

UF Biologie – Master 1 Neurosciences et Neuropsychopharmacologie

Session de mars 2023

UE Pharmacologie & Neurotransmission
3 copies distinctes

Cet examen est composé de 3 parties (12 pages en tout): pharmacocinétique (A), pharmacologie (B), et neuropharmacologie (C). Notez que B correspond aussi à du C. Les enseignants étant différents, vous avez une copie à rendre pour chaque partie, soit 3 copies/étudiant. N'oubliez pas d'inscrire vos noms et prénom sur chaque copie (ainsi que sur la feuille de papier millimétrée pour la partie pharmacocinétique).

Règles générales

- Les réponses doivent être clairement identifiées mais il est inutile de recopier la question.
- Les réponses doivent être succinctes, directes et justifiées.
- L'utilisation des calculatrices simples (sans mémoire) est autorisée. Les calculs doivent être détaillés.
- Toute réponse illisible ou non identifiée sera comptée comme nulle.
- Toute copie non identifiée ou incomplètement identifiée sera comptée comme nulle.
- L'utilisation de tout objet connecté est interdite durant toute la durée de l'épreuve.

A. Pharmacocinétique (Natalina Cimat)

Le sujet comporte 2 parties : 1 question rédactionnelle et 1 exercice.

Question rédactionnelle

Discuter des limitations du modèle monocompartimental en termes de précision et de capacité à décrire des phénomènes pharmacocinétiques plus complexes, tels que les processus d'élimination non-linéaires et la distribution multi-compartimentale.

Exercice

Un médicament est administré par voie intraveineuse à une dose unique de 100 mg à un patient. Les concentrations plasmatiques de médicament sont mesurées à différents moments suivant l'administration et les données obtenues sont les suivantes :

- Temps 0 h : 2000 ng/mL
- Temps 0,5 h : 1500 ng/mL
- Temps 1 h : 1000 ng/mL
- Temps 2 h : 500 ng/mL
- Temps 4 h : 250 ng/mL

1. Calculer la demi-vie d'élimination du médicament.
2. Calculer la clairance du médicament.
3. Calculer le volume de distribution du médicament.
4. Tracer une courbe de concentration-temps pour le médicament et identifier les phases d'absorption, de distribution et d'élimination.
5. Évaluer si le modèle monocompartimental est approprié pour décrire la pharmacocinétique du médicament dans cet exemple.

B. Pharmacocinétique (Fabrice Pourageaud)

Sujet de Pharmacologie (1 heure) comprend deux exercices indépendants.

Exercice 1 :

Le récepteur de la neurotensine 1 (NTSR1) est un récepteur couplé aux protéines G qui est largement exprimé dans tout le système nerveux central où il agit comme un neuromodulateur. Les récepteurs de la neurotensine ont été impliqués dans une grande variété de troubles du SNC mais il est toujours difficile de développer de nouveaux ligands sélectifs du site orthostérique. Récemment, une nouvelle stratégie pharmacologique sur le récepteur NTSR1 a été développée avec la synthèse du SBI-553 dans le but de développer de nouveaux médicaments indiqués dans le traitement des addictions.

A) Des expériences de saturation des récepteurs NTSR1 cérébraux de membranes de cellules HEK293T ont été réalisées avec la neurotensine tritiée [^3H] NTS et les résultats sont présentés sur les courbes ci-dessous (figure 1).

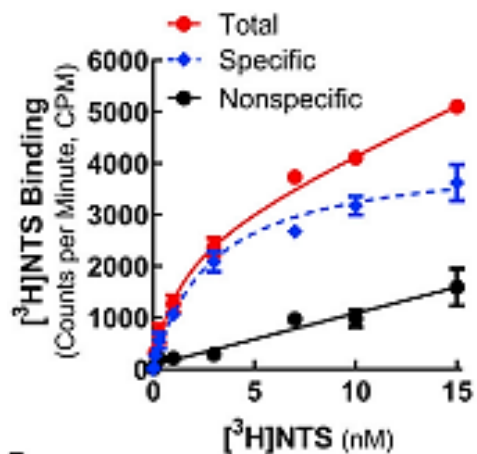


Figure 1

QUESTION 1 : A partir de la Figure 1 ci-dessus, déterminer graphiquement l'ordre de grandeur des paramètres pharmacologiques permettant de caractériser leur liaison aux récepteurs NTSR1.

