforme est déplacée chaque jour et l'animal reçoit deux essais (ou plus) par jour. Chaque jour, le premier essai est un essai type. Au cours cet essai type, l'animal doit apprendre le nouvel emplacement de la plateforme par essais et erreurs. L'essai 2 (ou tout essai successif) est l'essai test ou l'essai d'appariement dans lequel les mémorisations entre l'essai 1 et l'essai 2 sont mesurées. L'essai 2 commence après un intervalle de 15 secondes entre les essais. Si l'animal se souvient de l'essai type, il parcourra un chemin plus court jusqu'à l'objectif. Comme la plateforme est déplacée quotidiennement,

aucun apprentissage de la position de la plateforme du jour précédent peut être transféré au problème du jour suivant. Par conséquent, le rappel chaque jour pendant l'essai 2 est fonction de l'essai type de ce jour-là et les mesures seulement sur la mémoire de travail ou temporaire [51]. Cette procédure est largement utilisée dans l'évaluation *in vivo* des troubles cognitifs.

1.2. L'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y ou en T

Le paradigme de l'alternance spontanée est basé sur la tendance naturelle des rongeurs à explorer un nouvel environnement. Le labyrinthe en Y se compose de trois bras identiques placés à 120° autour d'une plateforme triangulaire équilatérale au centre (figure 11). Lorsqu'elles sont placées dans le labyrinthe en Y comme nouvel environnement pour un court essai de 5 minutes, les souris de type sauvage préfèrent explorer le bras le moins récemment visité, et ont donc tendance à alterner les visites entre les trois bras. Pour réussir à explorer les trois bras l'un après l'autre, la souris doit tenir un registre permanent des bras les plus récemment visités et mettre à jour continuellement ce registre. Par conséquent, l'alternance spontanée dans le maillage Y est considérée comme un indice de mémoire active rétrograde. Une souris dont la mémoire de travail est altérée ne se souvient plus du bras qu'elle vient de visiter et présente donc une alternance spontanée réduite. Cette tâche implique également des aspects d'attention liés à la mémoire de travail active et au biais de rotation locomotrice. Enfin, la nouveauté du labyrinthe génère également un état d'anxiété que l'on peut évaluer en relevant le temps que prend la souris pour sortir du bras de départ et explorer les autres parties du labyrinthe en Y (latence) [53].



Figure 11 : Photographie d'une souris explorant le labyrinthe en Y [53].

Le maillage en T ou labyrinthe en T suit le même principe que le labyrinthe en Y. C'est un appareil surélevé ou fermé sous la forme d'un T placé horizontalement (figure 12). Les animaux partent de la base du T et peuvent choisir l'un des bras à l'autre extrémité de la tige. Si deux essais se succèdent rapidement, le rongeur a tendance, lors du deuxième essai, à

choisir le bras non visité auparavant. C'est ce qu'on appelle « l'alternance spontanée ». L'alternance spontanée est très sensible au dysfonctionnement de l'hippocampe, mais d'autres structures cérébrales sont également impliquées. Chaque essai doit être réalisé en moins de 2 minutes, mais le nombre total d'essais requis varie en fonction des exigences statistiques et scientifiques [54].

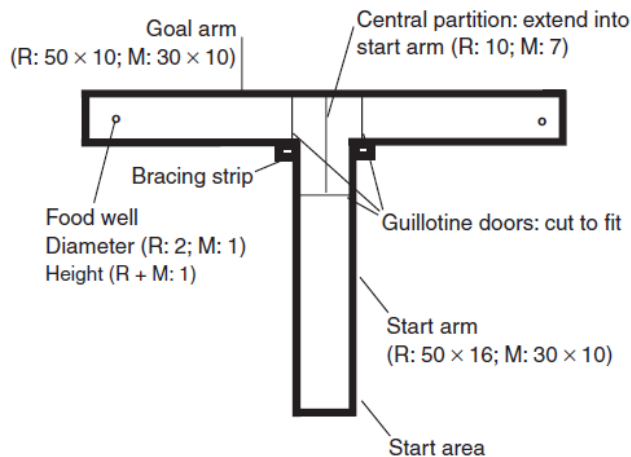


Figure 12 : Schéma du labyrinthe en T. Les dimensions sont en cm, R : rat, M : souris [54].

1.3. Test de la mémoire de reconnaissance de nouvel objet

Le test de la mémoire de reconnaissance d'objet est ce qu'on appelle également le test NOR pour « Novel Object Recognition ». La tâche de reconnaissance d'objet est basée sur la tendance naturelle des rongeurs à passer plus de temps à explorer un stimulus inconnu qu'un stimulus familier, en l'occurrence le stimulus étant un objet [55]. La procédure de reconnaissance d'objet décrite ici est également un paradigme discriminatoire. Le protocole suivant avec trois phases d'échantillonnage et des intervalles entre les essais de 15 minutes entre les phases d'échantillonnage a été décrit pour la première fois par Genoux et al. en 2002 [56].

L'essai se déroule dans des petites cages car, en plus du temps d'habituation dans la cage vide avant le protocole, elles augmentent le temps total d'investigation des objets, ce dernier pouvant être très court. Les objets choisis sont de petits objets, en métal ou en plastique, car les gros objets peuvent être anxiogènes. Les objets sont fixés au fond de la cage pour s'assurer qu'ils ne peuvent pas être déplacés par les souris. D'après les expériences décrites, les objets n'ont aucune signification naturelle pour les souris (figure 13). Toute préférence naturelle pour l'un des objets a été exclue par un test de préférence naturelle. Cela signifie que tous les objets utilisés pour l'expérience sont présentés aux souris par paires dans la cage, et le temps passé à étudier chaque objet pendant ces présentations par paires est noté. L'analyse statistique de ces temps d'investigation des objets par les tests t de Student ne révèle pas de différences significatives, ce qui suggère que tous les objets choisis étaient d'un intérêt comparable pour les animaux. C'est important parce qu'il est nécessaire de

s'assurer qu'un objet nouveau est davantage exploré parce qu'il est nouveau et non parce qu'il est naturellement plus intéressant pour l'animal de par sa forme ou sa texture par exemple [53].

Le jour de l'expérience, pendant trois essais, la souris testée est autorisée à explorer deux objets identiques placés dans l'arène pendant 5 minutes, avec des intervalles entre les essais de 15 minutes. Pendant tous les intervalles entre les essais et les périodes de rétention, la souris est gardée individuellement dans une cage jusqu'au prochain essai. Après le troisième essai, un intervalle de rétention de 3 heures commence et se termine par un test de discrimination au cours duquel l'un des objets familiers rencontrés précédemment est remplacé par un nouvel objet inconnu. Après ce test de discrimination, un autre intervalle de rétention de 24 heures commence, terminé par un test de discrimination, au cours duquel un nouvel objet inconnu est présenté en même temps que l'objet familier (figure 13). Pour exclure tout effet de position, la position du nouvel objet (gauche ou droite) est compensée dans chaque groupe expérimental. Les temps d'exploration sont toujours enregistrés par un observateur formé et aveugle au génotype à l'aide d'un ordinateur de poche, et les données sont analysées [53].

Il est important de choisir un nouvel objet inconnu pour le deuxième test de discrimination afin de s'assurer de la nouveauté de l'objet inconnu pendant chaque test de discrimination. Le même type d'objet est toujours utilisé pour l'objet familier. Pour que ce test soit efficace, il faut produire plusieurs copies des objets et toutes les cages fraîches équipées des objets nécessaires pour une journée de test doivent être préparées à l'avance, utilisées une seule fois et nettoyées soigneusement avec un désinfectant à la fin de la journée du test [53].



Figure 13 : Les trois configurations d'arène de test pour la reconnaissance de nouvel objet. Deux objets identiques sont présentés pour les trois essais d'échantillonnage (cage de droite). Un objet familier est remplacé par un objet nouveau pour le premier essai de discrimination (3 heures) (petite brique blanche ; cage centrale). L'objet familier et un deuxième objet nouveau sont présentés pour un deuxième essai de discrimination après 24 heures (cage de gauche). En haut : La souris explore le premier objet inédit (petite brique blanche). En bas : La souris explore le deuxième objet inédit (petit piquet bleu en forme de cône) [53].

1.4. Test de reconnaissance spatiale d'objet

Tout comme le test NOR, le test de reconnaissance spatiale d'objet est largement utilisé pour étudier les mécanismes neurobiologiques liés à la mémoire à long terme. La mesure principale est le temps consacré à l'exploration des deux objets au cours de l'essai. Elle repose sur la préférence innée d'un rongeur pour la nouveauté. Les animaux qui se souviennent de l'expérience d'entraînement originale exploreront de préférence l'objet déplacé par rapport à l'objet non déplacé [57]. Deux objets familiers identiques sont placés dans la cage et l'animal peut explorer son environnement. L'un de ces objets est ensuite déplacé à un autre endroit et l'animal peut à nouveau explorer. Dans des conditions normales, l'animal explorera l'objet qui a été déplacé avec plus d'attention que celui qui est laissé en place (figure 14). Ceci est connu pour être dépendant de l'hippocampe [58].

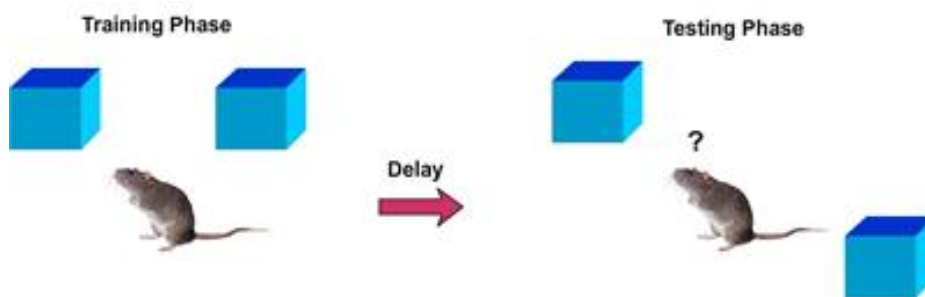


Figure 14 : Test de reconnaissance spatiale. Deux objets identiques et familiers sont présentés à l'animal. Après un intervalle de temps, un des deux objets est déplacé et le temps d'exploration de l'objet déplacé est mesuré [58].

Les expériences typiques de mémoire à court terme varient dans le temps séparant l'entraînement et l'examen de 5 minutes à quelques heures. La mémoire à long terme des rongeurs est généralement examinée de 24 à 48 heures après l'entraînement (figure 15). La durée de la séance d'entraînement et le délai entre l'entraînement et l'évaluation sont tous deux d'une importance cruciale. Afin d'éviter à la fois les effets de plancher et de plafond, il convient d'examiner attentivement si la manipulation expérimentale souhaitée est susceptible d'améliorer ou d'entraver la formation de la mémoire. Une seule séance d'entraînement de 10 minutes est suffisante pour générer une mémoire robuste à court et à long terme et peut être utilisée pour examiner les troubles de la formation de la mémoire. Cependant, l'entraînement de 10 minutes n'est pas le mieux adapté à l'examen des améliorations potentielles de la mémoire à long terme au moment typique de l'examen de 24 heures [57].

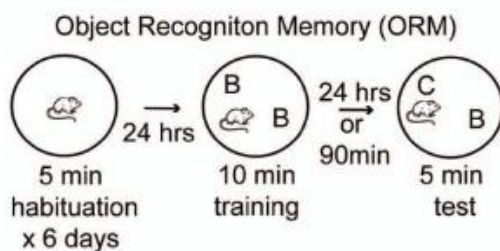


Figure 15 : Protocole de test de reconnaissance spatiale [57].

2. Effets des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans les troubles cognitifs

L'avènement des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ et la mise en évidence du lien entre système sérotoninergique et cognition (par le biais du système cholinergique) a permis à la recherche de s'intéresser aux effets de ces antagonistes dans les troubles cognitifs. Néanmoins, les données présentées dans cette thèse sont loin d'être exhaustives. En effet, ces études sont pour la majorité concomitantes avec la mise sur le marché de ces antagonistes (dans les années 1990), et beaucoup d'études ont été publiées avec des méthodologies diverses et variées dans les modèles précliniques utilisés. Les données présentées ne sont donc ici qu'un aperçu du potentiel des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans l'amélioration des troubles cognitifs.

2.1. Etudes *in vivo* des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans les troubles cognitifs

Carey et al. ont investigué sur les effets de la scopolamine sur l'acquisition dans une tâche de discrimination d'objets chez le ouistiti et la capacité de l'ondansétron (0.01 – 1 µg/kg, SC) de surmonter ces déficiences cognitives. Ils ont tout d'abord validé un modèle reproduisant des déficiences cognitives grâce à l'administration de la scopolamine. En effet, elle entraîne des déficits cognitifs chez les ouistitis dans la tâche de discrimination d'objets. La deuxième partie de l'étude concerne l'influence de l'ondansétron sur la déficience causée par la scopolamine dans la tâche de discrimination sur l'acquisition d'un objet. L'ondansétron (0,01 ; 0,1 ou 1 µg/kg, SC) ou une solution saline ont été administrés trois fois dans les 24 h précédant la tâche d'acquisition. Le traitement à l'ondansétron (0,1 ou 1 µg/kg, SC) a empêché la scopolamine d'altérer l'acquisition des tâches. La performance de l'ondansétron et scopolamine chez les animaux n'était pas significativement différente ($p > 0,05$) de celle des ouistitis traités au sérum physiologique, mais significativement meilleure ($p < 0,05$) que celle des animaux traités par solution saline et scopolamine. La capacité de l'ondansétron à prévenir l'altération induite par la scopolamine est également révélée par l'examen des courbes d'apprentissage construites pour cette tâche. Le prétraitement à l'ondansétron (0,1 ou 1 µg/kg, SC) a entraîné un déplacement marqué vers la gauche des courbes d'apprentissage des ouistitis traités à la scopolamine par rapport à celles des traitements à base de solution saline ou de scopolamine correspondants. L'administration d'ondansétron n'a pas réussi à influencer la performance des ouistitis traités au sérum physiologique dans le paradigme décrit. La principale conclusion de cette étude est qu'une déficience cognitive cholinergique spécifique du ouistiti peut être renversée par un antagoniste sélectif des récepteurs 5-HT₃, l'ondansétron [59].

Dans une étude de Fontana et al., des rats déficients dû à l'injection d'atropine induisant une hypofonction cholinergique, et des rats âgés ont été utilisés, ce qui a fourni des modèles pharmacologiques et naturalistes de déficience cognitive pour évaluer les

antagonistes 5-HT₃. L'atropine provoque un déficit sévère de la performance dans les tests en labyrinthe d'eau de Morris. Au deuxième jour d'essai, les groupes traités par l'ondansétron à raison de 0,03 – 1 mg/kg présentaient des temps de latence à regagner la plateforme significativement plus courts. Cet effet n'a pas été retrouvé à des doses plus faibles et plus élevées (0,003 ; 0,01 et 3 mg/kg) (figure 16). De plus, l'ondansétron n'a pas eu d'effet sur la vitesse de nage quelle que soit la dose testée [60].

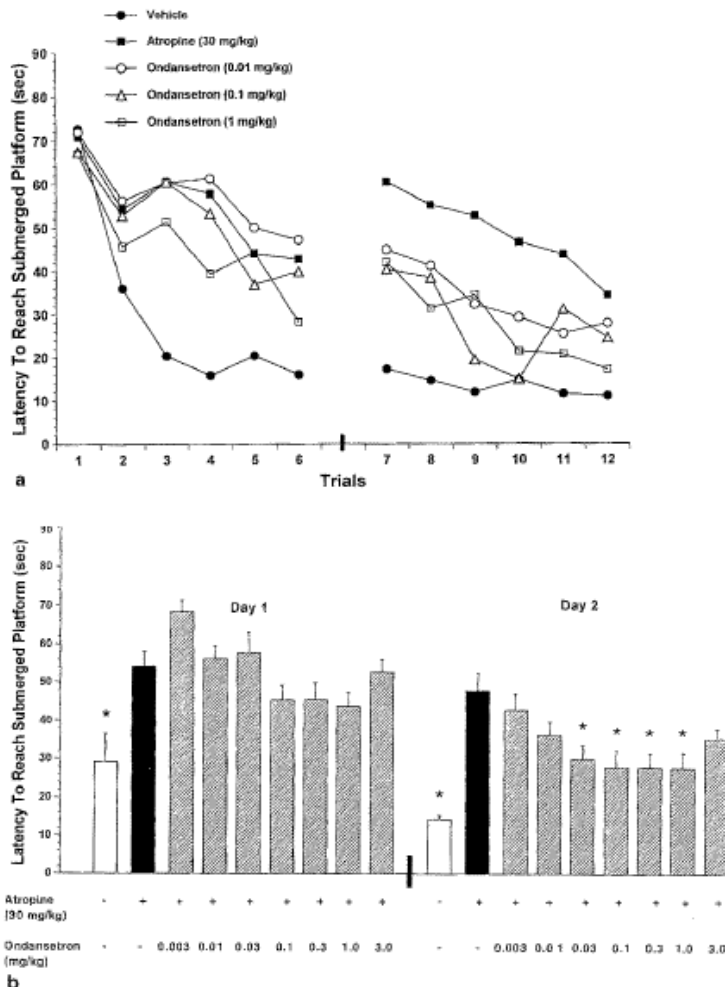


Figure 16 : Effet de l'ondansétron sur la performance des rats traités par l'atropine en labyrinthe de d'eau de Morris. Le graphique du haut représente l'acquisition dans l'ensemble des essais pour le véhicule, l'atropine seul et les rats traités à l'atropine recevant soit 0,01, 0,1 ou 1 mg/kg d'ondansétron. Le graphique du bas représente la latence moyenne pour chaque jour d'essais pour le véhicule, l'atropine seule et pour chaque dose d'ondansétron utilisées [60].

L'ondansétron améliore de manière significative les performances en labyrinthe d'eau de Morris chez les rats déficients liés à l'âge (figure 17). Dans l'ensemble, le groupe déficients liés à l'âge ayant reçu de l'ondansétron à 0,1 mg/kg a présenté une latence à atteindre la plateforme significativement plus courte que le groupe des véhicules le jour 2, mais pas le jour 1, bien que leur performance n'ait jamais atteint le niveau des rats âgés et non déficients. L'ondansétron n'a eu aucun effet significatif sur la latence chez les animaux âgés non déficients. De plus, l'ondansétron n'a pas significativement affecté la vitesse de nage chez les

rat âgés déficients et non déficients. L'ondansétron a amélioré la performance, c'est-à-dire l'acquisition et la mémoire, chez les jeunes rats adultes déficients dû à l'atropine et chez les rats âgés présentant des déficits cognitifs démontrés dans la tâche de navigation spatiale du labyrinthe d'eau de Morris. Aucun effet n'a été observé à des doses inférieures à 0,03 mg/kg et une perte d'efficacité a été observée à 3 mg/kg [60].

