



**HAL**  
open science

# Validation de l'administration d'aripiprazole dans l'eau de boisson chez la souris dans un projet d'étude sur la schizophrénie en préclinique

Cécile Chofflet

► **To cite this version:**

Cécile Chofflet. Validation de l'administration d'aripiprazole dans l'eau de boisson chez la souris dans un projet d'étude sur la schizophrénie en préclinique. Sciences pharmaceutiques. 2023. dumas-04490409

**HAL Id: dumas-04490409**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04490409>**

Submitted on 5 Mar 2024

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

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



# THESE

(Spécialité DES Pharmacie Hospitalière)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 2019

Préparée au sein de l'Université de Caen Normandie

**Validation de l'administration d'aripiprazole dans l'eau de boisson chez la souris dans un projet d'étude sur la schizophrénie en préclinique**

Présentée par  
**Cecile CHOFFLET**

**Soutenue publiquement le 30 Juin 2023  
devant le jury composé de**

Mr Michel BOULOUARD	Professeur des universités / UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Président du jury
Mr Thomas FRERET	Professeur des universités / UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Examineur
Mme Valentine BOUET	Maître de conférences / UNIVERSITE CAEN NORMANDIE	Examineur
Mr Christophe ROBERGE	Pharmacien Hospitalier / ETABLISSEMENT PUBLIC de SANTE MENTALE de CAEN	Examineur

**Thèse dirigée par Michel BOULOUARD**

## LISTE DES ENSEIGNANTS-CHERCHEURS

**Directrice de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques**

Professeur Pascale SCHUMANN-BARD

### **Assesseurs**

Professeur MALZERT-FREON Aurélie

Professeur Anne-Sophie VOISIN-CHIRET

### **Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

### **Directrice administrative adjointe**

Madame Emmanuelle BOURDON

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES

<b>BOULOUARD Michel</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>BUREAU Ronan</b> .....	Biophysique, Chémoinformatique
<b>COLLOT Valérie</b> .....	Pharmacognosie
<b>DALLEMAGNE Patrick</b> .....	Chimie médicinale
<b>DAUPHIN François</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>DELEPEE Raphaël</b> .....	Chimie analytique
<b>FABIS Frédéric</b> .....	Chimie organique
<b>FRERET Thomas</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>GARON David</b> .....	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
<b>GIARD Jean-Christophe</b> .....	Bactériologie, Virologie
<b>MALZERT-FREON Aurélie</b> .....	Pharmacie galénique
<b>ROCHAIS Christophe</b> .....	Chimie organique
<b>SCHUMANN-BARD Pascale</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>SICHEL François</b> .....	Toxicologie
<b>SOPKOVA Jana</b> .....	Biophysique, Drug design
<b>VILLEDIEU Marie</b> .....	Biologie et thérapies innovantes des cancers
<b>VOISIN-CHIRET Anne-Sophie</b> .....	Chimie médicinale

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

<b>ANDRE Véronique – HDR</b> .....	Biochimie, Toxicologie
<b>BOUET Valentine – HDR</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>BRIERE Joséphine</b> .....	Biostatistique

<b>CAILLY Thomas – HDR</b> .....	Chimie bio-inorganique, Chimie organique
<b>DENOYELLE Christophe – HDR</b> .....	Biologie cellulaire et moléculaire, Biochimie, Cancérologie
<b>DHALLUIN Anne</b> .....	Bactériologie, Virologie, Immunologie
<b>DUBOST Emmanuelle</b> .....	Chimie organique
<b>ELDIN de PECOULAS Philippe – HDR</b> .....	Parasitologie, Mycologie médicale
<b>GROO Anne-Claire</b> .....	Pharmacie galénique
<b>KIEFFER Charline</b> .....	Chimie médicinale
<b>KRIEGER Sophie</b> (Praticien hospitalier) – <b>HDR</b> .....	Biologie clinique
<b>LAPORTE-WOJCIK Catherine</b> .....	Chimie bio-inorganique
<b>LEBAILLY Pierre – HDR</b> .....	Santé publique
<b>LECHEVREL Mathilde – HDR</b> .....	Toxicologie
<b>LEGER Marianne</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>LEPAILLEUR Alban – HDR</b> .....	Modélisation moléculaire
<b>N'DIAYE Monique</b> .....	Parasitologie, Mycologie médicale, Biochimie clinique
<b>PAIZANIS Eleni</b> .....	Physiologie, Pharmacologie
<b>POTTIER Ivannah</b> .....	Chimie et toxicologie analytiques
<b>PREVOST Virginie – HDR</b> .....	Chimie analytique, Nutrition, Education thérapeutique du patient
<b>QUINTIN Jérôme</b> .....	Pharmacognosie
<b>RIOULT Jean-Philippe</b> .....	Botanique, Mycologie, Biotechnologies
<b>SAINT-LORANT Guillaume</b> (Praticien hospitalier) .....	Pharmacie clinique
<b>SINCE Marc – HDR</b> .....	Chimie analytique
<b>THEAULT BRYERE Joséphine</b> .....	Biostatistiques