B) Les effets de différentes concentrations de SBI-553 sur la liaison spécifique de la neurotensine ont été étudiés sur des membranes de cellules HEK293T et les résultats sont présentés sur les courbes ci-dessous (figure 2).

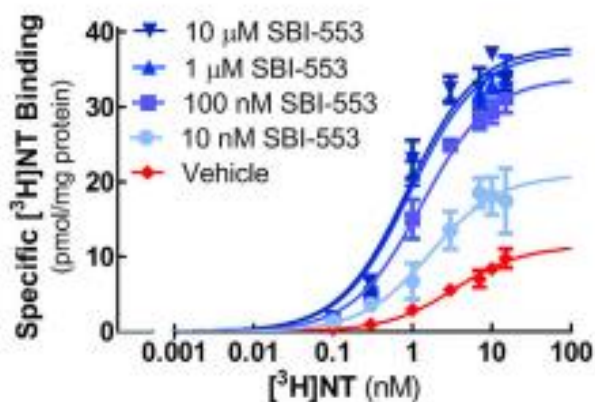


Figure 2

QUESTION 2: A partir de la Figure 2 ci-dessus, déterminez approximativement les paramètres pharmacologiques permettant de caractériser la liaison de la neurotensine aux récepteurs NTSR1 en absence et en présence de différentes concentrations de SBI-553. Quelle(s) conclusion(s) tirez-vous de l'effet du SBI-553 sur la liaison de la neurotensine ?

C) Différentes expériences ont été réalisées sur la voie de signalisation du récepteur NTSR1 afin d'étudier les propriétés fonctionnelles du SBI-553 et de la neurotensine sur la translocation de la β arrestine (figure 3) mais également les effets du SBI-553 sur la translocation induite par la neurotensine (figure 4).

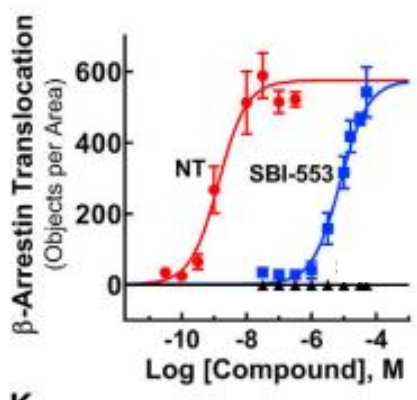


Figure 3

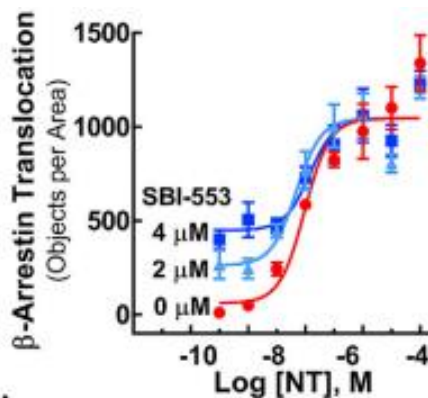


Figure 4

D'autre part les effets de la neurotensine et du SBI-553 ont été étudiés sur l'activation de la protéine Gq (figure 5).