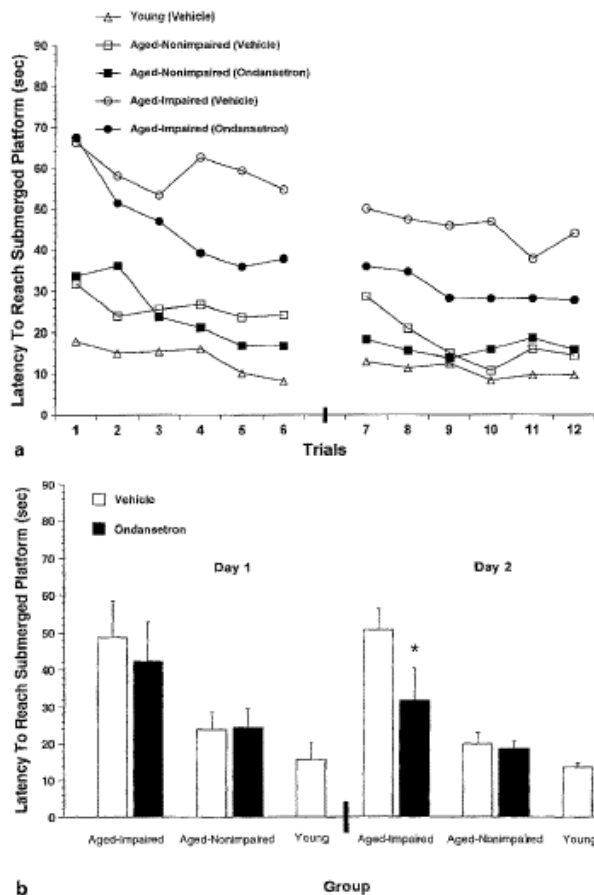


Figure 17 : Effets de l'ondansétron (0.1 mg/kg) sur des rats âgés déficients et non déficients en labyrinthe d'eau de Morris. Le graphique supérieur représente l'acquisition à travers les essais pour les rats jeunes, âgés déficients (véhicule ou ondansétron) et les rats âgés non déficients (véhicule ou ondansétron). Chaque valeur est la latence moyenne pour dix rats. Le graphique inférieur représente la latence moyenne des essais pour chaque jour d'essai dans chaque groupe de rats [60].

Pitsikas et al. ont étudié les effets de l'ondansétron et du tropisétron sur la cognition chez le rat en labyrinthe d'eau de Morris. Les rats traités avec 1µg/kg de tropisétron et scopolamine ont été aussi déficients que le groupe contrôle. Les animaux qui ont reçu 10 ou 30 µg/kg de tropisétron et scopolamine ont montré une performance globale significativement meilleure que le groupe contrôle scopolamine et véhicule. Les latences d'échappement et les distances parcourues ont cependant été plus faibles comparées au groupe contrôle. La scopolamine a entraîné une augmentation constante de la vitesse de nage chez tous les rats par rapport aux animaux témoins, qui n'a pas été compensée par un traitement au tropisétron. Pendant l'essai d'exploration spatiale, les animaux contrôles et les rats traités par tropisétron seul nageaient de manière préférentielle dans le quadrant cible (où

se trouve la plateforme à atteindre) comparé aux trois autres quadrants restant. Les rats traités à la scopolamine n'ont montré de préférence pour aucun des quadrants. Au contraire, les rats traités par scopolamine et tropisétron ont nagé de manière préférentielle dans le quadrant cible en comparaison avec les autres quadrants.

L'ondansétron n'a pas contrecarré les effets de la scopolamine, quelle que soit la dose administrée. De plus, les temps d'évasion et les distances de nage des animaux traités à la scopolamine et ondansétron étaient nettement pires que ceux des rats traités par véhicule et ondansétron. L'administration de scopolamine a induit une augmentation significative de la vitesse de nage des rats par rapport aux témoins relatifs, qui n'a pas été contrecarrée par un traitement à l'ondansétron. Au cours de l'essai d'exploration spatiale, les rats contrôles et les animaux traités par l'ondansétron seul ont passé significativement beaucoup plus de temps dans le quadrant cible que dans les trois autres quadrants. En revanche, la scopolamine a entraîné une altération importante de ce paramètre qui n'a pas été atténuée par le traitement à l'ondansétron.

Les déficiences de la navigation spatiale induites par la scopolamine ont été combattues avec succès par le tropisétron, mais pas par l'ondansétron. L'ondansétron et le tropisétron présentent des effets différents sur la cognition [61].

Naghdi et al. ont mené une série d'expériences pour étudier localement la participation des récepteurs 5HT₃ dans l'apprentissage spatial. Pour cela, des injections intrahippocampiques de granisétron ont été utilisés chez des rats réalisant une tâche de discrimination spatiale en labyrinthe d'eau. Pendant l'essai d'exploration spatiale en labyrinthe d'eau de Morris (figure 18), on constate une augmentation significative de la latence (temps requis par le rat pour rejoindre la plateforme) et de la distance parcourue des animaux ayant reçu 0,25 µg de granisétron dans 0,5 µl de véhicule par côté de l'hippocampe, comparativement à celles du groupe traité au véhicule (salin). Il n'y a pas eu de différence significative entre les groupes mais à l'intérieur du groupe au sujet de la vitesse de nage. Dans une version non spatiale du labyrinthe d'eau de Morris, les animaux traités avec le granisétron n'ont montré aucune différence significative dans la latence et la distance parcourue pour trouver la plateforme visible comparé au groupe contrôle. De plus, le granisétron n'affecte pas l'activité locomotrice [62].

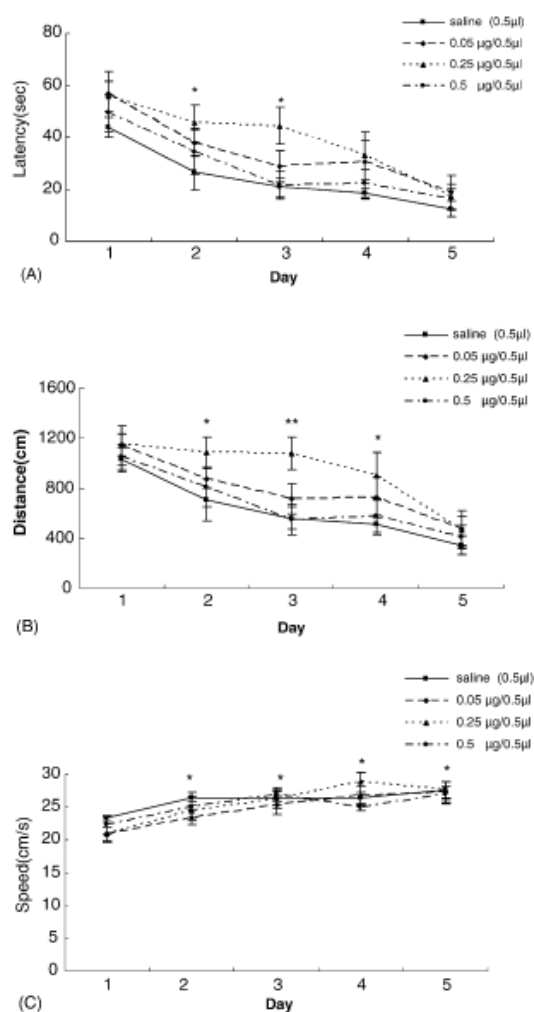


Figure 18 : Effets de l'injection intrahippocampique de granisetron sur (A) les temps d'évasion, (B) les distances parcourues et (C) les vitesses de nage dans la tâche en labyrinthe d'eau de Morris [62].

L'effet du granisetron sur l'apprentissage spatial est particulièrement intéressant dans cette étude, car il ne correspond pas aux preuves selon lesquelles les antagonistes des récepteurs 5HT₃ améliorent l'apprentissage et la mémoire. Cet écart pourrait s'expliquer par les différents tests comportementaux utilisés (différentes tâches cognitives) et la routine d'injection (intrahippocampique ou systémique). Une autre explication est l'effet des récepteurs présynaptiques sur les neurones cholinergiques pour inhiber la libération d'acétylcholine dans la région hippocampique CA1. On a constaté que l'administration d'agonistes de 5HT₃ augmentait la fonction cholinergique de l'hippocampe et cet effet a été éliminé par l'administration concomitante d'un antagoniste des récepteurs 5HT₃. Il s'agit du premier rapport indiquant que l'antagonisme des récepteurs 5HT₃ entraîne un déficit des processus cognitifs. Cependant, il faut considérer que les mécanismes précis par le biais desquels le granisetron cause une dégradation de l'apprentissage spatial n'est pas clairement établi [62].

L'inactivation des récepteurs 5-HT₃ a montré qu'elle augmentait la fréquence du rythme thêta de l'hippocampe et l'ampleur et la durée de la potentialisation à long terme dans

le champ CA1 de l'hippocampe de rats en mouvement libre. Ces effets neurophysiologiques ont été corrélés avec la discrimination améliorée dans les tâches de mémoires à la fois spatiale et olfactive, comportements qui requièrent l'intégrité de l'hippocampe. Il convient de souligner ici combien la combinaison d'approches électrophysiologiques et comportementales peut être fructueuse chez les animaux en mouvement libre. Les récepteurs 5-HT₃ sont largement distribués dans le cortex et dans tous les sous-domaines de l'hippocampe. Des récepteurs 5-HT₃ ont été détectés dans les interneurons GABAergiques dans le cortex et l'hippocampe de rat. Il a été démontré que dans le cortex entorhinal (olfaction et mémoire), les récepteurs 5-HT₃ (probablement situés dans les interneurons GABAergique) inhibent activement la libération d'acétylcholine. En conséquence, les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ exercent un effet désinhibiteur indirect de la libération d'acétylcholine. En d'autres termes, l'augmentation de la libération d'Ach (acétylcholine) est le résultat de l'inhibition des récepteurs 5-HT₃ situés sur les interneurons GABAergiques. Ce modèle de contrôle à médiation par les récepteurs 5-HT₃ d'une influence inhibitrice sur les neurones cholinergiques et de modulation du rythme thêta de l'hippocampe et de la potentialisation à long terme pourrait étayer la propriété dite « d'amélioration de la mémoire » de divers antagonistes des récepteurs 5-HT₃ [19, 48].

Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ facilitent la transmission cholinergique dans la partie corticale du cerveau. Il est peu probable que les doses d'ondansétron utilisées dans les études chez le rongeur et le ouistiti (10 ng/kg IP chez le rat et la souris et 1 et 10 ng/kg SC chez le ouistiti) soient suffisantes pour augmenter la libération d'Ach de manière centrale. Des premiers résultats suggèrent que l'ondansétron peut améliorer les performances cognitives chez les rongeurs et le ouistiti. Cependant, il a été rapporté que l'ondansétron n'a pas réussi à contrecarrer les changements des EEG chez les rats âgés ou déficients dûs à la scopolamine et Jakala et al. [63] n'a pas pu observer une amélioration de la mémoire spatiale de travail dans la tâche en labyrinthe d'eau de Morris chez les rats. Le groupe qui a été le premier à signaler les effets d'amélioration cognitive des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ a fait remarquer que la littérature préclinique n'est plus cohérente dans ce contexte. En effet, ces auteurs ont signalé que l'ondansétron n'avait pas réussi à atténuer un déficit induit par la scopolamine dans la tâche du labyrinthe de Stone (labyrinthe composé de 14 unités de labyrinthe en T) et ont discuté de la variabilité apparente liée à la tâche et à la dose des effets d'amélioration cognitive de ces composés. Ils mettent en évidence l'hétérogénéité des substrats neurochimiques qui sous-tendent la régulation des processus de mémoire et de l'effet dose-dépendance inhabituel des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans ce contexte. Ces résultats sont quelque peu encourageants, mais des données cliniques publiées plus positives sont nécessaires. S'il s'agit de composés cliniquement efficaces sur le plan de l'amélioration cognitive, l'observation selon laquelle les récepteurs 5-HT₃ sont inaltérés dans l'analyse post-mortem du cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer est prometteuse pour une intervention thérapeutique. Néanmoins, dans ce domaine important, peu de données cliniques sont disponibles [49].

2.2. Etudes cliniques

Malgré des résultats favorables dans des études chez l'animal, l'ondansétron n'a eu aucun effet significatif sur la performance cognitive basale et/ou sur les effets cognitifs et/ou comportementaux induits par la scopolamine chez des volontaires âgés ou jeunes sains [25].

L'étude de Brooks et al. porte sur l'influence de l'ondansétron sur les réponses cognitives, comportementales et physiologiques induites par la scopolamine chez un groupe témoin de 10 sujets jeunes sains. La dose utilisée d'ondansétron était de 0,15 mg/kg en IV. L'ajout de l'ondansétron à la scopolamine n'a affecté seulement qu'un test cognitif sur 12. En effet, seule la dénomination d'objets a été significativement améliorée après traitement par ondansétron. Ces résultats n'appuient pas l'idée que les fonctions liées aux récepteurs 5-HT₃ modulent les déficits cognitifs induits par les anticholinergiques chez les jeunes volontaires sains, du moins pas avec les doses utilisées dans cette étude [64, 65].

Plus récemment, un essai clinique multicentrique, en double aveugle, *versus* placebo a été mis en place par Dysken et al. pour évaluer l'efficacité et la sécurité de l'ondansétron chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Les doses administrées étaient de 20 µg/jour et 100 µg/jour d'ondansétron dans le traitement des déficits cognitifs chez 185 patients sur 12 et 24 semaines de traitement. Bien que l'ondansétron ait été bien toléré sans effets indésirables majeurs, l'étude n'a pas montré d'amélioration significative de la cognition [66].

2.3. Antagonistes des récepteurs 5-HT₃ : troubles cognitifs et maladie d'Alzheimer

Le sous-type $\alpha 7$ des récepteurs nicotiniques à acétylcholine, nAChRs, un sous-type majeur des nAChRs dans le cerveau, est un récepteur homopentamérique fonctionnel, car les canaux ioniques à acétylcholine s'ouvrent lorsque cinq sous-unités $\alpha 7$ identiques se rassemblent. Les nAChRs $\alpha 7$ sont localisées en présynaptique, y compris sur les projections cholinergiques à partir du cerveau antérieur basal, où il y a une libération de neurotransmetteurs dépendants du calcium. De plus, les nAChRs $\alpha 7$ sont localisées de façon postsynaptique sur des interneurons inhibiteurs de l'acide gamma-aminobutyrique, particulièrement dans l'hippocampe et le cortex cérébral. L'accumulation de preuves suggère que le nAChR $\alpha 7$ fait partie intégrante de la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer et, par conséquent, que les agonistes de $\alpha 7$ nAChR pourraient avoir un potentiel thérapeutique pour le traitement de la déficience cognitive légère et de la maladie d'Alzheimer [67, 68, 69]. Malgré la présence de quantités élevées de protéines précurseurs de l'amyloïde (APP) et de dépôts d'amyloïde β (A β) dans le cerveau, la suppression des sous-unités nAChR $\alpha 7$ dans le modèle murin de la maladie d'Alzheimer protège contre le dysfonctionnement de l'intégrité synaptique (pathologie et plasticité) et la fonction cognitive. Dans l'ensemble, la perturbation de l'interaction A β -nAChR $\alpha 7$ peut représenter une nouvelle approche pour réduire les déficits

fonctionnels liés à l'A β , la neurodégénérescence et peut-être les caractéristiques neuropathologiques de la maladie d'Alzheimer (figure 19) [67].

En plus de ses propriétés antagonistes des récepteurs 5-HT₃, le tropisetron est aussi un agoniste partiel des récepteurs nACh α 7. À l'aide d'une banque de composés cliniques, Spilman et al. [69] ont identifié le tropisetron comme un agent augmentant l'APP α soluble (sAPP α), qui agit comme facteur trophique. Un essai subséquent a montré que le tropisetron augmentait constamment le rapport sAPP α /A β ₁₋₄₂, ce qui suggère un effet bénéfique sur l'amélioration du phénotype de la maladie d'Alzheimer. Ils ont par la suite réalisé une étude pharmacocinétique pour déterminer la pénétration à travers la barrière hémato-encéphalique. Le tropisetron est apparu dans les tissus cérébraux à des concentrations élevées au premier point temporel mesuré (1 heure), la concentration maximale du médicament (C_{max}) a été observée à 2 heures, se dissipant 6 heures après l'injection. Le ratio cerveau/plasma à C_{max} était d'environ 2,5. Des études *in vivo* sur des souris J20, modèles de la maladie d'Alzheimer, ont montré que le tropisetron à 0,5 mg/kg/jour améliorait le rapport sAPP α /A β , ainsi que la mémoire spatiale et de travail chez la souris en labyrinthe d'eau de Morris, et que le tropisetron était efficace tant pendant la phase symptomatique pré-plaque (5 à 6 mois) que pendant la phase de plaque avancée (14 mois). En plus de posséder un antagonisme des récepteurs 5-HT₃ et des propriétés d'agonisme partiel nAChR α 7, le tropisetron se lie également à l'ectodomaine de l'APP, avec une affinité de l'ordre du micromolaire. Il est intéressant de noter que des comparaisons directes du tropisetron avec les médicaments thérapeutiques actuels contre la maladie d'Alzheimer, comme la mémantine et le donépézil, ont révélé que le tropisetron induisait de plus grandes améliorations dans la mémoire et dans le rapport sAPP α /A β ₁₋₄₂. De plus, on rapporte que le tropisetron protège contre la neurotoxicité induite par l'A β *in vivo*, par l'intermédiaire à la fois de voies dépendantes et indépendantes des récepteurs 5-HT₃ [67, 69].

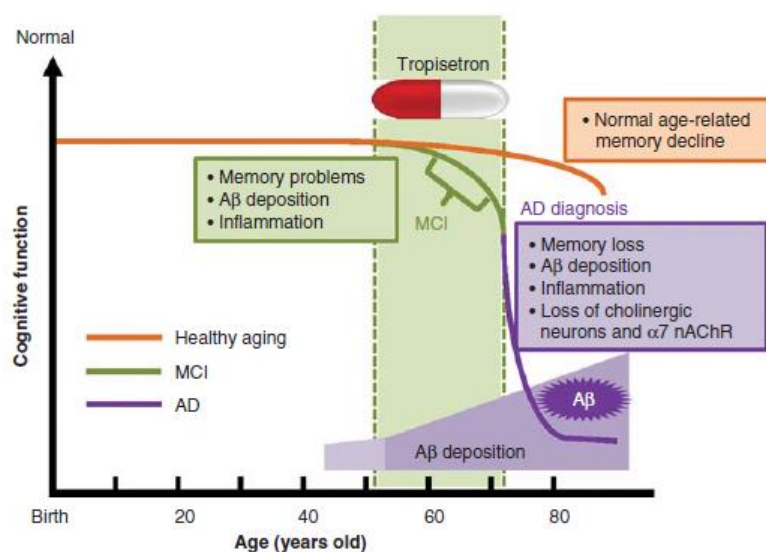


Figure 19 : Fonctions cognitives au cours de la vie chez les sujets sains, présentant des déficits cognitifs légers, et chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. À mesure que les gens vieillissent, les sujets sains

développent une perte de mémoire liée à l'âge. Les sujets atteints de déficience cognitive légère développent des troubles de la mémoire plus importants que les sujets en bonne santé selon l'âge, bien qu'ils ne présentent pas les changements de personnalité ou autres problèmes caractéristiques de la maladie d'Alzheimer. Des études ont montré que des dépôts d'A β et de l'inflammation sont présents dans le cerveau des sujets atteints de déficience cognitive légère. Les patients atteints de la maladie d'Alzheimer souffrent de graves pertes de mémoire, de dépôts d'A β , d'inflammation et de perte de neurones cholinergiques et de récepteurs nACh $\alpha 7$. Le dépôt d'A β dans le cerveau commence avant la déficience cognitive légère et augmente avec l'âge. Par conséquent, le tropisétro pourrait prévenir l'apparition de la maladie d'Alzheimer s'il est administré pendant ou avant l'apparition de la déficience cognitive légère. Abréviations : MCI : déficit cognitif léger ; AD : maladie d'Alzheimer [67].