#### **PROFESSEUR AGREGÉ (PRAG)**

**PRICOT Sophie** .....

Anglais

#### **PERSONNEL ASSOCIÉ À TEMPS PARTIEL (PAST)**

**SEDILLO Patrick** .....

Pharmacie officinale

**SEGONZAC Virginie** .....

Pharmacie officinale

**Enseignants titulaires du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie**

## Remerciements

Je souhaite tout d'abord remercier vivement les membres de mon jury pour avoir accepté de juger ce travail de thèse en pharmacie :

Mr Christophe Roberge, qui fait partie de la première équipe hospitalière à m'avoir accueillie et formée pour mon tout premier stage d'internat.

Valentine Bouet, merci Valentine pour ces statistiques de dernière minute qui m'ont fait perdre quelques cheveux...

Thomas Freret, qui a gentiment accepté de faire partie de ce jury malgré ces nombreuses obligations de directeur et d'étudiant... Bon courage pour ces années d'étude pharmaceutique !

Merci à toute l'équipe de COMETE qui m'a aidé à avancer sur ce projet. J'ai pu trouver à chaque étape une personne compétente pour amener au bout ce travail. (Gégé, Stacy et Sophie vous êtes super !)

Et un grand merci à toi Michel pour m'avoir fait découvrir le monde de la recherche. Tu m'as donné l'opportunité de faire une année différente de mon quotidien de pharmacienne. Et je t'en remercie !

A ma sœur qui fait maintenant partie de mon quotidien, ton choix de venir sur Caen a été ta meilleure décision. J'espère te garder encore quelques années avec moi.

A mon frère qui n'est malheureusement pas présent mais qui je sais pense à moi à l'autre bout du monde. Je suis extrêmement fière de toi tu feras un médecin / chercheur (homme) merveilleux.

A mes parents sans qui je ne serais même pas née.

A ma famille qui m'offre soutiens, repas, soirée arrosée !

A mes ami(e)s du Sud qui m'ont soutenu toutes ces années (Lippi, Coco, Loïs, Camille, Anna, Roxane, Alex, Marco)

A mes ami(e)s du Nord qui m'ont fait aimer cette région Normande, cet internat n'aurait pas été le même...

A vous ici présent,

Merci

# Table des matières

---

<b>I. INTRODUCTION :</b> .....	<b>3</b>
<b>II. PARTIE I :</b> .....	<b>6</b>
<b>A. L'étiologie multifactorielle :</b> .....	<b>6</b>
1. Les neurotransmetteurs : .....	6
2. Les facteurs environnementaux : .....	10
3. Les facteurs génétiques : .....	10
<b>B. Les symptômes comportementaux :</b> .....	<b>12</b>
<b>C. Déficits cognitifs et atteintes physiopathologiques :</b> .....	<b>13</b>
1. Atteinte anatomique : .....	14
2. Dérèglement de la neurotransmission : .....	14
3. La plasticité cérébrale : .....	15
<b>D. Traitements de la schizophrénie :</b> .....	<b>16</b>
1. Traitement médicamenteux : .....	16
2. Traitement non médicamenteux : .....	18
<b>E. La schizophrénie et la recherche préclinique :</b> .....	<b>20</b>
1. Les modèles animaux : .....	20
2. Protocole d'activité physique en préclinique : .....	23
<b>III. PARTIE II :</b> .....	<b>24</b>
<b>A. Voie d'administration chez les souris :</b> .....	<b>24</b>
<b>B. Choix d'une dose dans la recherche animale</b> .....	<b>28</b>
<b>IV. PUBLICATION</b> .....	<b>30</b>
<b>V. DISCUSSION :</b> .....	<b>48</b>
<b>A. Protocole d'administration par biberon :</b> .....	<b>49</b>
1. Validation de notre méthode de solubilisation et mesure de la stabilité de l'ARZ : .....	49
2. Étude des concentrations résiduelles d'ARZ .....	49
<b>B. Les paramètres pharmacocinétiques :</b> .....	<b>50</b>
<b>C. Détermination de la dose adéquat d'ARZ à utiliser :</b> .....	<b>51</b>
<b>D. Consommation liquide et surveillance poids :</b> .....	<b>51</b>
<b>VI. CONCLUSION &amp; PERSPECTIVE :</b> .....	<b>53</b>

## Liste des abréviations :

5-HT : Sérotonine

AP : Antipsychotique

APA : Activité Physique Adaptée

BDNF : » Brain-Derived Neurotrophic Factor »

CCPA : Conseil Canadien de Protection des Animaux

CPF : Cortex PréFrontal

DA : Dopamine

DSM : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

ECT : Electroconvulsivothérapie

GABA : Acide Gamma-Aminobutyrique

GAD67 : Glutamic Acid Decarboxylase 67

GLU : Glutamate

HIP : Hippocampe

IP : Intra Péritonéale

NAd : Noradrénaline

NMDA : N-méthyl-D-aspartique

*PANSS : Positive And Negative Syndrome Scale*

PCP : Phencyclidine

PPI : Prepulse Inhibition Test

PV : Parvalbumine

rTMS : Stimulation Magnétique Trans-crânienne

SC : Sous Cutanée

SCZ : Schizophrénie

THC : Tétrahydrocannabinol

## Liste des Figures :

Figure 1 : Incidence de la SCZ en fonction de l'âge et du sexe en Angleterre entre 1950-2009.