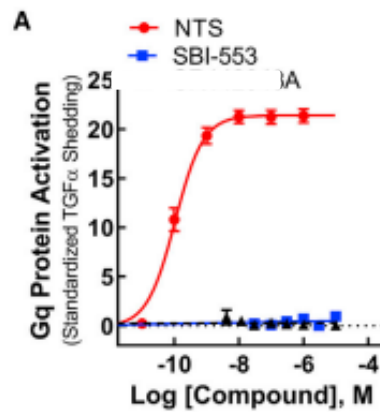


Figure 5

QUESTION 3 : Commentez les résultats de la figure 3, 4 et 5, déterminez la puissance de la neurotensine seule et du SBI-553 sur la translocation de la β -arrestine et comparez-la avec celle déterminée sur l'activation de la protéine Gq. Quelle est la propriété pharmacologique du SBI-553 ?

D) Des études sur la souris éveillée ont été réalisées. Les souris (WT ou KO de l'arrestine2) ont été acclimatées pendant 30 min (phase grise) avant l'administration simultanée de cocaïne (30 mg/kg, i.p.) et SBI-553 (12 mg/kg, i.p.) ou du véhicule (saline, i.p.). La distance parcourue a été mesurée en fonction du temps.

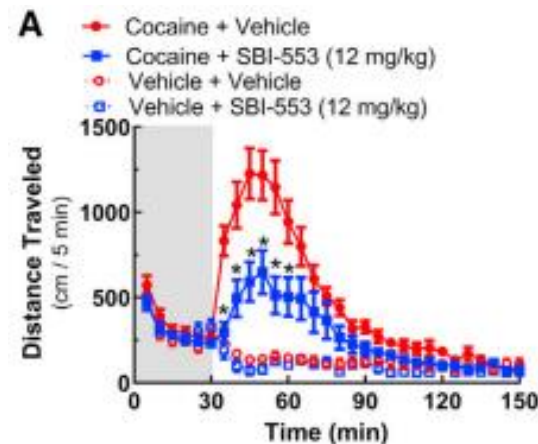


Figure 6

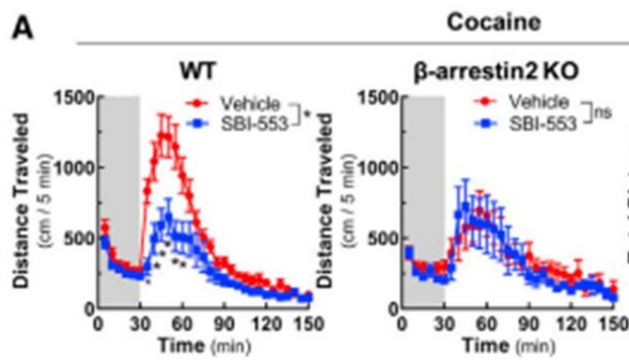


Figure 7

QUESTION 4 : Commentez les résultats de la figure 6 et 7. Expliquez les effets du SBI-553 chez les souris soumises à la cocaïne.

E) Des souris normales ont été entraînées à s'auto-administrer de la cocaïne par voie intraveineuse (0,1 mg/kg) via un levier actif répondant à une réponse de levier fixe au programme de renforcement. Une fois la performance stable atteinte, l'auto-administration a été évaluée une fois par jour en sessions de 60 minutes. Les effets du SBI-553 (12 mg/kg, i.p.) sur cette auto-administration ont été étudiés et présentés dans la figure 8.

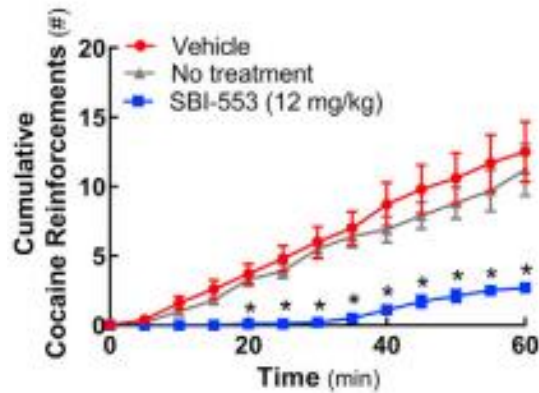


Figure 8

QUESTION 5 : Commentez les résultats de la figure 8 et expliquez les effets du SBI-553.