L'étude de Rahimian et al. a amené la première preuve *in vivo* démontrant que le tropisétro est neuroprotecteur dans un modèle de rat A β de la maladie d'Alzheimer. La neuroinflammation de l'hippocampe a été atténuée par le tropisétro, confirmée par la réduction des taux de TNF- α (cytokine pro-inflammatoire), COX-2 (isoforme majeure de la génération de prostanoïdes dans des conditions d'inflammation) et iNOS (radicaux nitrés), ainsi que par la translocation nucléaire de NF- κ B (facteur de transcription pivot dans l'expression de gènes pro-inflammatoires et de mort cellulaire) et de marqueurs apoptotiques de l'hippocampe atténués tels que la caspase 3 active et la libération de Cyt c (Cytochrome c). Lors de l'inspection comportementale en labyrinthe d'eau de Morris, le tropisétro a nettement amélioré la déficience de la mémoire spatiale des rats A β [70].

L'étude de Callahan et al. en 2017 s'intéresse à la pharmacologie comportementale *in vivo* du tropisétro par l'étude de reconnaissance d'objets (NOR) chez le rat. Chez le jeune rat Sprague-Dawley, la variation de l'intervalle de temps de rétention de 1 à 72 heures dans la tâche de reconnaissance d'objets produit un profil de discrimination à court terme (c'est-à-dire la préférence pour l'exploration de l'objet nouveau par rapport à l'objet familier) et l'oubli à long terme (c'est-à-dire l'incapacité de distinguer l'objet familier observé précédemment du nouvel objet). L'analyse statistique a révélé un effet retard significatif sur la reconnaissance des objets chez les jeunes rats Sprague-Dawley. L'analyse a révélé qu'il n'y avait pas de différences significatives dans la discrimination entre les délais d'une heure et de cinq heures, mais que les délais plus longs (24, 48 et 72 heures) étaient sensiblement différents des deux délais plus courts (figure 20A). Le temps total d'exploration de l'objet pendant l'essai de rétention de 5 min n'a pas été significativement différent d'un traitement à l'autre avec une moyenne de $50,04 \pm 2,5$ secondes. Les sujets ont exploré l'objet nouveau en moyenne $16 \pm 1,8$ seconde de plus que l'objet familier après les délais de 1 et 5 heures, tandis que les différences temporelles d'exploration de l'objet nouveau et familier étaient proches de zéro pour les délais plus longs. L'administration orale de tropisétro (0,1 – 10 mg/kg) avant l'entraînement de reconnaissance d'objet (figure 20B) a entraîné une augmentation significative et proportionnelle à la dose de l'indice de discrimination lorsqu'elle a été testée avec un délai de 48 heures, entraînant ainsi des effets du médicament sur l'acquisition et la consolidation de la mémoire. Les analyses ont indiqué que les doses testées de tropisétro à 1 ; 3 et 10 mg/kg étaient significativement différentes du véhicule et résultaient en des temps d'exploration du nouvel objet de 10 – 15 secondes de plus que pour l'objet familier. Le

tropisétron (0,1-10 mg/kg, PO) administré immédiatement après l'entraînement à la reconnaissance d'objets (figure 20C) a également amélioré la performance, ce qui démontre des effets spécifiques sur la consolidation de la mémoire. Pour évaluer la spécificité des nAChRs $\alpha 7$ dans la médiation des effets pro-cognitifs du tropisétron, les rats ont reçu du MLA (méthyl-lycaconitine), un antagoniste des récepteurs nACh $\alpha 7$ en association avec le tropisétron (3 mg/kg, PO) avant l'entraînement de reconnaissance des objets (figure 20D). Le MLA a antagonisé les effets pro-cognitifs du tropisétron avec un délai de 48 heures et une analyse a révélé des effets significatifs aux doses d'essai de 1,25 et 5 mg/kg de MLA. Le temps total d'exploration pendant la séance d'essai de 5 minutes n'a pas été significativement différent d'un traitement à l'autre, avec un temps moyen d'exploration de $37,9 \pm 3,3$ secondes par objet [71].

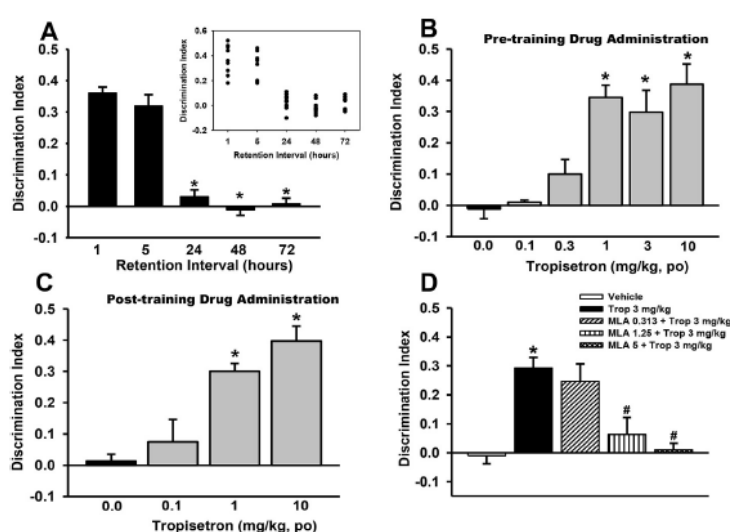


Figure 20 : Graphiques de discrimination et d'amélioration de la mémoire par administration de tropisétron chez les rats Sprague-Dawley effectuant la tâche de reconnaissance d'objet. **A :** Effet du délai de discrimination. **B :** Effets du tropisétron (0,1 à 10 mg/kg, PO) sur les processus d'acquisition et de consolidation (médicament administré avant l'entraînement) évalués avec un délai de rétention de 48 heures. **C :** Effets du tropisétron (0,1 à 10 mg/kg, PO) sur les processus de consolidation de la mémoire (médicament administré immédiatement après l'entraînement) évalués dans un délai de 48 heures. **D :** Effets de l'administration concomitante de l'antagoniste des récepteurs nACh $\alpha 7$, MLA (0,313 à 5 mg/kg, IP), et du tropisétron (3 mg/kg, PO) dans un délai de 48 heures [71].

Chez les rats jeunes et âgés Fischer 344, on observe une baisse significative de l'index de discrimination chez les rats âgés avec un délai de 5 heures comparativement à celui des jeunes rats (figure 21A). L'administration de tropisétron (0,3 - 10 mg/kg, IP) avant l'entraînement a entraîné une augmentation significative, proportionnelle à la dose, de l'indice de discrimination (figure 21B). Des analyses ont indiqué que des doses d'essai de 1 et 3 mg/kg de tropisétron ont complètement aboli le déficit de mémoire lié à l'âge, ce qui a donné des résultats semblables à ceux des jeunes témoins. Les temps d'exploration des nouveaux objets chez les rats âgés étaient supérieurs de 10 à 14 secondes à ceux obtenus pour

l'objet familier (le temps d'exploration des nouveaux objets chez les jeunes rats était de 12 secondes).

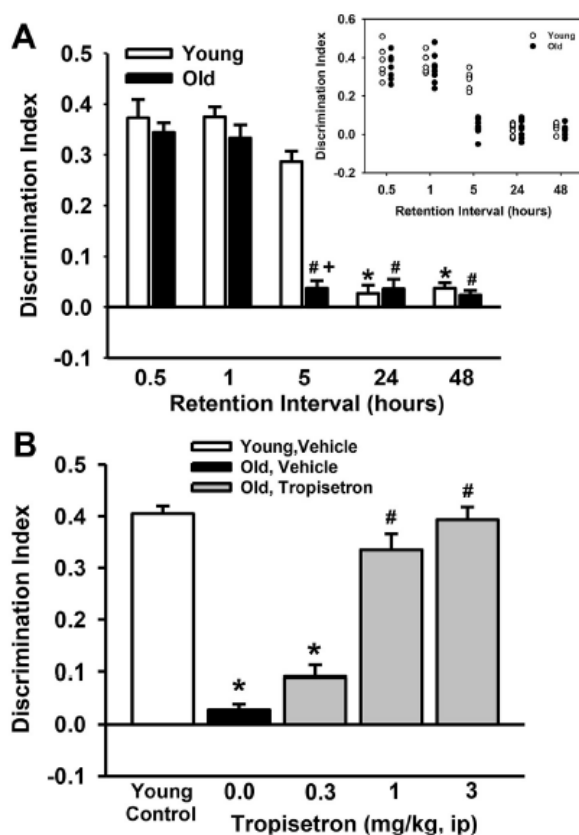


Figure 21 : Graphiques de discrimination et d'amélioration de la mémoire par administration de tropisetron chez les rats Fischer 344 effectuant la tâche de reconnaissance d'objet. **A :** Effet de retard de rétention (0.5 à 48h). **B :** Effets du tropisetron (0,3 à 3 mg/kg, IP) sur la mémoire de reconnaissance d'objets à 5h d'intervalle entre les essais chez les rats âgés Fischer. Tous les traitements ont été administrés avant l'essai d'entraînement [71].

La mémoire de reconnaissance d'objets visuels est l'un des domaines cognitifs souvent altérés chez les personnes âgées (non démentes) ainsi que chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Les résultats de l'étude de Callahan et al. de NOR ont démontré que le tropisetron améliore la mémoire de reconnaissance à long terme (48 heures) chez les jeunes rats Sprague-Dawley et la mémoire à court terme (5 heures) chez les rats Fischer âgés [71].

De manière générale, toutes les études citées, bien que non exhaustives, appuient l'argument selon lequel le tropisetron a des effets neuroprotecteurs (et donc une activité potentielle de modification de la maladie) et des effets pro-cognitifs chez les animaux jeunes et âgés. De plus, le tropisetron a la capacité d'améliorer la gamme de doses efficaces du donépézil [67, 69]. Le traitement par tropisetron serait donc un traitement d'appoint potentiel pour la maladie d'Alzheimer. Les données appuient l'argument selon lequel le tropisetron devrait être évalué dans des essais cliniques pour la maladie d'Alzheimer et d'autres troubles

cognitifs liés à l'âge ainsi que des maladies qui ne sont pas nécessairement associées à la vieillesse comme par exemple la schizophrénie.

Partie 3 : Etudes précliniques des effets des antagonistes 5-HT₃ sur les troubles cognitifs au sein de ManRos Therapeutics

1. Présentation de la société ManRos Therapeutics

1.1. Présentation et historique

ManRos Therapeutics est une petite entreprise bretonne, située à Roscoff dans le Finistère. Elle a été fondée en 2007 par le Dr. Laurent Meijer (Directeur de Recherche au CNRS) et le Pr. Hervé Galons (Professeur à l'Université Paris Descartes), deux experts reconnus en biologie cellulaire et moléculaire et en chimie organique. Aujourd'hui, l'entreprise est dirigée par le Dr. Laurent Meijer en tant que co-fondateur, Président et Directeur scientifique, et par le Dr. Philippe de Lavenne, Directeur Général de ManRos qui apporte toute son expertise de l'industrie pharmaceutique. Il est également un expert reconnu dans les maladies orphelines et de la mise sur le marché de médicaments.

ManRos développe des molécules dans le traitement de la mucoviscidose, des maladies neurodégénératives comme la maladie d'Alzheimer et la Trisomie 21, ainsi que de la polykystose rénale. Son cœur de recherche est l'inhibition des protéines kinases. Les recherches menées sur ces différentes pathologies sont largement complémentaires et synergiques. Elles partagent des cibles communes et utilisent les mêmes mécanismes d'actions.

Bien que l'équipe de ManRos travaille sur de nombreux projets innovants, le développement de la Roscovitine dans le traitement de la mucoviscidose reste le projet phare de ManRos. En effet, le développement de la Roscovitine est en phase 2 d'essais clinique.

1.2. Contexte et missions réalisées

L'objectif de ma mission au sein de l'entreprise était de faire l'état des lieux sur les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans leur indication légale mais aussi dans les troubles cognitifs (Partie 1 et 2 de cette thèse). Quelques études avaient été déjà réalisées avant mon arrivée. Parallèlement, l'étude d'une formulation innovante déjà existante ou à l'étude permettrait le développement d'un antagoniste dans les troubles cognitifs avec une formulation adaptée pour les patients nouvellement ciblés. C'est donc dans le contexte d'une recherche très en amont que j'ai apporté ma contribution à ce projet.

2. Etude d'une formulation innovante

Pour une potentielle application dans les troubles cognitifs, le médicament contenant l'antagoniste des récepteurs 5-HT₃ le plus pertinent doit être formulé de manière à permettre une efficacité et une libération optimale du principe actif ainsi qu'une compliance des patients améliorée. Pour ce qui est des antagonistes aux récepteurs 5-HT₃ étudiés dans cette thèse et mis sur le marché en France, les formulations usitées sont à libération immédiate par voie orale (comprimé orodispersible, pelliculé, lyophilisat oral, film orodispersible, sirop...), par voie IV, IM et par voie rectale (suppositoire) [15, 72].

Nous nous sommes intéressés à ManRos Therapeutics à l'étude de formulations innovantes qui permettraient de s'affranchir de la courte demi-vie de ces antagonistes ainsi qu'une utilisation facilitée pour une application dans les troubles cognitifs. Des formulations innovantes, telles que les médicaments administrés par voie transdermique, pourraient représenter une alternative aux administrations orales répétées ou aux infusions intraveineuses, car ils sont faciles d'utilisation et améliorent la compliance des patients au traitement [39].

2.1. Formulations transdermiques commercialisées

De nos jours, un certain nombre de médicaments à travers différentes spécialités sont administrés par voie transdermique dans le but de garantir une dose stable dans le plasma, une libération prolongée du principe actif et une compliance des patients améliorée. Quand les médicaments sont administrés *via* des systèmes transdermiques, ils rentrent par diffusion passive à travers la peau dans la circulation sanguine, par laquelle ils atteignent leur site d'action.

Ces systèmes ont de nombreux avantages, parmi lesquels une libération continue et prolongée, une vitesse d'administration constante, un court-circuit du système gastro-intestinal et l'évitement de l'effet de premier passage hépatique, la capacité du principe actif à rejoindre directement la circulation systémique, ainsi qu'une meilleure compliance des patients en comparaison avec les autres voies d'administration. Dans le cas des antiémétiques, les systèmes à voie transdermique offrent un avantage supplémentaire car ils peuvent être utilisés chez les patients incapables de prendre ou de tolérer les formulations orales ou parentérales [39]. En plus de fournir un profil sanguin stable, ce mode d'administration présente d'autres avantages, notamment la réduction au minimum des effets indésirables découlant des concentrations plasmatiques maximales du médicament ou de l'irritation gastrique [43]. Ils ont l'avantage de prévenir le risque de surdosage en s'assurant que la dose de médicament délivrée n'atteint jamais un niveau supérieur au niveau de sécurité.

Il y a peu d'inconvénients à ces systèmes. Premièrement, seules les molécules de faible poids moléculaire, fortement lipophiles, peuvent être administrées par voie transdermique. Ensuite, une perte partielle ou complète de l'adhésion à la peau peut survenir (eau, transpiration...). Les patients peuvent être sensibles au matériau adhésif du patch entraînant prurit et érythème. Enfin, il y a des variations individuelles qui peuvent affecter le taux de libération du principe actif comme la texture, l'épaisseur et la pigmentation de la peau, ainsi que l'âge. Des variations minimales peuvent être reliées au site d'application. Cependant, les médicaments sont généralement absorbés de la même manière indépendamment du site d'application [39].

La courte demi-vie des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ de première génération, tel que le granisétron, a limité leur usage dans la prévention des CINV, plus particulièrement pour

la phase retardée. Ce constat a dirigé la recherche vers de nouveaux modes de libération du principe actif. Actuellement, deux formulations à libération prolongée du médicament de granisétron ont été mis sur le marché : le granisétron par système transdermique (Sancuso®) et le granisétron en injection sous-cutanée (Sustol®) [73].

2.1.1. SANCUSO® - Kyowa Kirin

Le patch de granisétron SANCUSO® (figure 22), est le premier agent antiémétique transdermique approuvé en 2008 par la FDA et en 2013 par l'EMA, pour la prévention des CINV [39, 43]. Il est développé et commercialisé par Kyowa Kirin sous le nom de Sancuso®.



Figure 22 : Patch transdermique de granisétron, Sancuso®, Kyowa Kirin [74].

C'est un patch transdermique matriciel de 52 cm², contenant 34,3 mg de granisétron, qui offre une exposition semblable à celle du granisétron oral à 2 mg (figure 23). Cependant, contrairement au granisétron oral, où la concentration plasmatique maximale (C_{max}) est atteinte deux heures après l'administration, l'exposition au médicament avec le système transdermique est plus lente, la C_{max} étant atteinte 48 heures après l'application du patch et l'exposition au granisétron continuant pendant 6 jours. L'utilisation du patch réduit la quantité de médicaments pris par les patients, particulièrement ceux qui ont des difficultés à avaler le médicament par voie orale. Cependant, le système transdermique comporte certains désavantages, dont le décollement du patch qui peut entraîner un manque d'efficacité antiémétique [39, 43, 73].

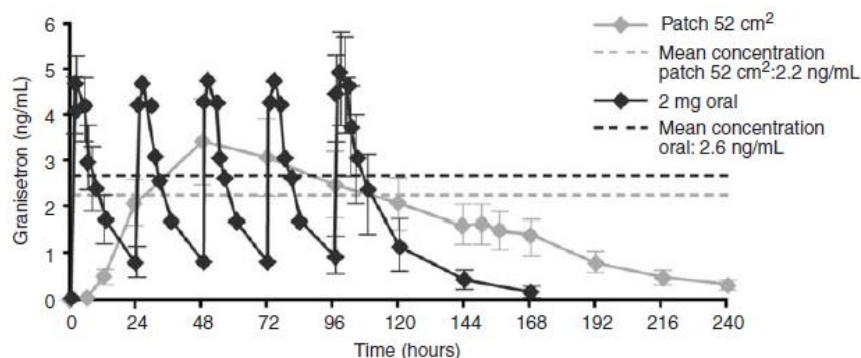


Figure 23 : Etude pharmacocinétique illustrant la biodisponibilité relative de la formulation de granisétron orale (2 mg) et du patch transdermique [43].