Figure 2 : Schéma illustrant l'hyperfonctionnement de la voie dopaminergique mésolimbique.

Figure 3 : Schéma illustrant l'hypofonctionnement de la voie dopaminergique mésocorticale.

Figure 4 : Différents types de symptômes retrouvés dans la schizophrénie.

Figure 5 : Date de mise sur le marché des principaux antipsychotiques aux USA.

Figure 6 : Mécanisme de l'aripiprazole en tant qu'agoniste partiel des récepteurs D2.

Figure 7 : Constante d'affinité des antipsychotiques pour différents récepteurs.

Figure 8 : Schéma du récepteur NMDA.

Figure 9 : Aperçu schématique des voies d'absorption pour les petites et macromolécules de la cavité péritonéale à la circulation systémique.



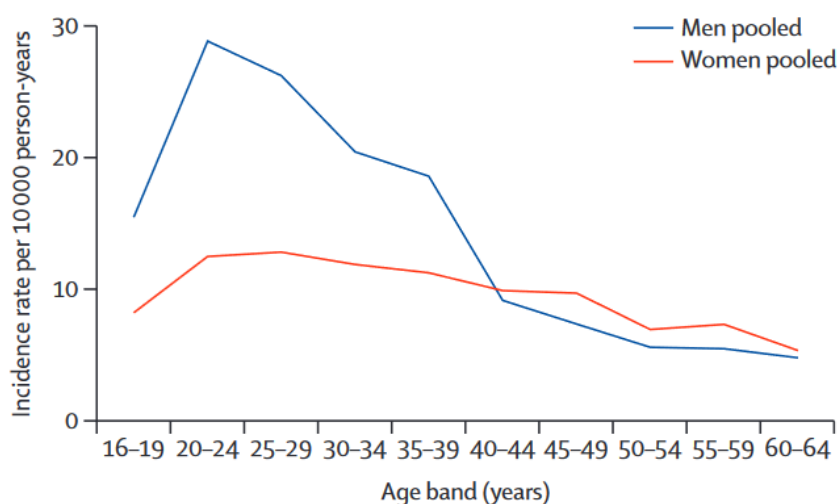
## I. INTRODUCTION :

Le terme « schizophrénie » est issu du grec et a été inventé par le psychiatre suisse Eugen Bleuler en 1908. Il est composé de deux mots : « schizein » signifiant fractionnement/scission et « phrèn » signifiant esprit. Il fut proposé par le psychiatre lors de la réunion annuelle de l'Association allemande de psychiatrie à Berlin pour proposer sa propre conception de la « Dementia praecox » ancêtre de la schizophrénie (SCZ) identifiée quelques années avant par Emil Kraepelin.

La SCZ est une pathologie psychiatrique chronique fréquente fortement invalidante touchant environ 1% de la population mondiale (24 millions de personnes soit une personne sur 300 selon les derniers chiffres de l'OMS). En France, on retrouve environ 600 000 personnes atteintes de SCZ. Les patients atteints de SCZ présentent un risque de mort prématurée 3,7 fois plus important que la population générale avec 50% des patients qui feront au moins une tentative de suicide dont 10% à 15% en décèdent ([Inserm, Schizophrénie, 2017](#)).

Elle touche plus fréquemment les hommes que les femmes avec un sex-ratio de 1,4 (60% chez les hommes et 40% chez les femmes) ([Davidson et al., 1997](#) ; [McGrath et al., 2009](#))

Les premiers troubles psychotiques surviennent le plus souvent à l'adolescence entre 15 et 25 ans avec une incidence s'inversant à partir de 40 ans ([Figure 1](#)).



**Figure 1** : Incidence de la SCZ en fonction de l'âge et du sexe en Angleterre entre 1950-2009. ([Jauhar et al., 2022](#))

La SCZ regroupe des troubles multiples, liés à la pathologie elle-même, au style de vie des patients mais aussi aux traitements et au caractère chronique de leur prise. On retrouve une association hétérogène de symptômes décrits en partie dans l'échelle des symptômes positifs et négatifs (« *Positive And Negative Syndrome Scale* » (PANSS)) en 1987 ([Kay et al., 1987](#)). Ils sont classés en trois catégories : les symptômes productifs/positifs, les symptômes déficitaires/négatifs et les symptômes cognitifs.