QUESTION 6 : A partir de l'ensemble de ces résultats, donnez une représentation schématique du récepteur NTSR1 comprenant les sites de la liaison de la neurotensine et du SBI-553 ainsi que leurs effets sur la signalisation intracellulaire et l'éventuel intérêt thérapeutique.

Exercice 2 :

Des auteurs se sont intéressés aux récepteurs NK₁ dans l'idée de développer un nouveau médicament antidépresseur. Ils ont mené des études de déplacement de la liaison de la substance P tritiée ([³H]SP utilisée à la même concentration fixe de 8 nM, K_D = 2 nM pour la gerbille et K_D = 4 nM pour l'homme) par différents ligands sur le striatum de la gerbille (figure a) et de l'homme (figure b).

A.

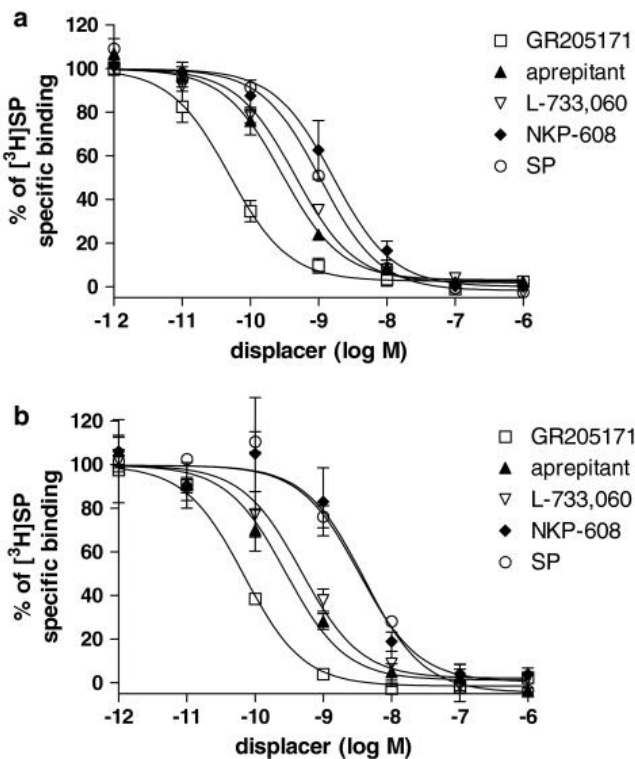


Figure 1 : Inhibition de la liaison du [³H]SP par le GR205171, aprepitant (MK-869), L-733,060, NKP-608 et la SP dans le striatum de la gerbille (a) et humain (b). Les résultats sont exprimés en % de la liaison spécifique en fonction du log de la concentration de chaque ligand testé et les valeurs sont exprimées en moyenne ± écart type de la moyenne.

QUESTION 1 : Pourquoi les auteurs ont utilisé le [³H]SP pour étudier le récepteur NK₁ ?

QUESTION 2 : Déterminez graphiquement le paramètre pharmacologique pour chaque ligand et comparez les si possible. Pourquoi ont-ils étudié le déplacement du [³H]SP par la substance P ?

QUESTION 3 : Comparez, si possible, l'affinité de ces ligands sur le récepteur NK₁. Argumentez votre réponse.

QUESTION 4 : Quel ligand vous paraît le plus approprié pour répondre aux attentes des auteurs ?

QUESTION 5 : Que pensez-vous du modèle de la gerbille ?

C. Neuropharmacologie (P De Deurwaerdere)

Le sujet porte sur le mécanisme d'action de la kétamine, et de métabolites (Figure 1) dans ses effets antidépresseurs. Les données présentées sont des données précliniques obtenues chez le rongeur. Il y a 13 questions (31 points qui seront ramenés à 20).