La formulation transdermique est un patch auto-adhérent de granisétron dans une matrice polymérique. C'est un système matriciel composé d'une matrice stable de base de granisétron (6 % masse/masse) dans un adhésif. Le patch a été développé pour la prévention des nausées et vomissements associés à des chimiothérapies hautement et moyennement émétisantes. L'évaluation cutanée a montré qu'en général, le patch de granisétron était bien toléré. Il n'y a pas eu de différence claire entre les traitements et l'évaluation globale de l'irritation cutanée a été faible [43]. Howell et al. ont étudié le profil pharmacocinétique de la formulation transdermique du granisétron et examiné sa relation possible avec l'âge, le sexe et la fonction rénale. Dans cette étude, la clairance du granisétron n'était pas liée selon l'âge, le sexe, le poids ou la fonction rénale. Aucun ajustement posologique basé sur l'âge ou la fonction rénale n'a été nécessaire d'après les critères suivants l'étude pharmacocinétique [12, 43].

2.1.2. *SUSTOL® - Heron Therapeutics*

Une formulation injectable par voie sous-cutanée à libération prolongée (LP) du granisétron a été approuvée par la FDA en 2016 et est maintenant disponible aux États-Unis, sous le nom de Sustol®, développé et commercialisé par Heron Therapeutics. Il est indiqué dans les CINV après une chimiothérapie moyennement émétisante (MEC) ou un traitement d'association par anthracycline et cyclophosphamide chez les adultes [73, 75]. La libération prolongée du granisétron est obtenue grâce à la technologie Biochronomer (figure 24) à l'aide d'un polymère poly(orthoester) tri(éthylène glycol) visqueux et biodégradable (TEG-POE). Le polymère POE contient une liaison orthoester qui est hydrolysée en fragments et excrétés lors de l'exposition à un environnement aqueux. La nature acido-labile du polymère TEG-POE permet la libération du granisétron par diffusion à partir du dépôt, suivie d'une hydrolyse contrôlée du polymère, ce qui entraîne une libération supplémentaire du granisétron (figure 25) [73].

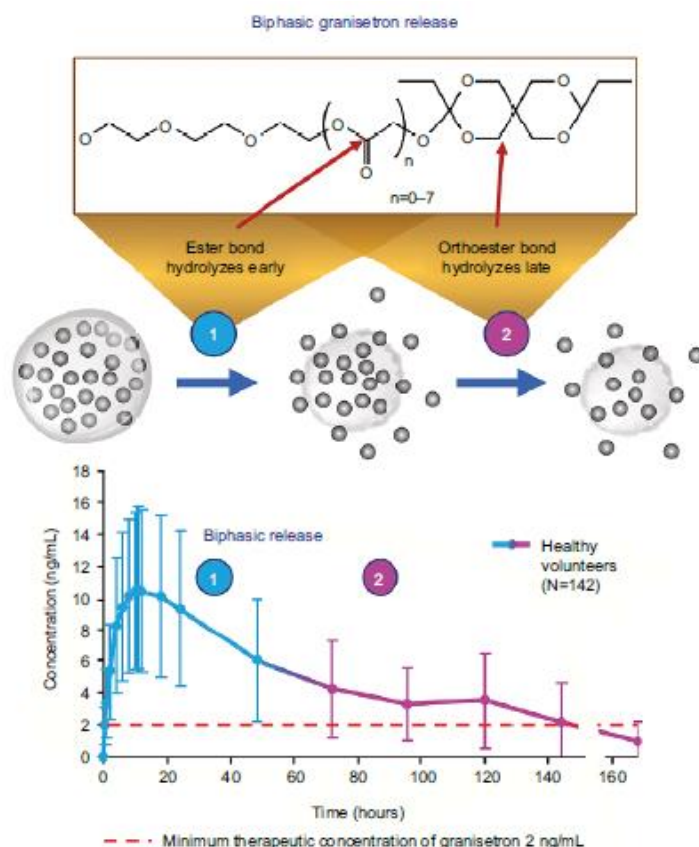


Figure 24 : Mécanisme d'action de la technologie brevetée Biochronomer® [73].



Figure 25 : Mécanisme de libération du granisétron, Sustol®. **1 :** Le granisétron est incorporé dans une formulation polymère unique utilisant la technologie brevetée Biochronomer®. **2 :** Après une seule injection sous-cutanée, le polymère subit une hydrolyse, libérant le granisétron de façon contrôlée et soutenue. **3 :** Une fois le granisétron libéré, le polymère se désintègre et est éliminé de l'organisme [76].

Chez les sujets sains, le granisétron est libéré du polymère pendant une période prolongée (Cmax survenant environ 10 heures après l'administration) (figure 26). La libération biphasique du médicament à partir du polymère entraîne une exposition au granisétron dans la phase retardée des CINV, avec une concentration plasmatique moyenne de 3,5 ng/mL (intervalle de 0 à 14 ng/mL) 5 jours après une dose unique de 10 mg [73]. Le médicament a atteint les concentrations plasmatiques maximales dans un délai médian d'environ 24 heures et est demeuré à des concentrations plasmatiques thérapeutiques pendant une période maximale de 7 jours. Il présente donc une demi-vie d'élimination d'environ 24h [75]. Cependant, la seringue à dose unique pour l'administration en sous-cutané doit être préparée au moins 60 minutes avant administration en chauffant le liquide visqueux à température ambiante, et son contenu doit être injecté lentement par un professionnel de santé [73].

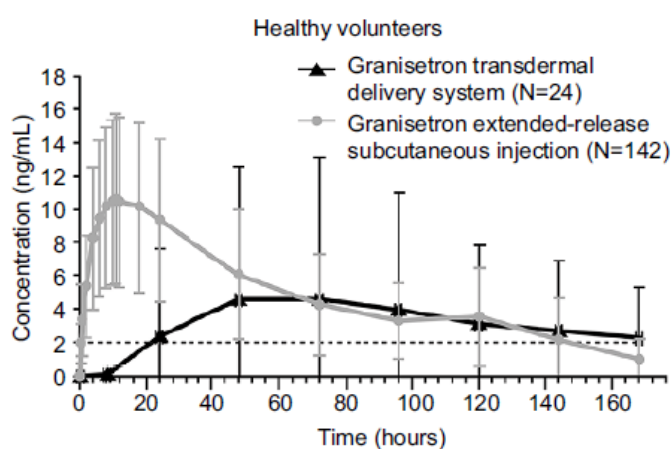


Figure 26 : Concentrations plasmatiques de granisétron suivant l'administration d'un patch transdermique ou d'une injection sous-cutanée (Sustol®). Les données du patch transdermique proviennent du brevet 20120258164 [73].

2.2. Autres formulations à l'étude

Les dernières années de recherche sur les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ se focalisent notamment sur le développement de nouvelles formulations pour une administration alternative telles que les voies transdermiques, buccales, sublinguales et nasales, dans le but de court-circuiter le premier passage métabolique et promouvoir une concentration plasmatique à l'état d'équilibre et une thérapie à long terme en une seule dose [15].

Voie d'administration	Formulation	Principe actif	Recherche	Références
Voie transdermique	Microémulsion	Ondansétron	Recherche <i>in vitro</i>	[77]
Voie orale	Granulés solides auto-émulsionnables, augmentent la solubilité aqueuse	Ondansétron	Recherche <i>in vitro</i>	[78]
Voie nasale	Microsphères de chitosan biodégradables	Ondansétron	Recherche <i>in vivo</i>	[79, 80]
Voie transdermique	Injection sous-cutanée ondansétron + hyaluronidase PH20 recombinante humaine	Ondansétron	Essais clinique phase 1	[81]
Voie buccale	Film buccal mucoadhésif contenant du chitosan	Ondansétron	Recherche <i>in vivo</i>	[82]
Voie transdermique	Gel composé de camphre versus gel de isopropyle myristate	Ondansétron	Recherche <i>in vivo</i>	[83]
Voie orale	Comprimés matriciels contenant des granules d'ondansétron pH dépendant et indépendant	Ondansétron	Recherche <i>in vitro</i>	[84]
Voie nasale	Insert nasal chargé d'ondansétron lyophilisé par le complexe polyélectrolytique de gomme de Chitosan comme matrice polymère.	Ondansétron	Recherche <i>in vivo</i>	[85]

Table 6 : Aperçu des différentes formulations d'antagonistes des récepteurs 5-HT₃ à l'étude.

Bien que la table 6 soit une liste non exhaustive, les recherches principalement menées se font sur l'ondansétron, molécule aisément accessible car largement distribuée et générique. Néanmoins, cela reflète bien un besoin de formulations alternatives pour les patients.

3. Etudes précliniques menées à ManRos Therapeutics

Afin d'évaluer le potentiel thérapeutique des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans les troubles cognitifs, des études ont été menées à ManRos Therapeutics dans des modèles de souris Alzheimer ainsi que Trisomie 21.

3.1. Etude de pharmacocinétique et distribution dans le cerveau de l'ondansétron

3.1.1. Matériel et méthode

L'étude est réalisée par TechMed avec des souris CD1. Deux doses d'ondansétron sont testées : 5 mg/kg et 2 mg/kg. Pour des raisons de confidentialité, l'ondansétron est nommé MRT-11.

Une dose de 5 mg/kg d'ondansétron est administrée par voie orale à 24 souris. Les souris sont sacrifiées après les temps 30 min, 1h, 2h, 4h, 6h, 8h, 12h, et 24h. D'autre part, une dose de 2 mg/kg du composé est administrée par voie orale à 21 souris. Les souris sont sacrifiées après les temps 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 45 min, 60 min et 120 min.

Des échantillons de plasma sont prélevés, les protéines sont précipitées et le surnageant est analysé par LC-MS/MS. Pour la dose à 5 mg/kg, les paramètres pharmacocinétiques sont déterminés par une analyse non compartimentale sur 4 points à partir du temps 1h. Pour la dose de 2 mg/kg, les paramètres pharmacocinétiques sont déterminés par une analyse non compartimentale sur 5 points à partir du temps 20 min.

Pour évaluer la distribution de l'ondansétron dans le cerveau, chaque cerveau de souris est broyé, traité, les protéines sont précipitées et le surnageant est analysé par LC-MS/MS.

3.1.2. Résultats

En ce qui concerne l'étude pharmacocinétique de l'ondansétron chez les souris CD1, lors de l'administration d'ondansétron à 5 mg/kg, la concentration plasmatique décroît très fortement au cours de la première heure en raison de la distribution du composé (figure 27). Le temps de demi-vie d'environ 1h est moyen pour une souris (Table 7). Une légère augmentation de la concentration au temps 8h (240 min) indique un cycle entéro-hépatique du composé. Les paramètres observés pour la dose à 2 mg/kg sont en accord avec ceux

observés pour la dose à 5 mg/kg. Cependant, le cycle entéro hépatique n'a pas été observé entre le temps 0 et 120 min (figure 27).

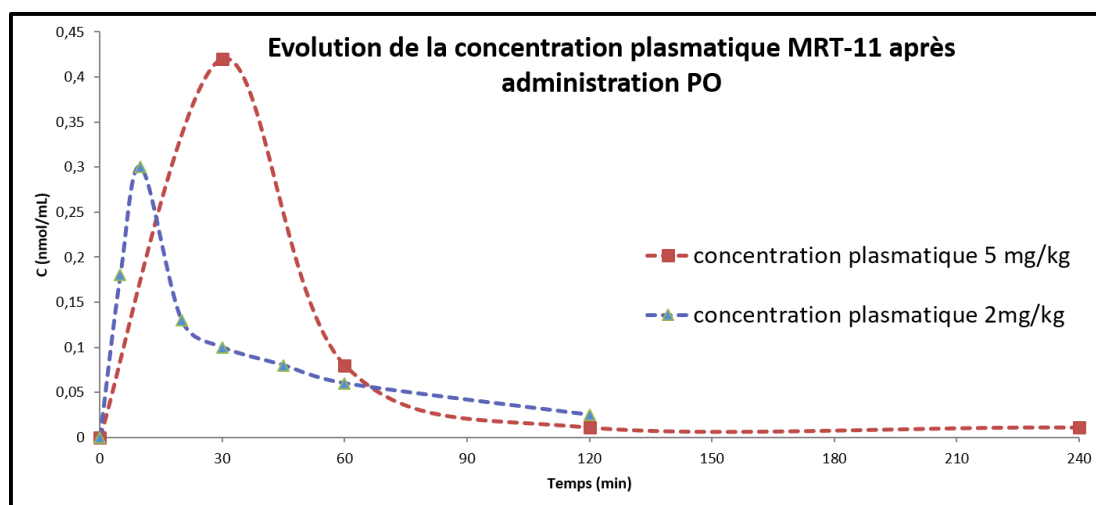


Figure 27 : Evolution de la concentration plasmatique d'ondansétron (MRT-11) après administration par voie orale (PO) à une dose de 2 et 5 mg/kg.

PK	5 mg/kg	2 mg/kg
Cmax (nmol/mL)	0,4	0,3
Tmax (min)	30	10
T1/2 (min)	56	44
Cl=CL/F (mL/min/kg)	693	554
Vd=Vz/F (mL/kg)	55952	34854
AUC PO (min.ng/mL)	7218	3609

Table 7 : Paramètres pharmacocinétiques après administration d'ondansétron 5 et 2 mg/kg.

Le rapport des aires sous la courbe indique une bonne distribution dans le cerveau (table 8). On remarque que cette distribution se fait de manière beaucoup plus importante à la dose de 5 mg/kg. En effet, le rapport cerveau/plasma est de 0,9 pour une dose à 5 mg/kg alors qu'il est de 0.28 pour la dose à 2 mg/kg.

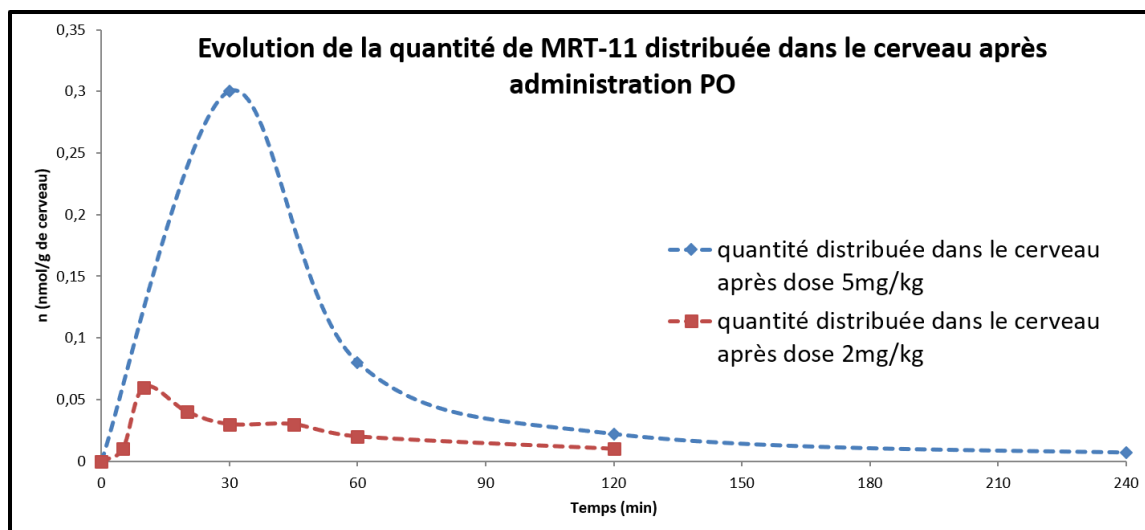


Figure 28 : Evolution de la quantité d'ondansétron (MRT11) distribuée dans le cerveau après administration par voie orale (PO) après administration d'une dose de 2 et 5 mg/kg.

Distribution dans le cerveau	5 mg/kg	2 mg/kg
AUC cerveau PO (min.ng/g)	6164	1006
AUC plasma PO (min.ng/mL)	7218	3609
Rapport cerveau/plasma	0,9	0,28

Table 8 : Distribution dans le cerveau après administration d'ondansétron 5 et 2 mg/kg.

Dans une optique d'application thérapeutique pour des troubles cognitifs, une bonne distribution dans le cerveau est un critère important. Dans cette étude, il peut préfigurer de la dose à administrer pour de futures études *in vivo* chez des souris cognitivement déficientes.

3.2. Etude de l'ondansétron sur des modèles de souris Trisomie 21

La Trisomie 21 est un triplement du chromosome 21. C'est encore la déficience intellectuelle la plus fréquente, touchant 1 nouveau-né pour 700 naissances. Parmi les caractéristiques les plus courantes de ce syndrome, on retrouve l'hypotonie, la dysmorphie et la déficience intellectuelle. Le gène DYRK1A codant pour la protéine kinase à double spécificité tyrosine-phosphorylation 1A est une cible bien identifiée par ManRos Therapeutics pour son implication dans les déficits cognitifs de la Trisomie 21. Des modèles de souris ont donc été élaborés pour permettre la compréhension des troubles cognitifs dans cette pathologie ainsi que pour évaluer les candidats thérapeutiques potentiels [86].

Deux modèles ont été retenus pour notre étude et issus de l'étude de Nguyen et al. : un modèle Tg(Dyrk1a), qui est un modèle transgénique de souris contenant le gène Dyrk1a entièrement murin, et un modèle de trisomie complète, le modèle murin Dp(16)Yey. A notre connaissance, aucune étude n'a été faite sur les effets des antagonistes 5-HT₃ sur les troubles cognitifs des patients atteints de trisomie 21 ou *in vivo* chez la souris.

3.2.1. Etude de l'ondansétron chez des souris Dp(16)Yey

L'objectif de l'étude est d'évaluer l'effet de l'ondansétron sur la mémoire de travail et la mémoire de reconnaissance et de localisation chez des souris Dp(16)Yey présentant le phénotype de trisomie 21 le plus complet.

3.2.1.1. Matériel et méthode

Les souris utilisées pour cette étude sont des souris mâles Dp(16)yey présentant un phénotype de trisomie 21 *versus* type sauvage (wild type, WT). L'ondansétron est injecté en IP, 1 fois par jour pendant 19 jours, à la dose de 1 mg/kg.

La cohorte de souris a été divisée en 3 groupes :

- Groupe 1 du 18/02 au 09/03 2018
- Groupe 2 du 27/02 au 17/03 2018
- Groupe 3 du 11/03 au 30/03 2018

Du jour 1 au jour 14, les souris sont traitées par injection d'ondansétron ou du véhicule. Au jour 15, après administration du traitement, un test en labyrinthe en Y (mémoire de travail) est réalisée 30 minutes après. Au jour 16, les souris sont traitées puis mise en accoutumance 30 minutes après. Au jour 17, 30 minutes après le traitement une présentation d'objet est réalisée. Au jour 18, après le traitement, un test de reconnaissance d'objet dans l'espace (SOR, mémoire de localisation d'objet) est réalisé. Au jour 19, 30 minutes après le traitement, un test NOR de reconnaissance de nouvel objet (mémoire de reconnaissance d'objet) est réalisé. Au jour 20, le cerveau, le foie et la queue sont récupérés 30 minutes après la dernière administration du composé.