Le diagnostic de la schizophrénie reste, de nos jours, purement clinique. Le *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM) est un ouvrage de référence publié par l'Association américaine de psychiatrie décrivant et classifiant les troubles mentaux. La 5<sup>ème</sup> version (DSM-V) évoque en premier critère diagnostique la survenue de deux ou plus des symptômes suivants pendant une partie significative du temps sur une période d'un mois :

- 1- Idées délirantes
- 2- Hallucinations
- 3- Discours désorganisé
- 4- Comportement grossièrement désorganisé ou catatonique
- 5- Symptômes négatifs / déficitaires.

C'est une pathologie complexe avec une étiologie multifactorielle dont les rouages restent encore méconnus de nos jours. On retrouve un dysfonctionnement de différents systèmes de neurotransmetteurs et en particulier ceux modulés par la dopamine (DA), le glutamate (GLU), l'acide gamma-aminobutyrique (GABA), la sérotonine (5-HT) et la noradrénaline (NAd) ainsi que l'influence de facteurs environnementaux, psychosociaux et génétiques ([Hany et al., 2022](#)).

La prise en charge actuelle dans la SCZ recommande la prescription d'antipsychotiques (AP) atypiques avec des changements de principe actif (neuroleptique de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> ou 3<sup>ème</sup> génération) si échec de traitement ([VIDAL Recos : Schizophrénie, mis à jour janvier 2023](#)). La prise en charge reste encore incomplète avec une gestion relativement satisfaisante des symptômes productifs et une prise en charge uniquement partielle des symptômes déficitaires et cognitifs même avec les APs de dernière génération.

La mise au point d'une thérapeutique réellement efficace dans la correction des symptômes déficitaires et cognitifs représente donc aujourd'hui, un véritable enjeu de santé publique.

C'est dans ce contexte que se situe mes travaux de thèse, lesquels visait à valider au niveau préclinique, l'intérêt de l'association de l'aripiprazole et de l'activité physique dans l'amélioration des symptômes déficitaires et cognitifs dans un modèle murin de schizophrénie.

Pour se faire, la première étape a été la validation pharmacocinétique d'un nouveau protocole d'administration subchronique d'aripiprazole via les biberons (eau de boisson) chez la souris C57Bl/6, souche de souris parmi les plus utilisées à l'heure actuelle dans les études comportementales.

Cette thèse est composée d'une première partie bibliographique sur la schizophrénie en clinique et en préclinique puis une deuxième partie introduisant notre étude pilote. A la suite un premier article a été soumis, présentant la mise au point de ce protocole d'eau de boisson, l'étude pharmacocinétique de l'aripiprazole chez la souris C57Bl/6 après une prise unique *per os*, une mesure des concentrations résiduelles de l'AP après administration aiguë et subchronique à trois doses testées et une étude comportementale (mesure de l'activité spontanée) permettant de corrélérer les doses d'ARZ administrées (et les concentrations résiduelles mesurées) à d'éventuelles modifications de comportement .

Pour finir, nous discuterons sur les points essentiels de ce projet, leurs intérêts et leurs limites.

## II. PARTIE I :

Au cours de ce chapitre nous allons développer certaines données bibliographiques concernant l'étiologie de la schizophrénie, puis nous évoquerons la symptomatologie de cette pathologie, ses traitements, en insistant sur un antipsychotique de 3<sup>ème</sup> génération, l'aripiprazole. Nous évoquerons également l'intérêt d'associer l'activité physique au traitement médicamenteux et nous terminerons ce chapitre en évoquant les modèles animaux de schizophrénie et en particulier ceux basés sur un hypofonctionnement glutamatergique ainsi que la place de l'activité physique dans la recherche préclinique.

### A. L'étiologie multifactorielle :

Les causes de cette pathologie ne sont pas, à ce jour, élucidées mais son origine multifactorielle (perturbation de systèmes de neurotransmetteurs, facteurs génétiques et environnementaux) semble démontrée.

#### 1. Les neurotransmetteurs :

##### a. *L'hypothèse dopaminergique :*

Historiquement, la première hypothèse décrite fut l'hypothèse dopaminergique. Elle fût notamment fondée dans les années 1950 sur l'efficacité clinique du premier AP : la chlorpromazine, antagoniste des récepteurs dopaminergique D2, démontrée par Jean Delay et Pierre Deniker.

Ce n'est qu'à partir des années 1970 que l'on a pu relier l'efficacité des APs de première génération sur les symptômes productifs de la SCZ par leur effet antagoniste sur la famille D2-like des récepteurs dopaminergiques. L'avènement de l'imagerie avec la Tomographie par Emission de Positons a permis d'appuyer l'hypothèse en observant l'affinité des APs vis à vis des récepteurs D2/3 et leurs expressions dans différentes régions cérébrales chez des patients schizophrènes ([Gründer et al., 2016](#)).