Le sujet focalise sur R,S kétamine, R-kétamine, R-norkétamine, S-kétamine, S-norkétamine, ou/et la 2R,6Rhydroxynorkétamine. Notez que la transformation de la kétamine en norkétamine est différente de la transformation de la norkétamine en hydroxynorkétamine à cause de l'implication de différents cytochromes P450.

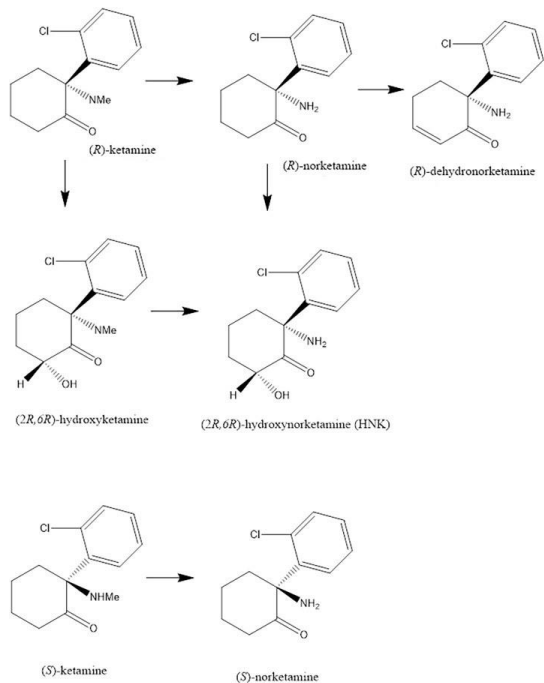


Figure 1: Structure chimique des métabolites (2R,6R)-HNK, (S)-norkétamine, (R)-kétamine et (S)-kétamine (Juste donné à titre informatif).

La première expérience reporte le profil pharmacologique de la kétamine et de ses métabolites sur le récepteur NMDA. Les auteurs ont étudié le déplacement de la liaison du MK-801 sur des membranes corticales provenant de rats adultes. Les résultats sont reportés sur la Figure 2.

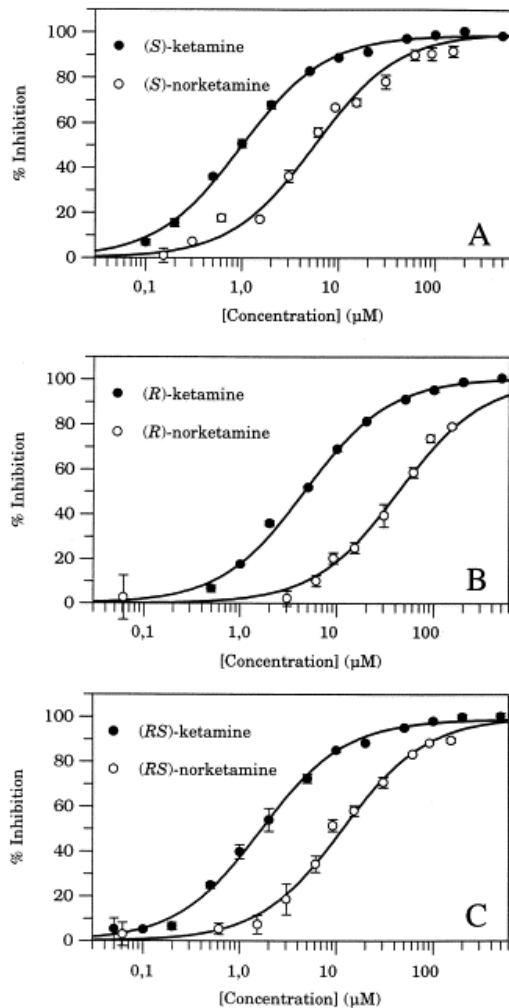


Figure 2. Déplacement de la liaison du [3]MK801 pour les racémiques ou les énantiomères de la kétamine et de la norkétamine. (A) (S)-énantiomères; (B) (R)-énantiomères; (C) racémiques. Les valeurs correspondent aux valeurs \pm erreur standard à la moyenne (esm) pour au moins trois expériences indépendantes.