3.2.1.2. Résultats

3.2.1.2.1. Test de l'alternance spontanée en labyrinthe en Y

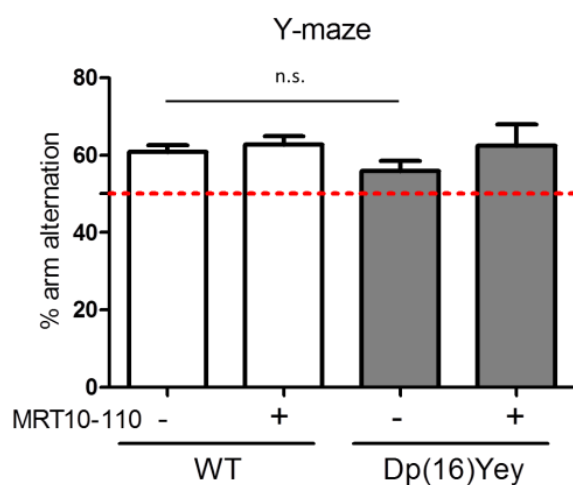


Figure 29 : Alternance spontanée en labyrinthe en Y chez des souris sauvages (WT) et présentant un syndrome de trisomie 21 (Dp(16)Yey) avant et après traitement par ondansétron (MRT10-110). Nombre de souris par groupe : WT (-)=14 ; WT (+)=14 ; Dp(16)Yey (-)=13 ; Dp(16)Yey (+)=13. n.s : non significatif.

A l'issue du test en labyrinthe en Y (figure 29), on constate qu'il n'y a pas de différence significative entre les souris sauvages et Dp(16)Yey, qu'elles soient traitées ou non par ondansétron. Les souris Dp(16)Yey ne présentent donc pas de déficit de mémoire de travail lors de ce test.

3.2.1.2.2. Test de reconnaissance spatiale d'objets (SOR)

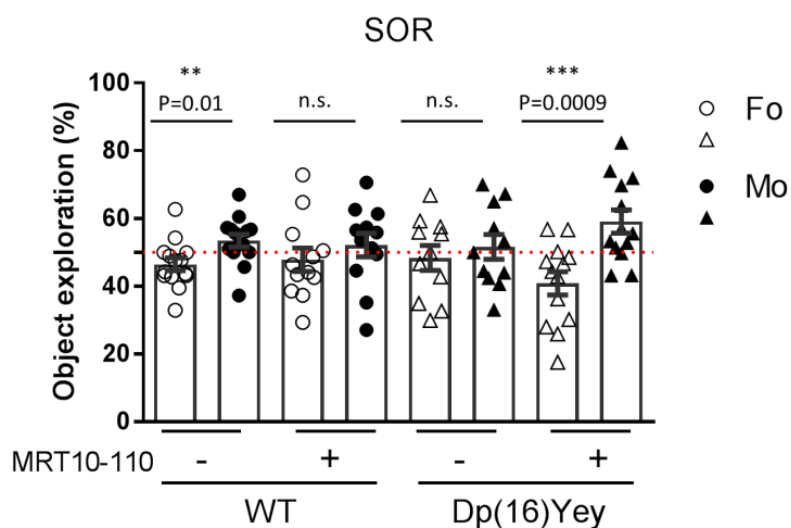


Figure 30 : Exploration d'objet lors du test de reconnaissance spatiale d'objets (SOR) chez les souris sauvages (WT) et Dp(16)Yey traitées ou non par ondansétron (MRT10-110). Nombre de souris par groupe : WT(-)=14 ; WT(+)=12 ; Dp(16)Yey(-)=11 ; Dp(16)Yey(+)=13. Fo : objet familier ; Mo : objet déplacé.

Le traitement par ondansétron (MRT10-110) restaure la mémoire de localisation d'objet chez les souris Dp(16)Yey de manière significative (figure 30). En effet ces souris montrent un intérêt significativement plus élevé pour le nouvel objet, signe de fonctions cognitives fonctionnelles.

3.2.1.2.3. Test de reconnaissance de nouvel objet (NOR)

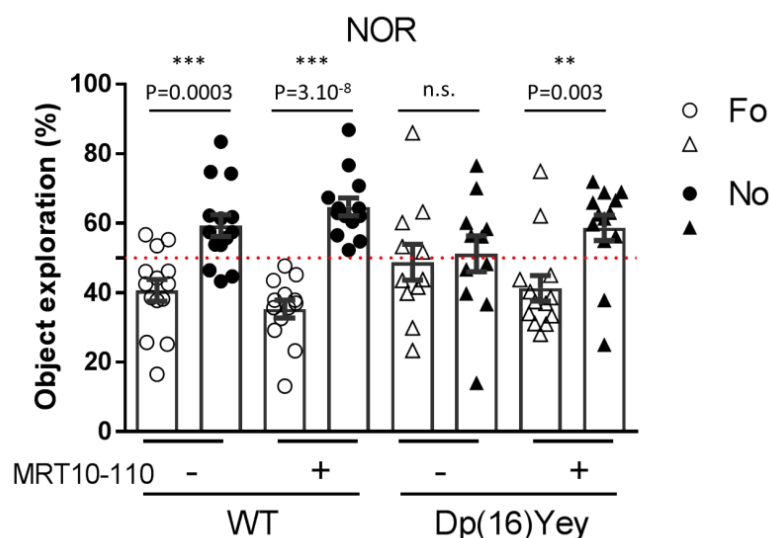


Figure 31 : Exploration du nouvel objet lors du test de reconnaissance d'objets (NOR) chez les souris sauvages (WT) et Dp(16)Yey traitées ou non par ondansétron (MRT10-110). Nombre de souris par groupe : WT(-)=14 ; WT(+)=12 ; Dp(16)Yey(-)=11 ; Dp(16)Yey(+)=13. Fo : objet familier ; No : nouvel objet.

Le modèle de souris Dp(16)Yey montre bien des déficiences de reconnaissance d'objet par rapport aux souris sauvages. Le traitement par ondansétron restaure la mémoire de reconnaissance d'objet chez les souris Dp(16)Yey de manière significative (figure 31).

3.2.2. Etude de l'effet du traitement par ondansétron chez des souris Tg(Dyrk1a).

L'objectif de l'étude est de déterminer l'effet du traitement par ondansétron sur la mémoire de localisation et de reconnaissance chez les souris Tg(Dyrk1a).

3.2.2.1. Matériel et méthode

Les souris utilisées pour cette étude sont des souris mâles, d'environ 3 mois, Tg(Dyrk1a) *versus* WT. Le traitement par ondansétron est à la dose de 1 mg/kg, en IP une fois par jour, pendant 19 jours.

La cohorte de souris est divisée en deux groupes :

- Groupe 1 : du 20/05 au 09/06 2018
- Groupe 2 : du 03/06 au 23/06 2018

Le traitement par ondansétron ou véhicule est réalisé du jour 1 au jour 15. Au jour 16, 30 minutes après le traitement, les souris sont mises en accoutumance. Au jour 17, 30 minutes après le traitement, la présentation d'objet est réalisée auprès des souris. Au jour 18, le test de reconnaissance spatiale d'objet SOR (mémoire de localisation d'objet) est réalisé 30 minutes après le traitement. Au jour 19, le test de reconnaissance de nouvel objet NOR (mémoire de reconnaissance d'objet) est réalisé 30 minutes après le traitement. Au jour 20, le cerveau, le foie et la queue sont récupérés 30 minutes après la dernière injection de composé.

3.2.2.2. Résultats

3.2.2.2.1. Test de reconnaissance spatiale d'objet SOR

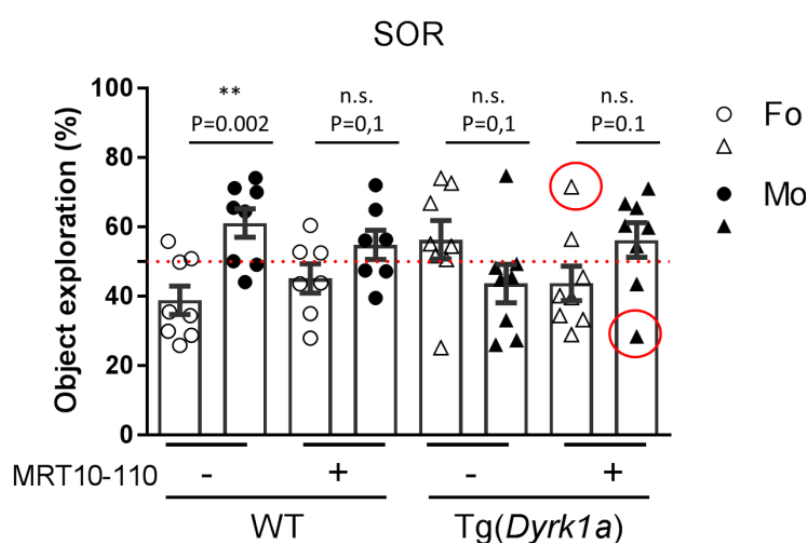


Figure 32 : Exploration d'objet lors du test de reconnaissance spatiale d'objets (SOR) chez les souris sauvages (WT) et Tg(Dyrk1a) traitées ou non par ondansétron (MRT10-110). Nombre de souris par groupe : WT(-)=8 ; WT(+)=7 ; Tg(Dyrk1a)(-)=8 ; Tg(Dyrk1a)(+)=8. Fo : objet familier ; Mo : objet déplacé.

La restauration de la mémoire de localisation d'objet chez les souris Tg(Dyrk1a) traitées par ondansétron n'est pas significative en raison de l'animal n°209 (cercle rouge) qui se comporte comme une valeur aberrante (figure 32). Cependant cette souris n'est pas une valeur aberrante significative selon le test de Grubbs, elle ne peut donc pas être supprimée des statistiques. NB : la valeur p sans le n°209 serait p = 0.001. On constate tout de même que les souris Tg(Dyrk1a) présentent bien un déficit dans la reconnaissance spatiale d'objets.

3.2.2.2.2. Test de reconnaissance de nouvel objet NOR

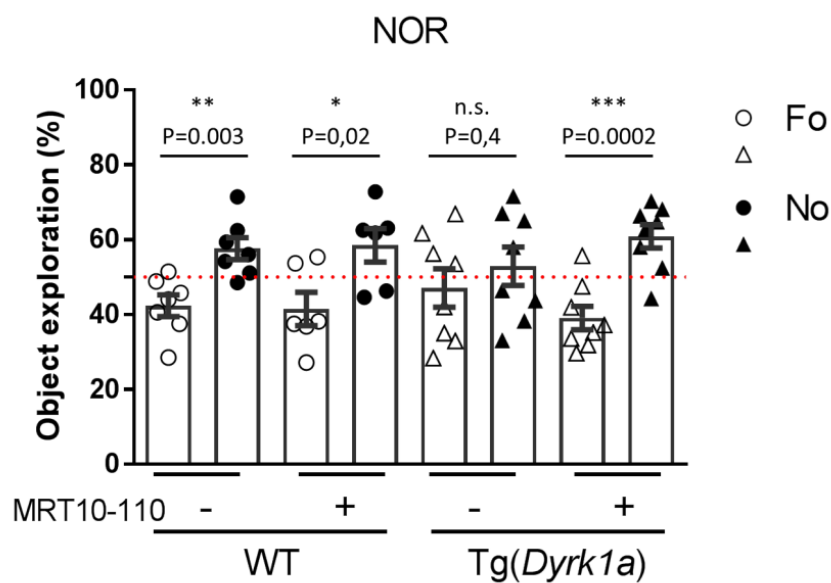


Figure 33 : Exploration d'objet lors du test de reconnaissance de nouvel objet (NOR) chez les souris sauvages (WT) et Tg(*Dyrk1a*) traitées ou non par ondansétron (MRT10-110). Nombre de souris par groupe : WT(-)=7 ; WT(+)=6 ; Tg(*Dyrk1a*)(-)=8 ; Tg(*Dyrk1a*)(+)=8. Fo : objet familier ; No : nouvel objet.

Les souris Tg(*Dyrk1a*) non traitées présentent bien un déficit dans la reconnaissance de nouvel d'objets. En revanche, le traitement par ondansétron restaure la mémoire de reconnaissance d'objet chez les souris Tg(*Dyrk1a*) (figure 33), et ce de manière significative.

3.3. Etude de l'ondansétron dans un modèle de souris Alzheimer

3.3.1. Matériel et méthode

Le but de l'étude réalisée par Amylgen est de déterminer si l'ondansétron, peut atténuer la pathologie induite dans les souris males Swiss injectées par voie intracérébroventriculaire (ICV) avec un peptide amyloïde β_{25-35} ($A\beta_{25-35}$). Pour des raisons de confidentialité, l'ondansétron est nommé MRT0.

L'efficacité du composé a été évalué, 7 jours après l'injection du peptide, sur l'atténuation des déficits d'apprentissage induits par $A\beta_{25-35}$:

- Mémoire spatiale de travail : alternance spontanée dans un labyrinthe en Y.
- Reconnaissance d'un nouvel objet (NOR).

L'ondansétron a été administré par voie intrapéritonéale (IP) une fois par jour pendant 17 jours à une dose de 1 mg/kg. L'administration a commencé 30 minutes avant l'injection de peptide $A\beta_{25-35}$ et a duré jusqu'au jour 23 quand les animaux ont été examinés au niveau de leur comportement. Après communication des résultats, ManRos Therapeutics a décidé de poursuivre l'administration de l'ondansétron en augmentant la dose à 3 mg/kg pendant 15 jours.

Groupes de traitement du jour 1 au jour 17 :

- Groupe 1 : Sc. $A\beta$ + véhicule IP, 1 fois par jour.
- Groupe 2 : $A\beta_{25-35}$ + véhicule IP, 1 fois par jour.
- Groupe 3 : $A\beta_{25-35}$ + MRT0 1 mg/kg IP, 1 fois par jour.

Groupes de traitement du jour 18 au jour 32 :

- Groupe 1 : Sc. $A\beta$ + véhicule IP, 1 fois par jour.
- Groupe 2 : $A\beta_{25-35}$ + véhicule IP, 1 fois par jour.
- Groupe 3 : $A\beta_{25-35}$ + MRT0 3 mg/kg IP, 1 fois par jour.

Au jour 1, le peptide Sc. $A\beta$ ou $A\beta_{25-35}$ oligomérique est injecté par voie intracérébroventriculaire. Du jour 1 au jour 15 (à la dose de 1 mg/kg) et du jour 16 au jour 32 (à la dose de 3 mg/kg), l'ondansétron est administré par voie IP 1 fois par jour 30 minutes avant l'injection du peptide en ICV et 1h après les tests cognitifs.

Du jour 8 au jour 11, deux tests de cognition sont utilisés pour suivre les effets de l'ondanstéron :

- La procédure d'alternance spontanée dans le labyrinthe en Y, évaluant la mémoire spatiale, au jour 8.
- La reconnaissance de nouvel objet (NOR) du jour 9 au jour 11.

Les tests sont réalisés une heure après l'administration du composé testé.

Au vu des résultats à l'issue de ces tests, les doses du groupe 3 ont été augmentées à 3 mg/kg 1 fois par jour en IP du jour 18 au jour 32. Le test en labyrinthe en Y a été réalisé le jour 29 et le test NOR du jour 30 au jour 32. Au jour 32, toutes les souris ont été sacrifiées.

3.3.2. Résultats

3.3.2.1. Mémoire spatiale de travail dans le test de l'alternance spontanée en labyrinthe Y au jour 8.

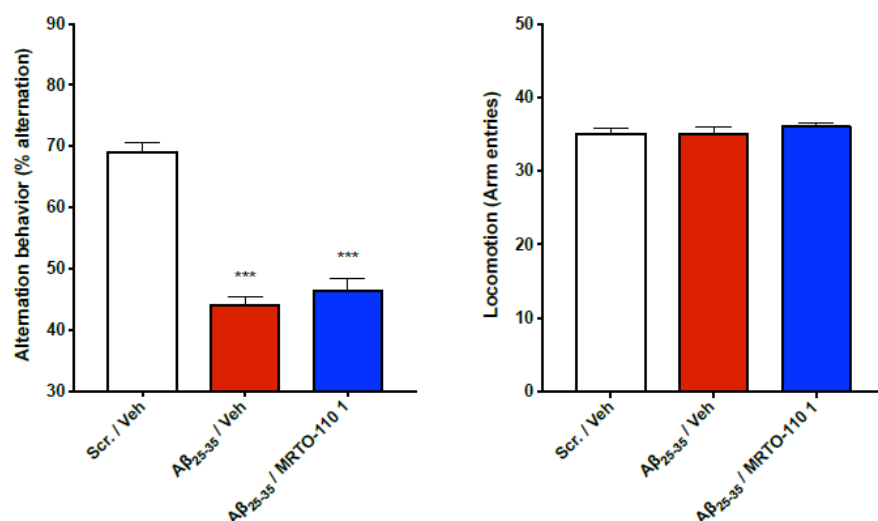
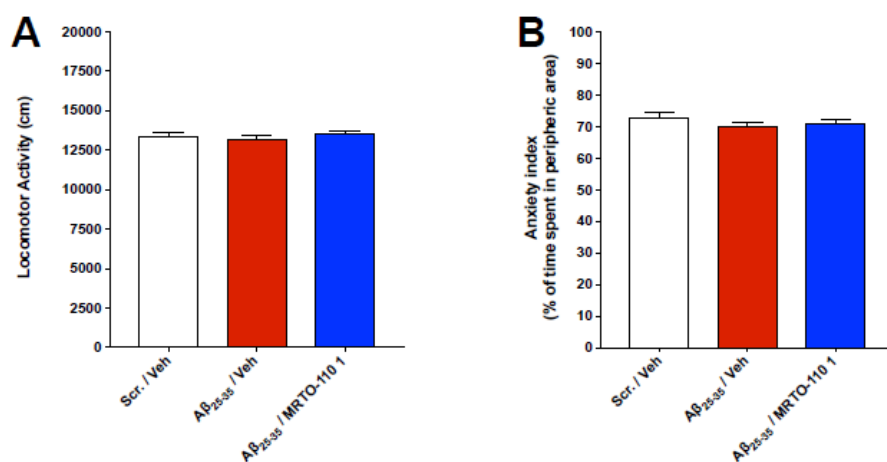


Figure 34 : Effet de l'ondansétron (MRT0-110) sur la mémoire spatiale de travail en labyrinthe en Y. A droite, graphique représentant l'alternance spontanée. A gauche, graphique représentant la locomotion des souris testées. Scr./Veh : contrôle négatif.

L'injection du peptide Aβ₂₅₋₃₅ diminue de manière significative la mémoire spatiale, en comparaison avec les souris injectée avec le peptide Sc.Aβ (figure 34). Le traitement par ondansétron à 1 mg/kg n'a montré aucun effet bénéfique. Aucune différence n'a été constaté dans l'activité locomotrice dans la procédure du labyrinthe en Y.