On s'est alors intéressé à deux voies dopaminergiques : la voie méso-limbique et la voie méso-corticale.

L'hypothèse suggère qu'il y aurait une hyperactivité au niveau de la première voie, se traduisant par une surexpression des récepteurs D2/3 au niveau présynaptique de la

région sous corticale responsable des symptômes productifs. L'utilisation de radiotracteur a permis de mettre en évidence une augmentation de libération de DA et un pourcentage de liaison de la DA au récepteur D2/3 augmenté dans la région striatale de patients schizophrènes ([Howes et al., 2017](#)).

La deuxième voie se projetant notamment au niveau du cortex préfrontal serait responsable en partie des symptômes cognitifs et déficitaires. Une étude clinique réalisée en 2015 a pu mettre en évidence une diminution de la libération de DA dans la région dorsolatérale du cortex préfrontal chez des patients schizophrènes « drug free » ou « drug naïve » après la prise d'amphétamine ; stimulant la libération de DA ; comparé à des patients témoins ([Slifstein et al., 2015](#)).

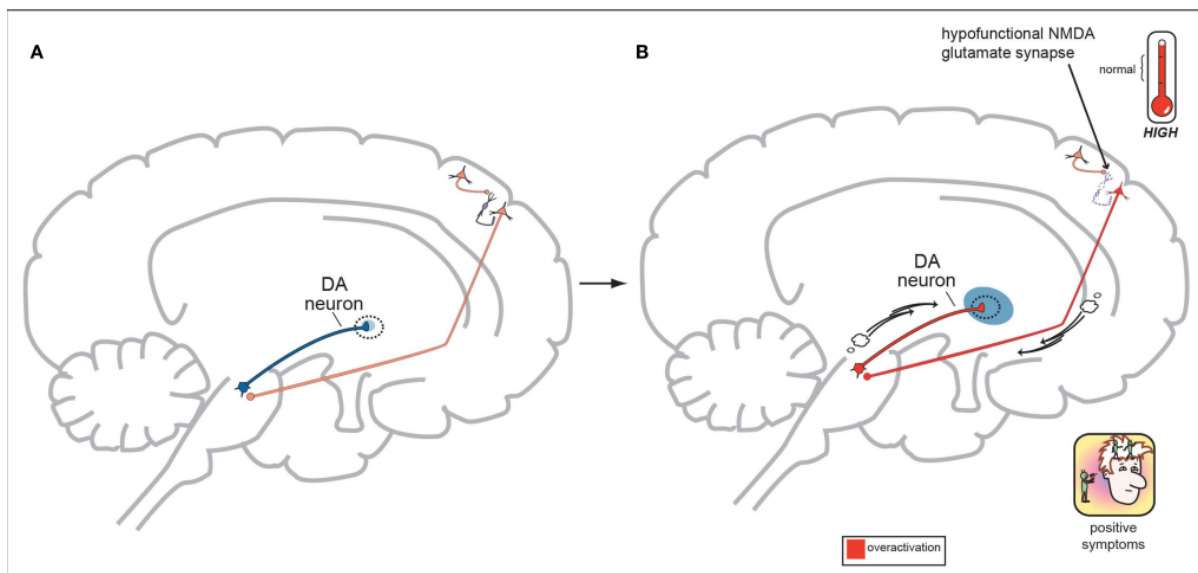
*b. L'hypothèse glutamatergique :*

Cette hypothèse d'hypofonctionnement glutamatergique a été avancée suite à l'observation de symptômes psychotiques, déficitaires et cognitifs proches de ceux observés chez les schizophrènes, chez des individus sains après la prise aiguë ou chronique d'antagoniste des récepteurs de l'acide N-méthyl-D-aspartique (NMDA) (ex : kétamine ou phencyclidine (PCP)) ([Krystal et al., 1999](#)).

Cette hypothèse a pu être étayée par des observations cliniques, notamment *post mortem* et des données expérimentales précliniques *via* notamment l'utilisation de modèles murins de schizophrénie.