La concentration de 3H-MK801 est de 5 nM dans tous les cas.

Question 1: Décrivez brièvement à quoi correspond le récepteur NMDA, et les raisons pour lesquelles il suscite tant d'intérêt pour les neurosciences (3 pts)

Question 2 : Citez un composé pour lequel il y aurait une différence d'efficacité entre l'énantiomère S et le R (1 point)

Question 3: Reportez pour chaque composé la CI50 et organisez les composés du plus affin au moins affin par rapport au récepteur NMDA (3 pts).

Question 4 : peut-on calculer le Ki de ces composés pour le récepteur NMDA (en argumentant) ? (1 point)

La question posée par plusieurs groupes dans le monde est de déterminer le rôle des énantiomères de la kétamine et/ou de leur(s) métabolite(s) dans les effets antidépresseurs de la kétamine. Une première étude a été publiée en 2016 dont les principaux résultats sont reportés dans les figures 3, 4, et 5.

Dans la première expérience, les auteurs ont comparé l'effet de la kétamine (racémique) avec le MK801 dans le test de la nage forcée (FST). L'effet des composés est testé 1 et 24 heures après l'administration du composé.

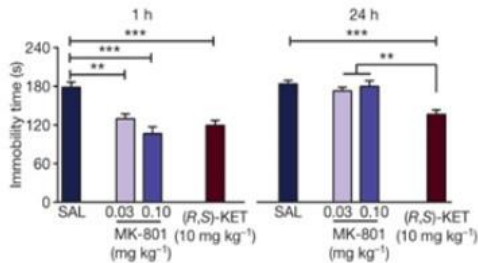


Figure 3: Effet du MK801 et de la R,S-kétamine sur le temps d'immobilité dans le test de la nage forcée (FST). * significativement différent (les différences entre groupes sont pointées par les barres horizontales). (n=8 animaux/groupe). Les composés sont injectés par voie périphérique (intrapéritonéal).

Question 5: Quel est le propos d'utiliser le test de la nage forcée? (1 pt)

Question 6: Pourquoi le MK-801 a-t-il été associée dans ce groupe d'expériences ? (2 pts)

Question 7: Interprétez le graphique en évoquant plusieurs conclusions (2 pts)

La seconde expérience concerne l'effet des énantiomères dans deux modèles: le test de la nage forcée (en mesurant le temps d'immobilité), le modèle de l'impossibilité de fuite apprise (learned helplessness model). Ce dernier test consiste à induire un déconfort (choc électrique par exemple) dans un compartiment dans une situation où l'animal a des difficultés à s'échapper vers un autre compartiment (il apprend à ne plus s'échapper, mesuré par « escape failures »). La phase de conditionnement prend environ deux jours et les animaux sont testés les jours suivants avec les drogues.

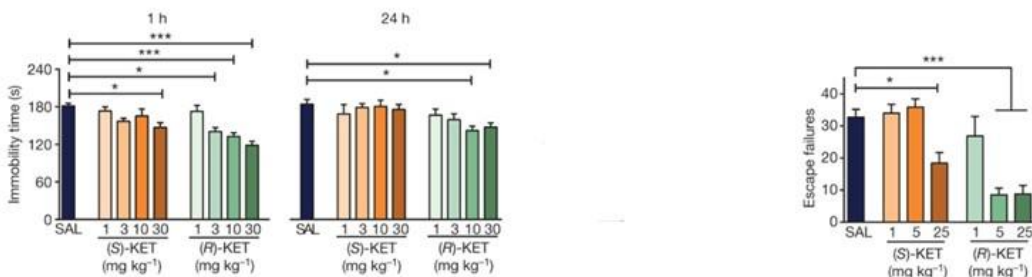


Figure 4: Effet-dose de la S-kétamine et la R-kétamine dans le test de la nage forcée (FST, immobility time, in seconds) ou le learned helplessness (escape failures = incapacité de s'échapper vers un autre compartiment). Dans le FST, l'effet des drogues est testé 1 et 24 heures après l'injection de la drogue. * significativement différent (les différences entre groupes sont pointées par les barres horizontales). (n=8 animaux/groupe). Les composés sont injectés par voie périphérique (intrapéritonéal).