3.3.2.2. Reconnaissance de nouvel objet (NOR) au jour 11.



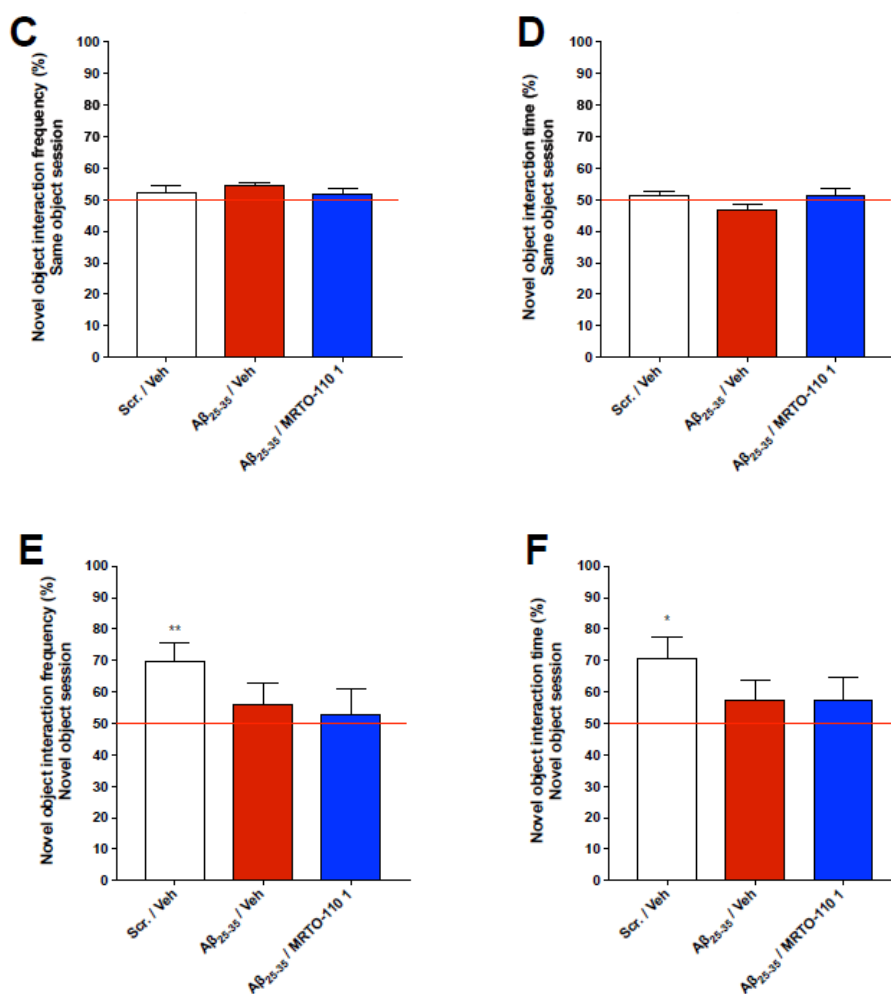


Figure 35 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) à 1 mg/kg chez les souris déficientes Aβ₂₅₋₃₅ par test de reconnaissance de nouvel objet (NOR). **A :** Evaluation de la locomotion. **B :** index d'anxiété. **C :** Fréquence d'interaction pendant la session NOR avec les mêmes objets. **D :** Temps d'interaction pendant la session NOR avec les mêmes objets. **E :** Fréquence d'interaction avec le nouvel objet. **F :** Temps d'interaction avec le nouvel objet.

L'injection du peptide Aβ₂₅₋₃₅ n'a montré aucun effet sur la locomotion (figure 35A), le niveau d'anxiété (B), ni de différences dans l'interaction avec un même objet en terme de fréquence d'interaction (C), ou de temps d'interaction (D) comparé aux souris injectées avec le peptide Sc.Aβ. En revanche, l'injection du peptide Aβ₂₅₋₃₅ a significativement diminué la reconnaissance d'un nouvel objet durant la session NOR en terme de fréquence (E) et de temps d'interaction (F), en comparaison aux souris Sc.Aβ.

De manière générale, l'ondansétron à la dose de 1 mg/kg n'a montré aucune différence ou d'effet bénéfique sur tous ces paramètres.

Face à ces résultats, la dose a donc été augmentée à 3 mg/kg 1 fois par jour en IP du jour 18 au jour 32. Les mêmes tests évaluant la cognition des souris sont réalisés. Le test en labyrinthe en Y a été réalisé le jour 29 et le test NOR du jour 30 au jour 32.

3.3.2.3. Mémoire de travail spatiale dans le test de l'alternance spontanée en labyrinthe Y au jour 29.

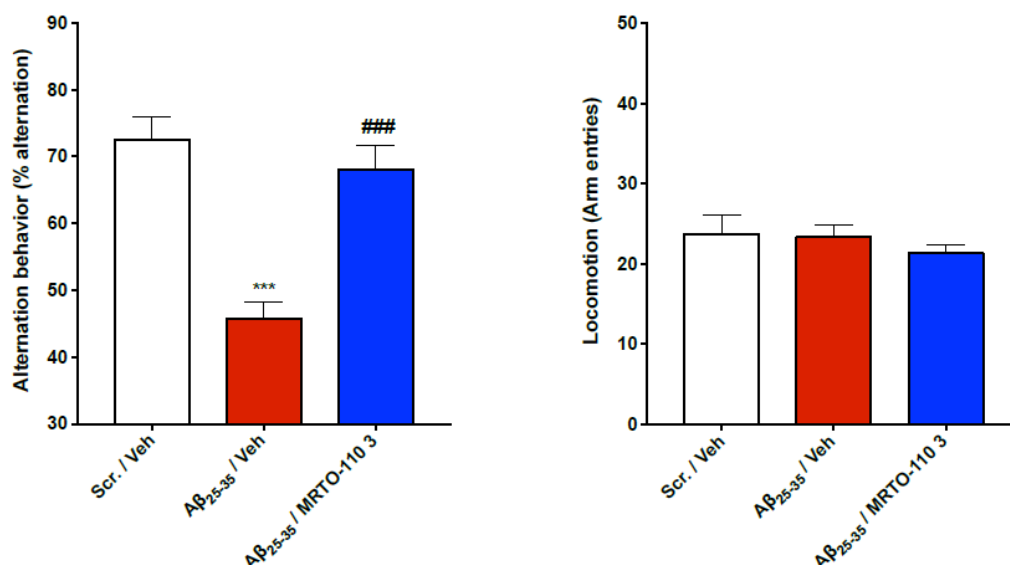
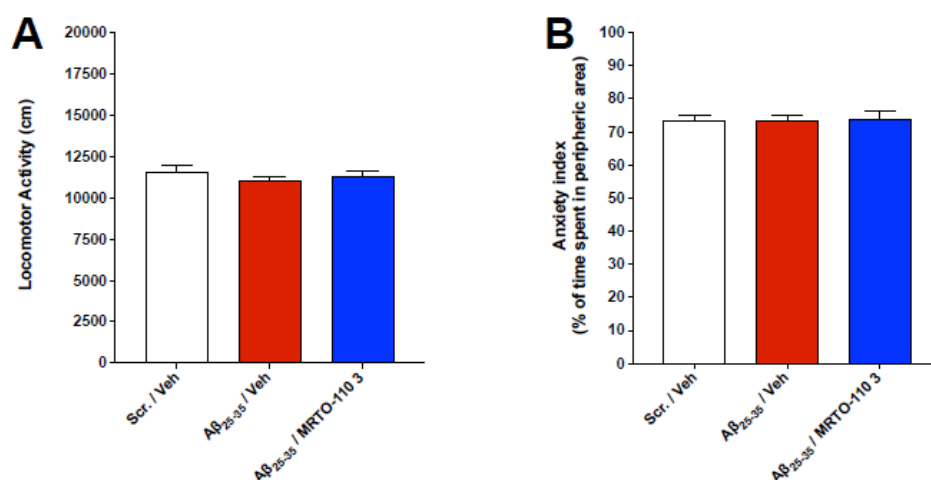


Figure 36 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) à 3 mg/kg sur l'alternance spontanée en labyrinthe en Y chez les souris Aβ₂₅₋₃₅. Le graphique de gauche représente l'alternance spontanée des souris. Le graphique de droite représente la locomotion. *** p < 0.001 vs Sc./Veh ; ### p < 0.001 vs Aβ₂₅₋₃₅/Veh.

L'injection de Aβ₂₅₋₃₅ diminue de manière fortement significative la mémoire spatiale en comparaison avec les souris Sc.Aβ (figure 36). L'ondansétron à la dose de 3 mg/kg améliore fortement et de manière très significative les déficits cognitifs.

En revanche il n'y a pas eu de différences observées dans l'activité locomotrice dans la procédure de labyrinthe en Y.

3.3.2.4. Reconnaissance de nouvel objet (NOR) au jour 30.



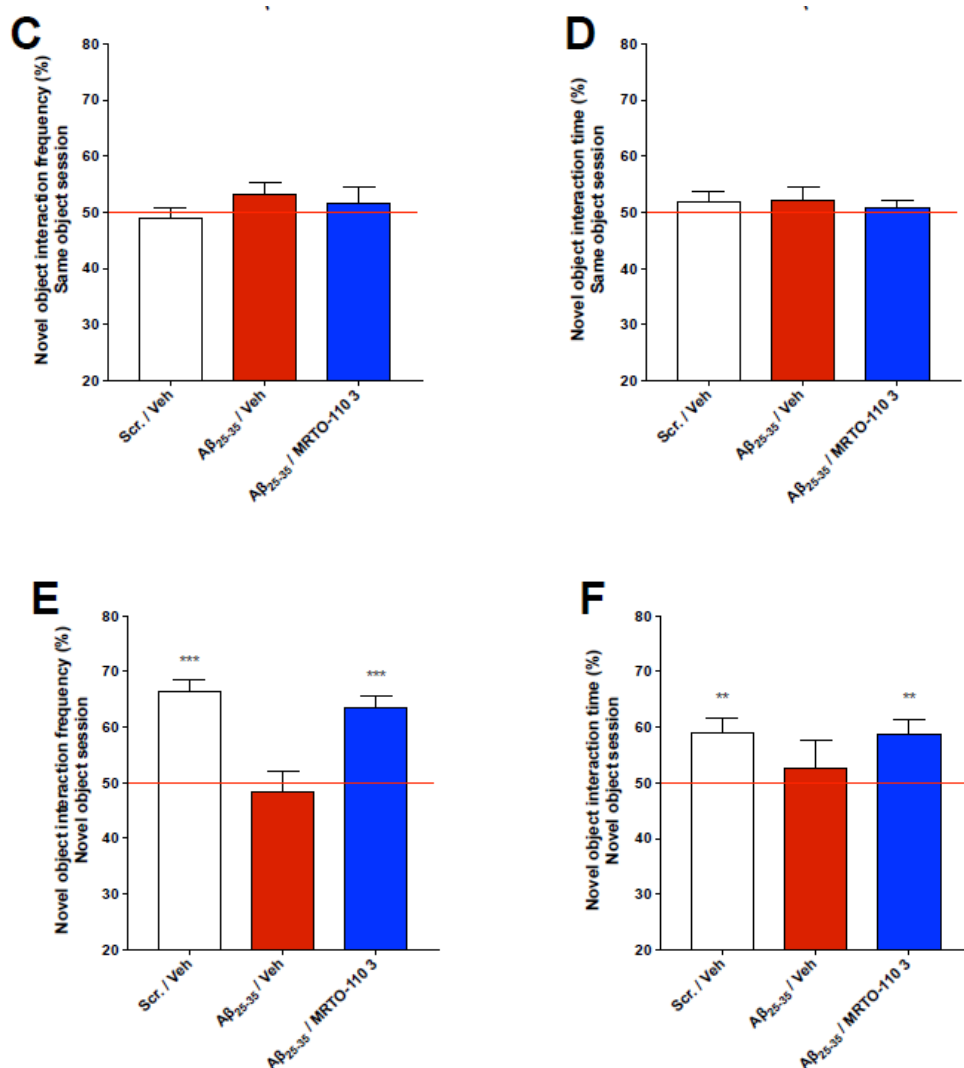


Figure 37 : Effet de l'ondansétron (MRTO-110) à 3 mg/kg chez les souris déficientes Aβ₂₅₋₃₅ par test de reconnaissance de nouvel objet (NOR). **A** : Evaluation de la locomotion. **B** : index d'anxiété. **C** : Fréquence d'interaction pendant la session NOR avec les mêmes objets. **D** : Temps d'interaction pendant la session NOR avec les mêmes objets. **E** : Fréquence d'interaction avec le nouvel objet. **F** : Temps d'interaction avec le nouvel objet.

L'injection du peptide Aβ₂₅₋₃₅ n'a montré aucun effet sur la locomotion (figure 37A), le niveau d'anxiété (B), ni aucune différence d'interaction avec un même objet en terme de fréquence d'interaction (C) ou de temps d'interaction (D), en comparaison avec les souris Sc.Aβ. L'injection de Aβ₂₅₋₃₅ diminue de manière significative la reconnaissance d'un nouvel objet durant la session de NOR en terme de fréquence (E) et de temps d'interaction (F), en comparaison avec les souris Sc.Aβ.

L'ondansétron à la dose de 3 mg/kg n'a montré aucun effet sur la locomotion (A), le niveau d'anxiété (B), ni de différence dans l'interaction avec un même objet en termes de fréquence d'interaction (C) ou de temps d'interaction (D). En revanche, l'ondansétron à la dose de 3 mg/kg améliore fortement et de manière très significative les déficits dans la

mémoire de reconnaissance (E) et (F), en comparaison avec les souris injectées avec le peptide A β ₂₅₋₃₅ avec véhicule.

3.3.3. Conclusion de l'étude

De manière générale, l'injection du peptide A β ₂₅₋₃₅ induit des déficits importants dans les performances de mémoire à long-terme de reconnaissance et spatiale, en comparaison avec les souris Sc.A β ou traitées.

L'ondansétron, à la dose de 1 mg/kg n'a montré aucun effet bénéfique une semaine après l'induction de ces déficits, mais il a montré un effet significativement bénéfique un mois après l'induction de déficits lorsque la dose du traitement a été augmentée à 3 mg/kg.

3.4. Etude des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ dans un modèle de souris Alzheimer

La même étude est réalisée avec cette fois tous les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés, à savoir l'ondansétron, le granisétron, le tropisétron et le palonosétron.

3.4.1. Matériel et méthode

Au jour 1, les peptides Sc.A β ou A β ₂₅₋₃₅ oligomériques sont injectés en ICV. Du jour 1 jusqu'au jour 18, les composés testés sont administrés en IP 1 fois par jour 30 min avant l'injection de peptide et 1h après les tests de cognition.

Du jour 15 au jour 18, l'efficacité du composé a été évalué :

- Mémoire spatiale de travail : alternance spontanée dans un labyrinthe en Y au jour 15.
- Reconnaissance de nouvel objet du jour 16 au jour 18.

Les tests de cognition ont été réalisés une heure après l'administration du composé. Au jour 18, après le test de cognition, tous les animaux sont sacrifiés.

Les groupes de traitement sont les suivant :

- Groupe 1 : Sc.A β + véhicule IP, 1 fois par jour.
- Groupe 2 : A β ₂₅₋₃₅ + véhicule IP, 1 fois par jour.
- Groupe 3 : A β ₂₅₋₃₅ + MRTO-11G (granisétron) 3 mg/kg IP, 1 fois par jour.
- Groupe 4 : A β ₂₅₋₃₅ + MRTO-11O (ondansétron) 3 mg/kg IP, 1 fois par jour.
- Groupe 5 : A β ₂₅₋₃₅ + MRTO-11P (palonosétron) 0.3 mg/kg IP, 1 fois par jour.
- Groupe 6 : A β ₂₅₋₃₅ + MRTO-11T (tropisétron) 3 mg/kg IP, 1 fois par jour.

Chaque groupe est composé de 12 souris mâles Swiss.

3.4.2. Résultats

3.4.2.1. Mémoire de travail spatiale dans le test de l'alternance spontanée en labyrinthe Y au jour 15.

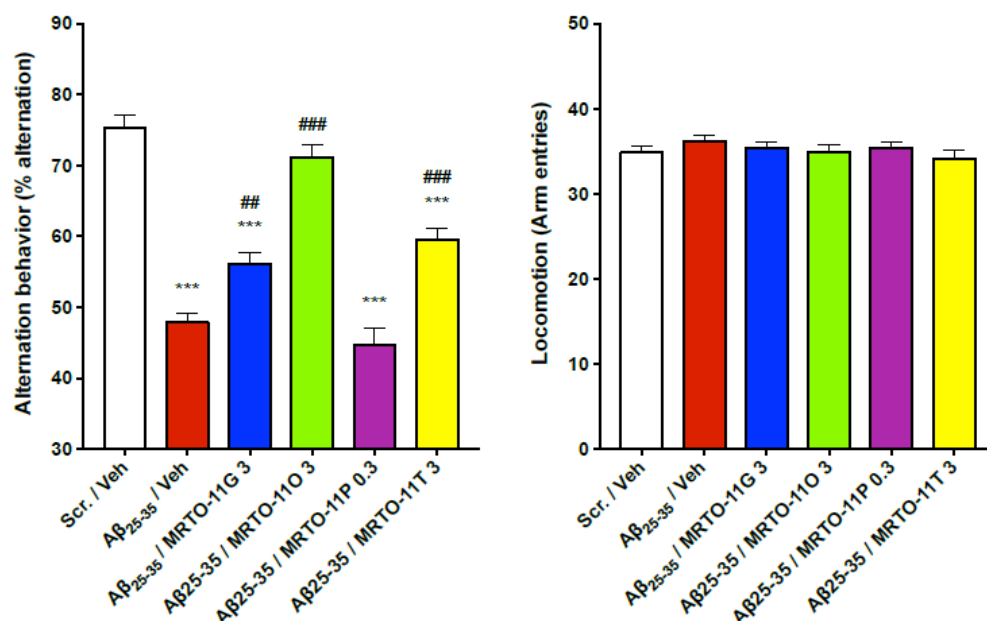


Figure 38 : Effet du granisétron (MRTO-11G), ondansétron (MRTO-11O), palonosétron (MRTO-11P) et tropisétron (MRTO-11T) sur l'alternance spontanée en labyrinthe en Y chez les souris Aβ₂₅₋₃₅. Les doses sont exprimées en mg/kg. *** p < 0.001 vs Sc.Aβ/Veh ; ## p < 0.01, ### p < 0.001 vs Aβ₂₅₋₃₅/Veh.

L'injection de Aβ₂₅₋₃₅ diminue de manière fortement significative la mémoire spatiale, en comparaison avec les souris Sc.Aβ (figure 38).

Le traitement par granisétron et tropisétron à 3 mg/kg a montré une différence significative par rapport au véhicule mais n'a que partiellement amélioré les déficits en mémoire spatiale induits par l'injection de Aβ₂₅₋₃₅ par ICV dans les souris.

Le traitement par ondansétron à la dose de 3 mg/kg a restauré de manière complète et significative la mémoire spatiale chez les souris injectées avec le peptide Aβ₂₅₋₃₅ en ICV.

En revanche, le traitement par palonosétron à la dose de 0.3 mg/kg n'a montré aucun effet bénéfique.

D'autre part, il n'y a pas eu de différence observée dans l'activité locomotrice dans la procédure en labyrinthe en Y.