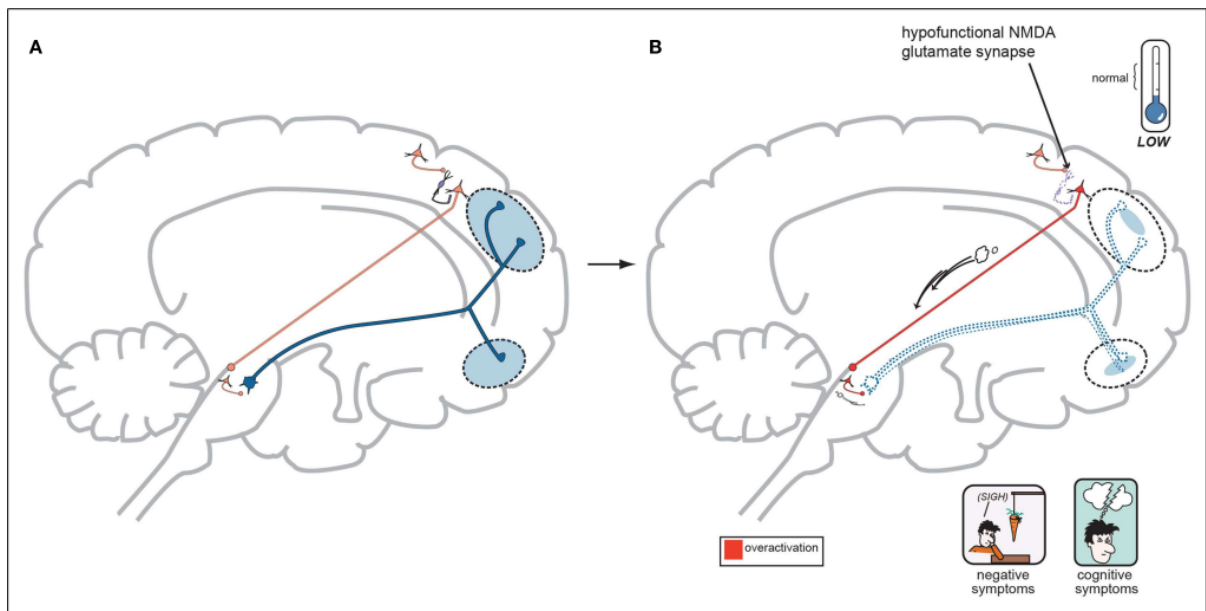
D'un point de vue physiopathologique, il a été mis en évidence que l'hypofonctionnement glutamatergique sous-tendant au moins en partie les symptômes déficitaires et cognitifs est principalement lié à l'atteinte fonctionnelles et la diminution d'expression des récepteurs NMDA dans différentes régions cérébrales et plus particulièrement ceux présents sur les interneurones GABAergiques corticaux ([Konradi et al., 2003](#)).

L'hypofonctionnement des récepteurs NMDA au niveau de la région corticale entraînerait une diminution de contrôle négatif des interneurones GABA amenant à une suractivation de la voie glutamatergique descendante et générant l'hyperactivité de la voie dopaminergique mésolimbique (*Figure 2*).



**Figure 2** : Schéma illustrant l'hyperfonctionnement de la voie dopaminergique méso- limbique : (A) Fonctionnement normal chez un individu : Voie glutamatergique en orange avec un interneurone GABA entre les deux projections et la voie dopaminergique méso- limbique en bleu. (B) Chez un patient schizophrène : on retrouve un hypofonctionnement des récepteurs NMDA au niveau du cortex frontal entraînant une diminution de l'inhibition GABAergique sur les neurones dopaminergiques de la voie méso- limbique (Stahl, 2015).

La diminution de la transmission dopaminergique dans la voie méso-corticale présente un mécanisme similaire au début avec l'interaction de la voie glutamatergique et des interneurons GABA au niveau cortical puis une suractivation de la voie glutamatergique descendante. On retrouve, en plus, des interneurons GABA présents dans le mésencéphale entre la voie glutamatergique descendante et la voie dopaminergique méso-corticale. Cette fois-ci la suractivation de la voie glutamatergique descendante active les interneurons GABA qui vont diminuer le tonus de la voie dopaminergique méso-corticale (Schwartz et al., 2012) (Figure 3).



**Figure 3 :** Schéma illustrant l'hypofonctionnement de la voie dopaminergique méso-corticale. (A) Chez l'individu sain, on a la voie dopaminergique méso-corticale en bleu et son interaction avec le système glutamatergique en orange et les interneurons GABA. (B) Chez un patient schizophrène, on peut illustrer cet hypofonctionnement par l'altération des récepteurs NMDA au niveau cortical entraînant la diminution de l'inhibition des interneurons GABA corticaux avec dans un second temps la surstimulation de la voie glutamatergique descendante entraînant ainsi un hypofonctionnement dopaminergique sous-cortical via des interneurons GABA mésencéphaliques (Stahl, 2015).

c. L'hypothèse GABAergique :

De nombreuses études cliniques et précliniques ont montré que l'altération du système GABAergique est impliqué dans le mécanisme physiopathologique de la SCZ.

La première théorie, explicitée précédemment, propose que l'hypofonctionnement des récepteurs NMDA entraîne une dysrégulation des interneurons GABA.

Des études cliniques *post-mortem* ont démontré une diminution d'expression de l'enzyme Glutamic Acid Decarboxylase 67 (GAD67) nécessaire à la synthèse du GABA et une diminution de la quantité de protéine liant le calcium, la parvalbumine (PV) qui marque un sous type de neurones GABAergiques chez des patients schizophrènes (Akbarian et al., 2006). Ces atteintes du système GABA ont été retrouvées au niveau du cortex préfrontal (CPF) et de l'hippocampe (HIP) (Kaar et al., 2019).