Question 8: Décrivez les effets. Sont-ils compatibles avec l'affinité des énantiomères pour le récepteur? (3 pts)

La fin de cette exploration comportementale implique les métabolites secondaires dans les deux tests précédemment utilisés.

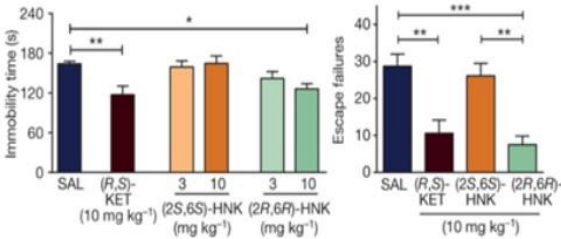


Figure 5: Effet de la R,S-kétamine, le métabolite 2S,6S-hydroxynorkétamine (2S,6S-HNK) ou 2R,6R-HNK dans le FST (temps d'immobilité), et le modèle « learned helplessness » (escape failure). Les composés sont injectés par voie périphérique (intrapéritonéal). Les données sont la moyenne +/- esm sur au moins 8 animaux/groupe. *, **, *** p<0.05, 0.01, 0.001 respectivement (voir les barres horizontales pour l'attribution des différences entre groupes).

Question 9: Interprétez les résultats de la figure 6 et concluez sur le rôle des métabolites secondaires dans l'effet de la kétamine (2 pts).

Question 10: Si vous aviez à étudier l'efficacité de ces composés comme anxiolytique, quels tests proposeriez-vous ? (2 pts).

Le mécanisme d'action de l'ensemble de ces composés est encore mystérieux. Quelques auteurs ont regardé l'effet de ces composés sur les taux extracellulaires de la sérotonine (5-HT), dopamine (DA), et noradrénaline (NA). Ils ont utilisé la microdialyse intracérébrale pour mesurer les taux de 5-HT, DA et NA dans le cortex préfrontal de rats libres de se mouvoir. Les résultats sont reportés dans la figure 6.