3.4.2.2. Reconnaissance de nouvel objet (NOR) au jour 11.

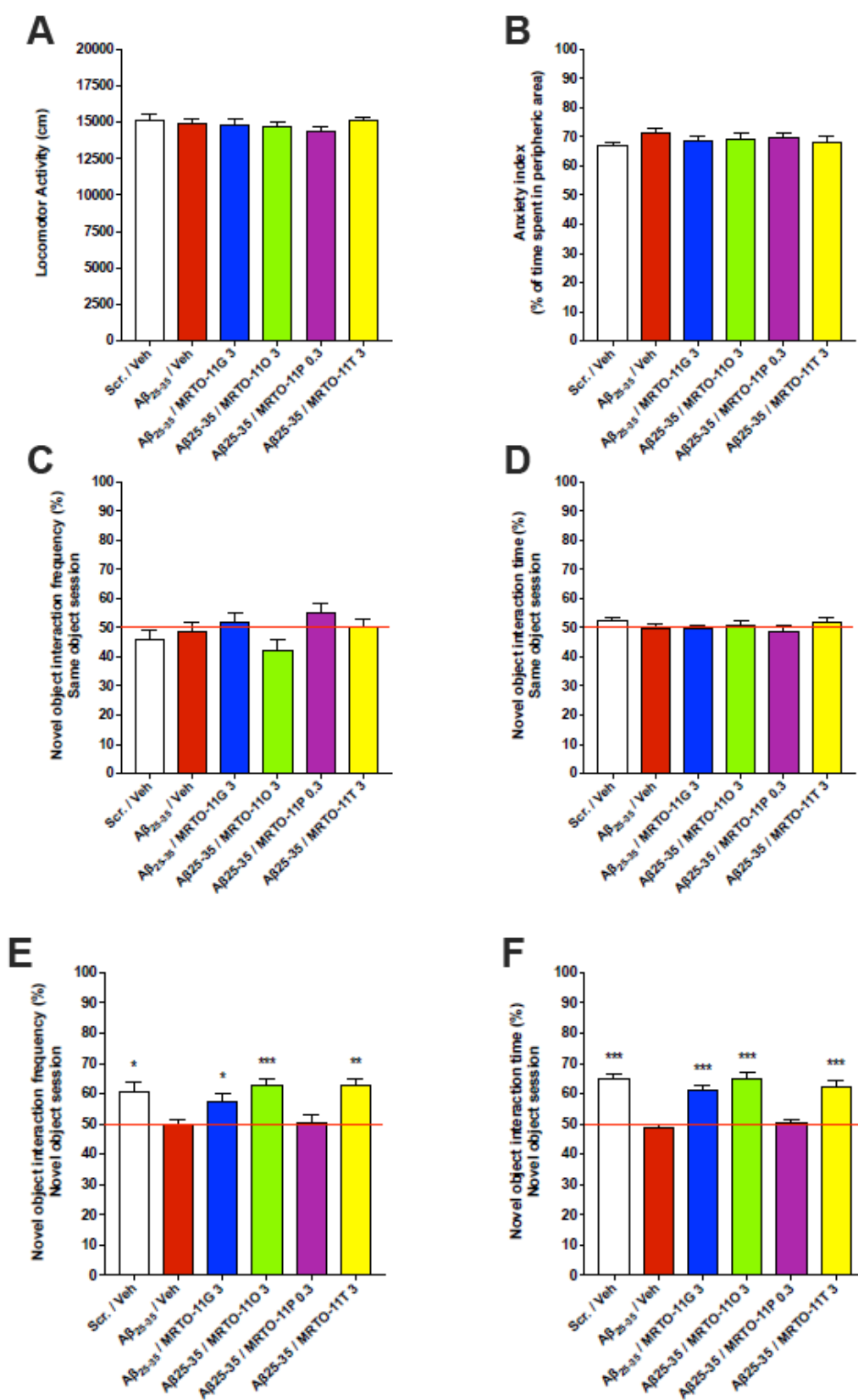


Figure 39: Effet du granisétron (MRTO-11G), ondansétron (MRTO-11O), palonosétron (MRTO-11P) et tropisétron (MRTO-11T) sur les déficiences cognitives en test de reconnaissance d'objet NOR chez les souris Aβ₂₅₋₃₅.

35. **A** : Evaluation de la locomotion. **B** : index d'anxiété. **C** : Fréquence d'interaction pendant la session NOR avec les mêmes objets. **D** : Temps d'interaction pendant la session NOR avec les mêmes objets. **E** : Fréquence d'interaction avec le nouvel objet. **F** : Temps d'interaction avec le nouvel objet. Les doses sont exprimées en mg/kg. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ vs la valeur théorique de 50% (ligne rouge).

L'injection du peptide $A\beta_{25-35}$ n'a montré aucun effet sur la locomotion (figure 39A), le niveau d'anxiété (B), ni de différence dans l'interaction avec un même objet en terme de fréquence d'interaction (C), ou de temps d'interaction (D), en comparaison avec les souris Sc.A β . En revanche, l'injection de $A\beta_{25-35}$ a diminué de manière significative la reconnaissance d'un nouvel objet durant la tâche de NOR en terme de fréquence (E) et de temps d'interaction (F), en comparaison avec les souris Sc.A β .

Le traitement par granisétron, ondansétron et tropisétron à 3 mg/kg a significativement atténué les déficits de mémoire de reconnaissance à long terme induits par l'injection en ICV du peptide $A\beta_{25-35}$ dans les souris. En revanche le traitement par palonosétron à 0.3 mg/kg n'a montré aucun effet bénéfique.

3.4.3. Conclusion de l'étude

De manière générale, l'injection de $A\beta_{25-35}$ a induit de très importants déficits dans les performances de mémoire spatiale et mémoire à long terme de reconnaissance, en comparaison avec les souris Sc.A β .

Le traitement par granisétron, ondansétron et tropisétron à 3 mg/kg a amélioré de manière significative la mémoire spatiale et la mémoire de reconnaissance à long terme et a atténué ces déficits induits par l'injection du peptide $A\beta_{25-35}$ en ICV. En revanche, le traitement par palonosétron à 0.3 mg/kg n'a montré aucun effet bénéfique.

Discussion et conclusion

L'ondansétron, le granisétron et le tropisétron, antagonistes de première génération, se distinguent du palonosétron, antagoniste de deuxième génération. Les antagonistes de première génération sont des antagonistes compétitifs alors que le palonosétron est un antagoniste allostérique. Ajouté à cela, leurs mécanismes d'action permettent une lutte efficace contre les nausées et vomissements induits par chimiothérapie. Cette classe pharmacologique a même révolutionné la prise en charge des patients suivis en chimiothérapie, radiothérapie et même en post-opératoire. Cela est compréhensible de par leur profil de tolérance plus que favorable avec seulement des céphalées et constipation légères à modérées comme effets indésirables. De plus, ils présentent un index thérapeutique très large permettant l'accessibilité à une large gamme de doses efficaces et sûres.

L'implication du système sérotoninergique par le biais du système cholinergique dans les troubles cognitifs est établie. Par ce fait, de nombreux essais *in vivo* sur modèles animaux, essentiellement rongeurs (rat et souris) et singes, ont été réalisés pour déterminer en quoi les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ pourraient rétablir la mémoire et la cognition. Cependant, une méthodologie très hétérogène rend difficile d'affirmer le potentiel thérapeutique des antagonistes des récepteurs 5-HT₃. Il est à noter que le tropisétron représente une sérieuse piste thérapeutique dans les déficiences cognitives. En effet, l'agonisme partiel aux récepteurs nACh $\alpha 7$ impliqués dans la maladie d'Alzheimer ferait du tropisétron un neuroprotecteur et permettrait de prévenir la déficience cognitive et le développement de la maladie d'Alzheimer. Des essais cliniques sont à poursuivre dans ce sens.

Au sein de ManRos Therapeutics, des modèles murins de la maladie d'Alzheimer et de la Trisomie 21 [86] ont été utilisés pour tester les effets des antagonistes 5-HT₃. Il est à noter qu'à notre connaissance aucune étude n'a été publiée sur l'utilisation des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés chez des modèles de souris Trisomie 21. Dans le modèle présentant un phénotype de Trisomie 21 le plus complet, Dp(16)Yey, aucun trouble cognitif n'a été observé au cours de l'alternance spontanée en labyrinthe en Y. En revanche, dans les deux modèles, on observe une restauration de la mémoire de reconnaissance d'objet après traitement par ondansétron. Dans les modèles murins de la maladie d'Alzheimer, les antagonistes de première génération, et notamment le tropisétron et l'ondansétron, améliorent de manière significative la mémoire spatiale et de reconnaissance à long terme.

Toutes ces données mises en perspectives sont encourageantes car on observe des effets bénéfiques du traitement par antagonistes des récepteurs 5-HT₃. Cependant, les études sont à poursuivre notamment dans la détermination de la dose efficace, ainsi que les modèles animaux utilisés. D'autres part, la réalisation d'essais cliniques appuierait grandement ces résultats préliminaires. Ajouté à cela, la perspective d'une nouvelle indication de ces antagonistes dans les troubles cognitifs pose la question de la formulation galénique. Nous

avons pu voir dans cette thèse que l'administration *via* le système cutané semble être une alternative intéressante et cohérente avec le traitement des troubles cognitifs à long terme.

Ces antagonistes ont aussi des applications potentielles dans le traitement d'autres troubles médiés par les récepteurs 5-HT₃ tels que la douleur viscérale ou chimiquement induite, la schizophrénie, la migraine et l'anxiété [4]. La possibilité d'un rôle de l'ondansétron dans la pratique psychiatrique a aussi été explorée. Des études chez les rongeurs et les primates ont démontré un effet anxiolytique, et une atténuation des syndromes de sevrage après une administration chronique de benzodiazépines, nicotine, éthanol, ou cocaïne. De plus, l'ondansétron est dépourvu d'effets sédatifs, une caractéristique qui pourrait être avantageuse dans les milieux cliniques. Au final, les indications provenant des études chez l'animal et l'Homme montrent que l'ondansétron a un potentiel antipsychotique, offrant un nouvel espoir d'un nouveau traitement pour la schizophrénie, sans les effets extrapyramidaux induits par les neuroleptiques courants [2]. L'amélioration de l'apprentissage et de la mémoire chez les humains par les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ pourrait être pertinent dans le traitement de la schizophrénie, de la maladie de Parkinson et de la chorée de Huntington. Le traitement à l'ondansétron des patients parkinsoniens atteints de psychose dopamimomimétique associée à la lévodopa s'est amélioré dans les hallucinations visuelles, les délires paranoïaques, la confusion ainsi que les déficiences fonctionnelles globales associées, qui, cependant, n'a pas pu être reproduite dans une autre étude [19].

A terme, du point de vue d'une entreprise du médicament, quel que soit sa taille, les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ pourraient être une cible potentielle dans le repositionnement de médicaments. En effet, de manière générale, l'identification de nouvelles indications pour des composés existants par le repositionnement de médicaments pourrait compléter la découverte de médicaments traditionnels en atténuant les coûts et les risques financiers et temporels élevés associés à ces derniers. Avec un taux d'échec d'environ 45 % associé à des problèmes d'innocuité ou de toxicité, l'atténuation du risque d'innocuité, en plus de l'économie de 5 à 7 ans en temps moyen de développement de médicaments, constitue une perspective intéressante pour les développeurs de médicaments et les patients. En effet, ces derniers ont tout intérêt à bénéficier d'un accès plus rapide à des médicaments qui, non seulement ne seraient pas disponibles autrement, mais qui présentent également des profils d'innocuité bien documentés. Malgré l'abréviation possible du cheminement de développement clinique pour les médicaments repositionnés, la nécessité de démontrer l'efficacité des molécules dans de nouvelles indications demeure un engagement important, et les sociétés pharmaceutiques doivent relever le défi de récupérer l'investissement nécessaire pour mettre un produit réorienté sur le marché. Les incitations existantes pour soutenir l'investissement dans le développement de médicaments à des fins nouvelles comprennent 3 ans d'exclusivité commerciale aux États-Unis et 10 ans en Europe. Pour profiter de cette exclusivité, les produits dépendent de la génération de nouvelles propriétés intellectuelles (PI). Une telle PI peut découler du concept de repositionnement lui-même, d'une nouvelle formulation ou d'un certain nombre d'autres voies (niveau de dose,

combinaison de médicaments et voie d'administration) qui pourraient améliorer le médicament en l'adaptant spécifiquement à une nouvelle population de patients. Néanmoins, et en particulier pour les composés pour lesquels il existe des données substantielles, une nouvelle PI peut être difficile à obtenir et peut limiter le portefeuille de composés qui peuvent être utilisés par les sociétés pharmaceutiques [87].

Pour conclure, cette thèse fait la revue des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ potentiellement repositionnables pour une indication dans les troubles cognitifs. Il existe un réel enjeu thérapeutique et cela doit encourager la poursuite d'étude précliniques et cliniques afin de compléter l'arsenal thérapeutique dans ces troubles.

Références

- [1] Joss, R. A. « Tropisetron and the 5-HT₃ Antiemetics in Perspective ». **Annals of Oncology** 4, n° suppl 3 (1 janvier 1993) : S1-S1.
- [2] Deegan, Robert. « Ondansetron: Pharmacology of a Specific 5HT₃-Receptor Antagonist ». **The American Journal of the Medical Sciences** 304, no 6 (1 décembre 1992): 373-78.
- [3] De Leon, Andrew. « Palonosetron (Aloxi): A Second-Generation 5-HT₃ Receptor Antagonist for Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting ». **Proceedings** (Baylor University. Medical Center) 19, no 4 (octobre 2006): 413-16.
- [4] Plosker, Greg L., et Karen L. Goa. « Granisetron: A Review of Its Pharmacological Properties and Therapeutic Use as an Antiemetic ». **Drugs** 42, n° 5 (novembre 1991): 805-24.
- [5] Wolf, H. « Preclinical and Clinical Pharmacology of the 5-HT₃ Receptor Antagonists ». **Scandinavian Journal of Rheumatology**. Supplement 113 (2000): 37-45.
- [6] Butler, A., J. M. Hill, S. J. Ireland, C. C. Jordan, et M. B. Tyers. « Pharmacological Properties of GR38032F, a Novel Antagonist at 5-HT₃ Receptors ». **British Journal of Pharmacology** 94, n° 2 (1 juin 1988): 397-412.
- [7] Milne, Richard J., et Rennie C. Heel. « Ondansetron ». **Drugs** 41, no 4 (1 avril 1991): 574-95.
- [8] Gan, Tong J. « Selective Serotonin 5-HT₃ Receptor Antagonists for Postoperative Nausea and Vomiting ». **CNS Drugs** 19, no 3 (1 mars 2005): 225-38.
- [9] Lummis, Sarah C. R. « 5-HT₃ Receptors ». **Journal of Biological Chemistry** 287, n° 48 (23 novembre 2012): 40239-45.
- [10] Simpson, Karen H., et Fiona M. Hicks. « Clinical Pharmacokinetics of Ondansetron. A Review ». **Journal of Pharmacy and Pharmacology** 48, no 8 (1 août 1996): 774-81.
- [11] Blower, Peter R. « Granisetron: Relating Pharmacology to Clinical Efficacy ». **Supportive Care in Cancer** 11, n° 2 (1 février 2003): 93-100.
- [12] Hsu, Eric S. « A Review of Granisetron, 5-Hydroxytryptamine₃ Receptor Antagonists, and Other Antiemetics ». **American Journal of Therapeutics** 17, n° 5 (octobre 2010): 476.
- [13] Tan, Marianne. « Granisetron: new insights into its use for the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting ». **Expert Opinion on Pharmacotherapy** 4, n° 9 (1 septembre 2003): 1563-71.
- [14] Jordan, Karin, Hans J. Schmoll, et Matti S. Aapro. « Comparative activity of antiemetic drugs ». **Critical Reviews in Oncology/Hematology** 61, n° 2 (1 février 2007): 162-75.
- [15] Christofaki, M., et A. Papaioannou. « Ondansetron: a review of pharmacokinetics and clinical experience in postoperative nausea and vomiting ». **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology** 10, n° 3 (1 mars 2014): 437-44.

- [16] Mori-Vogt, Sherry, et Marlo Blazer. « Palonosetron for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting ». **Expert Review of Anticancer Therapy** 13, n° 8 (1 août 2013): 919-36.
- [17] Navari, Rudolph M. « Palonosetron: a second generation 5-hydroxytryptamine 3 receptor antagonist ». **Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology** 5, n° 12 (1 décembre 2009): 1577-86.
- [18] Thompson, Andrew J. « Recent developments in 5-HT₃ receptor pharmacology ». **Trends in Pharmacological Sciences** 34, no 2 (1 février 2013): 100-109
- [19] Walstab, Jutta, Gudrun Rappold, et Beate Niesler. « 5-HT₃ receptors: Role in disease and target of drugs ». **Pharmacology & Therapeutics** 128, n° 1 (1 octobre 2010): 146-69.
- [20] Rocha E Silva, M., J. R. Valle, et Zuleika P. Picarelli. « A pharmacological analysis of the mode of action of serotonin (5-hydroxytryptamine) upon the guinea-pig ileum ». **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy** 8, no 4 (décembre 1953): 378-88.
- [21] Gaddum, J. H. « Tryptamine receptors ». **The Journal of Physiology** 119, no 2-3 (27 février 1953): 363-68.
- [22] Gaddum, J. H., et Z. P. Picarelli. « Two kinds of tryptamine receptor ». **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy** 12, n° 3 (septembre 1957): 323-28.
- [23] Hoyer, D., D. E. Clarke, J. R. Fozard, P. R. Hartig, G. R. Martin, E. J. Mylecharane, P. R. Saxena, et P. P. Humphrey. « International Union of Pharmacology Classification of Receptors for 5-Hydroxytryptamine (Serotonin). » **Pharmacological Reviews** 46, n° 2 (1 juin 1994): 157-203.
- [24] Ye, Jiang-Hong, Rex Ponnudurai, et Rebecca Schaefer. « Ondansetron: A Selective 5-HT₃ Receptor Antagonist and Its Applications in CNS-Related Disorders ». **CNS Drug Reviews** 7, no 2 (1 juin 2001): 199 213.
- [25] Wilde, Michelle I., et Anthony Markham. « Ondansetron: A Review of Its Pharmacology and Preliminary Clinical Findings in Novel Applications ». **Drugs** 52, no 5 (novembre 1996): 773 94.
- [26] Ireland, S.J., et M.B. Tyers. « Pharmacological Characterization of 5-Hydroxytryptamine-Induced Depolarization of the Rat Isolated Vagus Nerve ». **British Journal of Pharmacology** 90, n° 1 (janvier 1987): 229-38.
- [27] Buchheit, K. H., G. Engel, E. Mutschler, et B. Richardson. « Study of the Contractile Effect of 5-Hydroxytryptamine (5-HT) in the Isolated Longitudinal Muscle Strip from Guinea-Pig Ileum. Evidence for Two Distinct Release Mechanisms ». **Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology** 329, no 1 (mars 1985): 36 41.
- [28] Fozard, John R., Abu T.M. Mobarok Ali, et Gillian Newgrosh. « Blockade of Serotonin Receptors on Autonomic Neurones by (–)-Cocaine and Some Related Compounds ». **European Journal of Pharmacology** 59, n° 3-4 (novembre 1979): 195-210.
- [29] Kilpatrick, Gavin J., Brian J. Jones, et Michael B. Tyers. « Binding of the 5-HT₃ Ligand, [3H]GR65630, to Rat Area Postrema, Vagus Nerve and the Brains of Several Species ». **European Journal of Pharmacology** 159, n° 2 (janvier 1989): 157-64.