Par ailleurs ces altérations seraient à l'origine des troubles cognitifs de la SCZ (diminution des performances de la mémoire à court et long terme et des fonctions exécutives).

## 2. Les facteurs environnementaux :

Depuis quelques années une notion est apparue dans l'étiologie de la SCZ : son origine neuro-développementale. En accord avec ce modèle, la manifestation clinique de la SCZ surviendrait plusieurs années après un développement anormal des structures cérébrales ([Rapoport et al., 2012](#)). Les premiers troubles développementaux apparaîtraient dès la phase prénatale, en effet la phase *in utero* est une étape critique dans le développement cérébral. De nombreuses études épidémiologiques ont montré un risque accru de développement tardif de la SCZ en lien avec des complications obstétriques, telles que l'exposition à des agents infectieux (*Toxoplasma gondii*, *influenzae*,...) ([Cheslack-Postava et al., 2022](#)) le stress prénatal ([Koenig et al., 2002](#)), des déficiences nutritionnelles ([Brown et al., 2008](#)),...

De nombreux facteurs postnataux couvrant de la naissance jusqu'à l'âge adulte ont également été décrits durant ces dernières années.

Un des plus connus étant la consommation de cannabis. Même si le lien de causalité entre sa consommation et la survenue de psychose n'est pas encore totalement élucidé sa corrélation a été largement démontrée. Selon l'Inserm sa consommation avant l'âge de 18 ans multiplierait par 2 le risque de SCZ ([Inserm, Schizophrénie, 2020](#)).

Les traumatismes (maltraitements physiques et psychologiques) constituent également un facteur de risque largement étudié et retrouvé chez les patients schizophrènes. L'équipe de Larsson a souhaité évaluer en 2013 la prévalence de traumatismes pendant l'enfance. Sur 194 patients schizophrènes, 29% ont subi des abus physiques, 35% des abus sexuels, 67% des négligences émotionnelles et 46% des négligences physiques ([Larsson et al., 2013](#)).

## 3. Les facteurs génétiques :

L'approche génétique sur la survenue de la SCZ peut se différencier en deux parties : la prévalence génétique et l'épigénétique.

En 1991, l'étude de Gottesman a montré une part génétique importante dans le risque de développer la SCZ. Pour deux jumeaux homozygotes, le risque de développer la



SCZ est de 48% comparé à par exemple des frères et sœurs non jumeaux pour lesquels celui-ci est de 9%. Le développement de la SCZ est plus fréquemment retrouvé chez les membres d'une même famille avec un chiffre de 8 à 18% de risque pour un enfant ayant un de ces parents atteint, et pourcentage s'élevant de 15 à 50% quand les deux parents sont atteints ([Gottesman et al., 1991](#)).

Des études par criblage du génome de famille de schizophrènes ont été réalisées ces 30 dernières années. Elles s'accordent à dire qu'elles n'ont pas détecté de gènes majeurs mais l'existence de plusieurs régions candidates pouvant contenir un locus de susceptibilité. En dehors de cette approche de criblage du génome des familles, des études de liaisons et d'associations ont été conduites dans la recherche de « gènes candidats », gènes pouvant être impliqués dans le mécanisme physiopathologique de la SCZ. Actuellement plus de 1000 gènes ont été testés, certains plus cités que d'autres (DISC1, DTNBP1, NRG1 et COMT) mais aucun n'a pu démontrer un vrai lien statistique spécifique à la schizophrénie ([Henriksen et al., 2017](#)).

La prévalence génétique n'explique donc pas totalement l'étiologie de la SCZ. Les facteurs environnementaux ont également un rôle important dans son développement. De nombreuses études s'accorderaient sur une base génétique rendant un individu vulnérable à la survenue de la pathologie auxquelles s'ajouteraient plusieurs facteurs environnementaux précoces et tardifs entraînant son déclenchement.

L'épigénétique représente l'étude des changements dans l'activité des gènes, n'impliquant pas de modifications de la séquence d'ADN et pouvant être transmis lors des divisions cellulaires ([Inserm, Epigénétique, 2017](#)). Ce sont des modifications réversibles survenant au cours de notre vie et induites par l'environnement au sens large.

L'altération de l'ADNm a été une des premières modifications épigénétiques associées dans la SCZ ([Richetto et al., 2021](#)). On a pu par exemple observer que certains gènes candidats, dans le risque de survenue de la maladie, étaient différemment méthylés, comme par exemple les gènes impliqués dans les systèmes GABAergiques ([Huang et al., 2007](#)), dopaminergiques ([Kordi-Tamandani et al., 2013](#)),... ; des neurotransmetteurs impliqués dans les symptômes de la SCZ.

## B. Les symptômes comportementaux :

Comme évoqué plus tôt, la manifestation clinique de la SCZ se classent couramment en trois types : les symptômes productifs/positifs, les symptômes déficitaires/négatifs et les symptômes cognitifs.