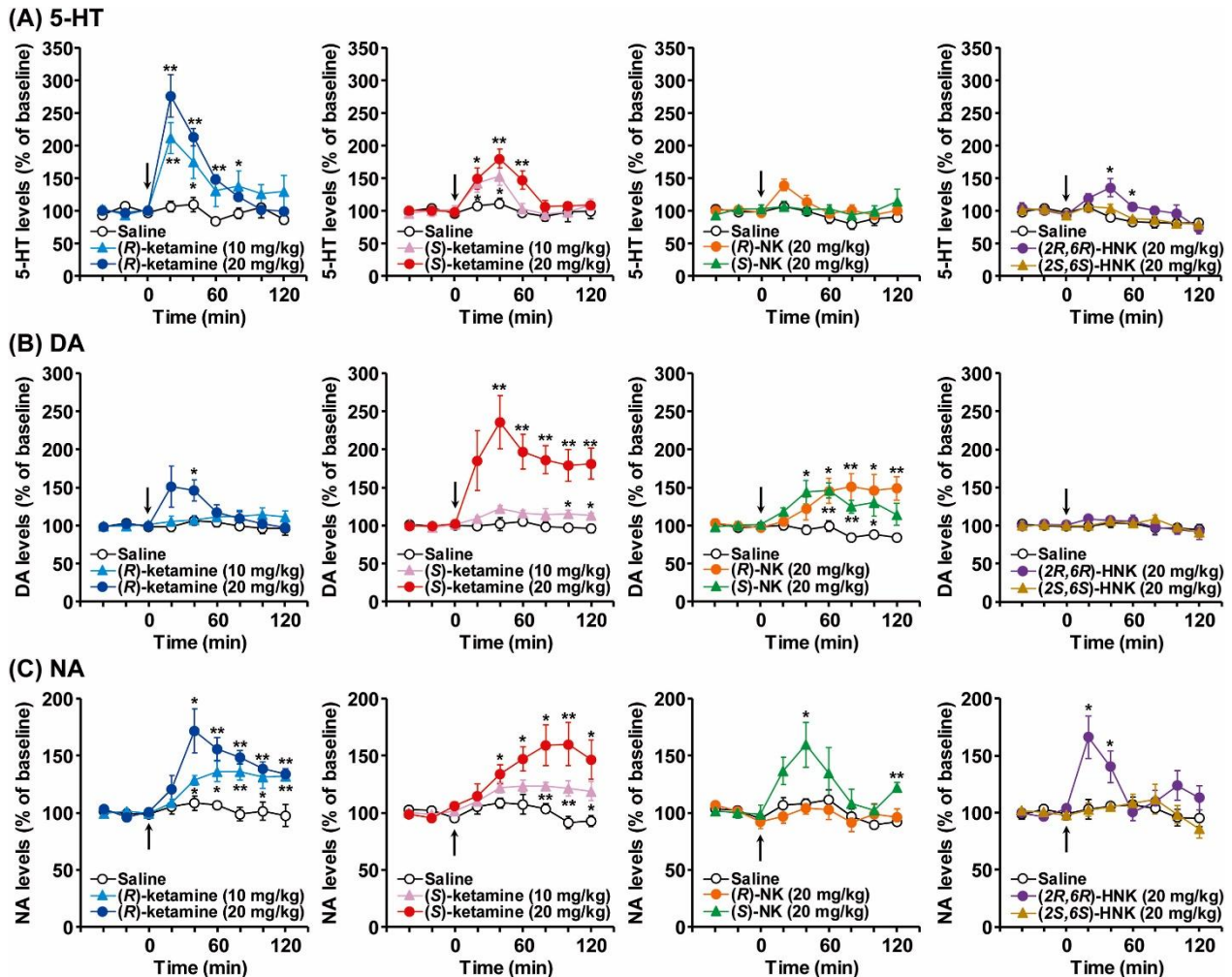


Figure 6: Effets de la (R)-kétamine, (S)-kétamine, et de leur métabolite sur les niveaux extracellulaires de sérotonine (5-HT), dopamine (DA), et noradrénaline (NA) dans le cortex préfrontal de souris. Les composés (R)-kétamine (10, 20 mg/kg), (S)-kétamine (10, 20 mg/kg), (R)-norkétamine [(R)-NK] (20 mg/kg), (S)-NK (20 mg/kg), (2R,6R)-hydroxynorkétamine [(2R,6R)-HNK] (20 mg/kg), (2S,6S)-HNK (20 mg/kg), ou leur solvant (saline) sont injectés au temps 0 min (flèche). Les résultats sont exprimés en % de la ligne de base \pm esm ($n=5$ souris/groupe). * $P < .05$, ** $P < .01$, comparé au groupe "saline".

Question 10: Décrivez brièvement le principe de la microdialyse intracérébrale (2 pts)

Question 11: Où sont localisés les corps cellulaires des neurones 5-HT, DA et NA qui innervent le cortex préfrontal ? (2 pts)

Question 12 : Décrivez l'effet de chaque énantiomère sur les niveaux extracellulaires des monoamines. Ces effets étaient-ils attendus? (3 pts)

Question 13: Est-ce qu'un effet sur les taux extracellulaires de 5-HT est compatible avec un effet antidépresseur ? Citez le nom de quelques antidépresseurs et commentez ces résultats à la lumière de vos connaissances (4 pts)