- [30] Gamse, R. « Antiemetic Action of 5-HT₃ Receptor Antagonists: Review of Preclinical and Clinical Results with ICS 205–930 ». **Cancer Treatment Reviews** 17, n° 2-3 (septembre 1990): 301-5.
- [31] Barnes, Nicholas M., Tim G. Hales, Sarah C.R. Lummis, et John A. Peters. « The 5-HT₃ Receptor – the Relationship between Structure and Function ». **Neuropharmacology** 56, n° 1 (janvier 2009): 273-84.
- [32] Gregory, R. Elizabeth, et David S. Ettinger. « 5-HT₃ Receptor Antagonists for the Prevention of Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting ». **Drugs** 55, n° 2 (1 février 1998): 173-89.
- [33] Roila, Fausto, et Albano Del Favero. « Ondansetron Clinical Pharmacokinetics ». **Clinical Pharmacokinetics** 29, no 2 (1 août 1995): 95 109.
- [34] Lee, C. Rhoda, Greg L. Plosker, et Donna McTavish. « Tropisetron ». **Drugs** 46, n° 5 (1 novembre 1993): 925-43.
- [35] Yang, Lily P.H., et Lesley J. Scott. « Palonosetron: In the Prevention of Nausea and Vomiting ». **Drugs** 69, n° 16 (novembre 2009): 2257-78.
- [36] Eisenberg, P., F. R. MacKintosh, P. Ritch, P. A. Cornett, et A. Macciocchi. « Efficacy, Safety and Pharmacokinetics of Palonosetron in Patients Receiving Highly Emetogenic Cisplatin-Based Chemotherapy: A Dose-Ranging Clinical Study ». **Annals of Oncology** 15, n° 2 (1 février 2004): 330-37.
- [37] Siddiqui, M. Asif A., et Lesley J. Scott. « Palonosetron ». **Drugs** 64, n° 10 (1 mai 2004): 1125-32.
- [38] Feyer, Petra, M. Heinrich Seegenschmiedt, et Maria Steingraeber. « Granisetron in the Control of Radiotherapy-Induced Nausea and Vomiting: A Comparison with Other Antiemetic Therapies ». **Supportive Care in Cancer** 13, n° 9 (1 septembre 2005): 671-78.
- [39] Coluzzi, Flaminia, et Consalvo Mattia. « Management of Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting in Patients Receiving Multiple-Day Highly or Moderately Emetogenic Chemotherapy: Role of Transdermal Granisetron ». **Future Oncology (London, England)** 12, n° 16 (août 2016): 1865-76.
- [40] Kutz, K. « Pharmacology, Toxicology and Human Pharmacokinetics of Tropisetron ». **Annals of Oncology** 4, n° suppl 3 (1 janvier 1993): S15-18.
- [41] Yarker, Yvonne E., et Donna McTavish. « Granisetron: An Update of Its Therapeutic Use in Nausea and Vomiting Induced by Antineoplastic Therapy ». **Drugs** 48, n° 5 (novembre 1994): 761-93.
- [42] Costall, B., A. M. Domeney, R. J. Naylor, et F. D. Tattersall. « Emesis Induced by Cisplatin in the Ferret as a Model for the Detection of Anti-Emetic Drugs ». **Neuropharmacology** 26, no 9 (septembre 1987): 1321 26.
- [43] Howell, Julian, Jean Smeets, Henk-Jan Drenth, et David Gill. « Pharmacokinetics of a Granisetron Transdermal System for the Treatment of Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting ». **Journal of Oncology Pharmacy Practice** 15, n° 4 (1 décembre 2009): 223-31.

[44] Stoltz, Randall, Simona Parisi, Ajit Shah, et Alberto Macciocchi. « Pharmacokinetics, Metabolism and Excretion of Intravenous [L4C]-Palonosetron in Healthy Human Volunteers ». **Biopharmaceutics & Drug Disposition** 25, n° 8 (novembre 2004): 329-37.

[45] Simpson, K. H., P. Murphy, P. V. Colthup, et P. Whelan. « Concentration of Ondansetron in Cerebrospinal Fluid Following Oral Dosing in Volunteers ». **Psychopharmacology** 109, n° 4 (1 décembre 1992): 497-98.

[46] Duan, Mingyu, Li Qin, Dafang Zhong, et Peng Zhang. « Identification of Novel Ondansetron Metabolites Using LC/MSn and NMR ». **Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences** 1095 (15 septembre 2018): 138-41.

[47] Bruijn, K. M. de. « The Development of Tropisetron in Its Clinical Perspective ». **Annals of Oncology** 4, n° suppl 3 (1 janvier 1993): S19-23.

[48] Buhot, Marie-Christine. « Serotonin Receptors in Cognitive Behaviors ». **Current Opinion in Neurobiology** 7, n° 2 (avril 1997): 243-54.

[49] Greenshaw, Andrew J., et Peter H. Silverstone. « The Non-Antiemetic Uses of Serotonin 5-HT₃ Receptor Antagonists: Clinical Pharmacology and Therapeutic Applications ». **Drugs** 53, n° 1 (janvier 1997): 20-39.

[50] Morris, Richard. « Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat ». **Journal of Neuroscience Methods** 11, n° 1 (1 mai 1984): 47-60.

[51] Vorhees, Charles V., et Michael T. Williams. « Morris Water Maze: Procedures for Assessing Spatial and Related Forms of Learning and Memory ». **Nature Protocols** 1, n° 2 (août 2006): 848.

[52] « Virtual Morris Water Maze ». **Maze Engineers** (blog). Consulté le 16 juin 2019. <https://mazeengineers.com/portfolio/virtual-reality-morris-water-maze/>.

[53] Hölter, Sabine M., Lillian Garrett, Jan Einicke, Bettina Sperling, Petra Dirscherl, Annemarie Zimprich, Helmut Fuchs, Valerie Gailus-Durner, Martin Hrabě de Angelis, et Wolfgang Wurst. « Assessing Cognition in Mice ». **Current Protocols in Mouse Biology** 5, n° 4 (2015): 331-58.

[54] Deacon, Robert M J, et J Nicholas P Rawlins. « T-Maze Alternation in the Rodent ». **Nature Protocols** 1, n° 1 (juin 2006): 7-12.

[55] Ennaceur, A., et J. Delacour. « A New One-Trial Test for Neurobiological Studies of Memory in Rats. 1: Behavioral Data ». **Behavioural Brain Research** 31, n° 1 (novembre 1988): 47-59.

[56] Genoux, David, Ursula Haditsch, Marlen Knobloch, Aubin Michalon, Daniel Storm, et Isabelle M. Mansuy. « Protein Phosphatase 1 Is a Molecular Constraint on Learning and Memory ». **Nature** 418, n° 6901 (août 2002): 970-75.

[57] Vogel-Ciernia, Annie, et Marcelo A. Wood. « Examining Object Location and Object Recognition Memory in Mice ». **Current protocols in neuroscience / editorial board, Jacqueline N. Crawley ... [et al.]** 69 (8 octobre 2014): 8.31.1-8.31.17.

[58] Bristol, University of. « Behavioural Tasks | Centre for Synaptic Plasticity | University of Bristol ». Consulté le 12 juin 2019. <http://www.bris.ac.uk/synaptic/research/projects/memory/recognition-memory/memory-tasks.html>.

[59] Carey, G.J., B. Costall, A.M. Domeney, P.A. Gerrard, D.N.C. Jones, R.J. Naylor, et M.B. Tyers. « Ondansetron and Arecoline Prevent Scopolamine-Induced Cognitive Deficits in the Marmoset ». **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 42, n° 1 (mai 1992): 75-83.

[60] Fontana, D. J., S. E. Daniels, C. Henderson, R. M. Eglen, et E. H. F. Wong. « Ondansetron Improves Cognitive Performance in the Morris Water Maze Spatial Navigation Task ». **Psychopharmacology** 120, n° 4 (1 août 1995): 409-17.

[61] Pitsikas, Nikolaos, et Franco Borsini. « Different Effects of Tropisetron and Ondansetron in Learning and Memory Paradigms ». **Pharmacology Biochemistry and Behavior** 56, n° 4 (avril 1997): 571-76.

[62] Naghdi, Nasser, et Hooman E. Harooni. « The effect of intrahippocampal injections of ritanserine (5HT_{2A/2C} antagonist) and granisetron (5HT₃ antagonist) on learning as assessed in the spatial version of the water maze ». **Behavioural Brain Research** 157, n° 2 (28 février 2005): 205-10.

[63] Jäkälä, Pekka, Jouni Sirviö, et Paavo J. Riekkinen. « The effects of tacrine and zacopride on the performance of adult rats in the working memory task ». *General Pharmacology: The Vascular System* 24, n° 3 (1 mai 1993): 675-79.

[64] Broocks, Andreas, John T. Little, Alex Martin, Marcia D. Minichiello, Bellinda Dubbert, Carol Mack, Larry Tune, Dennis L. Murphy, et Trey Sunderland. « The Influence of Ondansetron and M-Chlorophenylpiperazine on Scopolamine-Induced Cognitive, Behavioral, and Physiological Responses in Young Healthy Controls ». **Biological Psychiatry** 43, n° 6 (15 mars 1998): 408-16.

[65] Little, J. T., A. Broocks, A. Martin, J. L. Hill, L. E. Tune, C. Mack, M. Cantillon, S. Molchan, D. L. Murphy, et T. Sunderland. « Serotonergic Modulation of Anticholinergic Effects on Cognition and Behavior in Elderly Humans ». **Psychopharmacology** 120, n° 3 (août 1995): 280-88.

[66] Dysken, Maurice, Michael Kuskowski, et Susan Love. « Ondansetron in the Treatment of Cognitive Decline in Alzheimer Dementia ». **The American Journal of Geriatric Psychiatry** 10, n° 2 (1 mars 2002): 212-15.

[67] Hashimoto, Kenji. « Tropisetron and its targets in Alzheimer's disease ». **Expert Opinion on Therapeutic Targets** 19, n° 1 (2 janvier 2015): 1-5.

[68] Meneses, Alfredo. « 5-HT systems: emergent targets for memory formation and memory alterations ». **Reviews in the Neurosciences** 24, n° 6 (2013): 629–664.

[69] Spilman, Patricia, Olivier Descamps, Olivia Gorostiza, Clare Peters-Libeu, Karen S. Poksay, Alexander Matalis, Jesus Campagna, et al. « The Multi-Functional Drug Tropisetron Binds APP and Normalizes Cognition in a Murine Alzheimer's Model ». **Brain Research** 1551 (10 mars 2014): 25-44.

[70] Rahimian, Reza, Gohar Fakhfour, Shahram Ejtemaei Mehr, Jean-Eric Ghia, Armando A. Genazzani, Borna Payandemehr, Ahmad Reza Dehpour, Kazem Mousavizadeh, et Dmitry Lim. « Tropisetron Attenuates Amyloid-Beta-Induced Inflammatory and Apoptotic Responses in Rats ». **European Journal of Clinical Investigation** 43, n° 10 (1 octobre 2013): 1039-51.

[71] Callahan, Patrick M., Daniel Bertrand, Sonia Bertrand, Marc R. Plagenhoef, et Alvin V. Terry. « Tropisetron Sensitizes A7 Containing Nicotinic Receptors to Low Levels of Acetylcholine in Vitro and Improves Memory-Related Task Performance in Young and Aged Animals ». **Neuropharmacology** 117 (mai 2017): 422-33.

[72] « Résumé des caractéristiques du produit - ZOPHREN 4 mg, comprimé pelliculé - Base de données publique des médicaments », 4 septembre 2018. <http://base-donnees-publique.medicaments.gouv.fr/affichageDoc.php?specid=60530882&typedoc=R>.

[73] Gilmore, James, Steven D'Amato, Niesha Griffith, et Lee Schwartzberg. « Recent advances in antiemetics: new formulations of 5HT3-receptor antagonists ». **Cancer Management and Research** 10 (3 juillet 2018): 1827-57.

[74] « Learn About Sancuso® (Granisetron Transdermal System) ». Consulté le 17 juin 2019. <http://www.sancuso.com/hcp/about-sancuso/index.html#>.

[75] Deeks, Emma D. « Granisetron Extended-Release Injection: A Review in Chemotherapy-Induced Nausea and Vomiting ». **Drugs** 76, n° 18 (1 décembre 2016): 1779-86.

[76] « Mechanism of Action | SUSTOL® (Granisetron) Extended-Release Injection ». Consulté le 17 juin 2019. <https://www.sustol.com/hcp/about/mechanism-of-action/>.

[77] Al Abood, Raid M., Sushama Talegaonkar, Mohammad Tariq, et Farhan J. Ahmad. « Microemulsion as a tool for the transdermal delivery of ondansetron for the treatment of chemotherapy induced nausea and vomiting ». **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 101 (1 janvier 2013): 143-51.

[78] Beg, Sarwar, Sidharth Sankar Jena, Ch Niranjana Patra, Mohammad Rizwan, Suryakanta Swain, J. Sruti, M. E. Bhanoji Rao, et Bhupinder Singh. « Development of solid self-nanoemulsifying granules (SSNEGs) of ondansetron hydrochloride with enhanced bioavailability potential ». **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces** 101 (1 janvier 2013): 414-23.

[79] Gungor, Sevgi, Alper Okyar, Sidika Erturk-Toker, Gul Baktir, et Yildiz Ozsoy. « Ondansetron-Loaded Biodegradable Microspheres as a Nasal Sustained Delivery System: In Vitro/in Vivo Studies ». **Pharmaceutical Development and Technology** 15, no 3 (juin 2010): 258-65.

[80] Gungor, Sevgi, Alper Okyar, Sidika Erturk-Toker, Gul Baktir, et Yildiz Ozsoy. « Ondansetron-loaded chitosan microspheres for nasal antiemetic drug delivery: an alternative approach to oral and parenteral routes ». **Drug Development and Industrial Pharmacy** 36, no 7 (1 juillet 2010): 806-13.

[81] Dychter, Samuel S., Rena Harrigan, Jesse D. Bahn, Marie A. Printz, Barry J. Sugarman, Emanuel DeNoia, David B. Haughey, Daniel Fellows, et Daniel C. Maneval. « Tolerability and Pharmacokinetic Properties of Ondansetron Administered Subcutaneously With Recombinant Human

Hyaluronidase in Minipigs and Healthy Volunteers ». **Clinical Therapeutics** 36, n° 2 (février 2014): 211-24.

[82] Park, Dong-Min, Yun-Kyoung Song, Jun-Pil Jee, Hyung Tae Kim, et Chong-Kook Kim. « Development of Chitosan-Based Ondansetron Buccal Delivery System for the Treatment of Emesis ». **Drug Development and Industrial Pharmacy** 38, no 9 (septembre 2012): 1077-83.

[83] Patel, Dipal R., Amit Joshi, Hiren H. Patel, et Grazia Stagni. « Development and In-Vivo Evaluation of Ondansetron Gels for Transdermal Delivery ». **Drug Development and Industrial Pharmacy** 41, no 6 (juin 2015): 1030-36.

[84] Patil, Hemlata, Roshan V. Tiwari, Sampada B. Upadhye, Ronald S. Vladyka, et Michael A. Repka. « Formulation and Development of PH-Independent/Dependent Sustained Release Matrix Tablets of Ondansetron HCl by a Continuous Twin-Screw Melt Granulation Process ». **International Journal of Pharmaceutics** 496, no 1 (décembre 2015): 33-41.

[85] Sonje, Ashish G., et Hitendra S. Mahajan. « Nasal inserts containing ondansetron hydrochloride based on Chitosan–gellan gum polyelectrolyte complex: In vitro–in vivo studies ». **Materials Science and Engineering: C** 64 (1 juillet 2016): 329-35.

[86] Nguyen, Thu Lan, Arnaud Duchon, Antigoni Manousopoulou, Nadège Loaëc, Benoît Villiers, Guillaume Pani, Meltem Karatas, et al. « Correction of cognitive deficits in mouse models of Down syndrome by a pharmacological inhibitor of DYRK1A ». **Disease Models & Mechanisms** 11, n° 9 (1 septembre 2018).

[87] Cha, Y, T Erez, I J Reynolds, D Kumar, J Ross, G Koytiger, R Kusko, et al. « Drug repurposing from the perspective of pharmaceutical companies ». **British Journal of Pharmacology** 175, n° 2 (janvier 2018): 168-80.

Titre et résumé en anglais

5-HT₃ receptor antagonists: new challenges in cognitive disorders?

The 5-HT₃ receptor antagonists studied, ondansetron, granisetron, tropisetron and palonosetron, the standard treatment for chemotherapy-induced nausea and vomiting, are very safe and effective drugs. Their interaction with the cholinergic system has made it possible to explore their therapeutic potential in cognitive disorders. However, the methods, models and results are very heterogeneous. Nevertheless, restoration of memory and cognition has been observed in many studies and *in vivo* studies of tropisetron in Alzheimer's disease appear to be encouraging. This thesis presents pre-clinical studies on mouse models of Alzheimer's disease and Down Syndrome on which the studied 5-HT₃ receptor antagonists were tested. The results point to a recovery of memory and cognitive abilities in these models. However, other studies should be initiated to determine an index of effective doses in order to continue clinical trial investigations. 5-HT₃ receptor antagonists are therefore a real issue in cognitive disorders and therapeutic applications are being studied in schizophrenia, alcohol dependence, Parkinson's disease and many others.

LES ANTAGONISTES DES RECEPTEURS 5-HT₃ : DE NOUVEAUX ENJEUX DANS LES TROUBLES COGNITIFS ?

Soutenue publiquement le 5 juillet 2019 par Aurélie Montagne à la faculté des Sciences Pharmaceutiques de Toulouse.

Résumé en français

Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés, à savoir l'ondansétron, le granisétron, le tropisétron et le palonosétron, traitement de référence dans les nausées et vomissements induits par chimiothérapie, sont des médicaments très sûrs et efficaces. Leur interaction avec le système cholinergique a permis d'explorer leur potentiel thérapeutique dans les troubles cognitifs. Cependant les méthodes, les modèles et les résultats sont très hétérogènes. Néanmoins, une restauration de la mémoire et de la cognition a été observée dans de nombreuses études et des études *in vivo* du tropisétron dans la maladie d'Alzheimer semblent être encourageant. Cette thèse présente des études pré-cliniques sur des modèles murins de la maladie d'Alzheimer et de la Trisomie 21 sur lesquels ont été testés les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ étudiés. Les résultats vont dans le sens d'un rétablissement de la mémoire et des capacités cognitives dans ces modèles. Cependant, d'autres études méritent d'être amorcées afin de déterminer un index de doses efficaces afin de poursuivre les investigations en essai clinique. Les antagonistes des récepteurs 5-HT₃ représentent donc un enjeu réel dans les troubles cognitifs et des applications thérapeutiques sont étudiées notamment dans la schizophrénie, la dépendance liée à l'alcool, la maladie de Parkinson et bien d'autres.

Titre et résumé en Anglais : voir au recto de la dernière page de la thèse

DISCIPLINE administrative : Pharmacologie, Neurobiologie

MOTS-CLES : Antagoniste, Récepteurs 5-HT₃, Ondansétron, Granisétron, Tropisétron, Palonosétron, Troubles cognitifs, Alzheimer, Trisomie 21.

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Faculté des Sciences Pharmaceutiques
35, chemin des Maraîchers
31 400 Toulouse, France

Directeur de thèse (Nom et Prénom) : M. Laurent Meijer