Le modèle des symptômes positifs et négatifs dans la SCZ a été introduit à partir de 1980 par Timothy Crow et Nancy Andreasen ([Crow et al., 1980](#) ; [Andreasen et al., 1991](#)).

Ils sont classiquement mesurés en clinique au moyen de l'échelle de quantification, la PANSS ([Kay et al., 1987](#)).

On va retrouver plus précisément 7 items évoquant la classe des symptômes productifs : délires, désorganisation de la pensée, hallucinations, excitations, grandiloquences, méfiances et hostilité. Et également 7 items pour les symptômes de type déficitaire : retrait émotionnel, émoussement affectif, appauvrissement social, difficulté de la pensée abstraite, retrait social apathique passif, manque de fluidité et de débit de la conversation et pensées stéréotypées.

On observe également de nombreux autres symptômes, souvent non spécifique à la SCZ et retrouvés dans différentes pathologies psychiatriques, ne pouvant être classés dans la triade. La PANSS les regroupe dans une catégorie « General psychopathology Scale » ([figure 4](#)).

Le diagnostic clinique de la SCZ reste compliqué, aucun marqueur biologique n'a pour le moment été retrouvé spécifiquement dans cette pathologie. La manifestation de la maladie varie d'un patient à un autre et l'appréciation des symptômes peut être praticien dépendant.

Une méta-analyse regroupant des études cliniques entre 1974 et 2011 a montré que lors de la phase prodromique (première phase de la SCZ) 19% des patients étaient diagnostiqués schizophrènes à tort (étude incluant environ 5000 participants). ([Soares-Weiser et al., 2015](#)).

### **Individual scale items**

---

#### Positive Scale

- Delusions
- Conceptual disorganization
- Hallucinatory behavior
- Excitement
- Grandiosity
- Suspiciousness
- Hostility
- Scale total

#### Negative Scale

- Blunted affect
- Emotional withdrawal
- Poor rapport
- Passive-apathetic social withdrawal
- Difficulty in abstract thinking
- Lack of spontaneity & flow of conversation
- Stereotyped thinking
- Scale total

#### General Psychopathology Scale

- Somatic concern
- Anxiety
- Guilt feelings
- Tension
- Mannerisms & posturing
- Depression
- Motor retardation
- Uncooperativeness
- Unusual thought content
- Disorientation
- Poor attention
- Lack of judgment & insight
- Disturbance of volition
- Poor impulse control
- Preoccupation
- Active social avoidance

*Figure 4 : Différents types de symptômes retrouvés dans la schizophrénie. Tableau extrait de l'article de Kay et al., 1987*

### C. Déficits cognitifs et atteintes physiopathologiques :

De nombreuses perturbations anatomiques et fonctionnelles ont pu être observées chez des patients SCZ. Ces modifications surviennent principalement au niveau du système nerveux touchant des zones corticales et sous corticales mais également l'organisme en entier (dérèglement du système immunologique, pathologie cardio vasculaire...) ([Joyce et al., 2007](#)).

Les performances cognitives, particulièrement diminuées dans la SCZ, concernent la mémoire de travail, les fonctions motrices, l'attention, les fonctions exécutives et la fluidité verbale ([Bralet et al., 2008](#)).

Plusieurs mécanismes expliquant ces déficits semblent être en jeu. Nous allons développer ici les atteintes physiopathologiques avec le remaniement architectural du système nerveux central (SNC), le dérèglement de la neurotransmission et la plasticité cérébrale.

## 1. Atteinte anatomique :

Il a rapidement été évoqué que les atteintes anatomiques du SNC retrouvées dans la SCZ concernaient un ensemble de structures et non une région cérébrale distincte.

Avec l'avènement de la neuro-imagerie il a pu être observé chez des patients SCZ en comparaison à des volontaires sains, une diminution de volume cérébral de 3% avec 2% concernant la matière grise et 1% la matière blanche dans différentes régions cérébrales (*Kim et al., 2017*).

Plus précisément, les patients SCZ présentent notamment une réduction de volume de matière grise au niveau de l'hippocampe (HIP), du cortex insulaire, du thalamus, du cortex cingulé antérieur, et des gyrus parahippocampiques (*Glahn et al., 2008 ; Heckers et al., 2001 ; Kim et al., 2017*).

Par ailleurs, Johnstone et son équipe furent les premiers en 1976 à avoir observé une augmentation du volume des ventricules cérébraux chez des patients SCZ (*Johnstone et al., 1976*).

Cette grande diversité de remaniements anatomiques présente de grandes différences inter-individuelles (*Joyce et al., 2007*).

En fonction des catégories de neuroleptiques utilisées, ces atteintes anatomiques peuvent être majorées. Ainsi, il a pu être établi par des différentes approches : utilisation de l'imagerie, de tests cognitifs, dosage de certains biomarqueurs d'intérêt..., que les atteintes cognitives étaient moindres avec la prise d'APs atypiques qu'avec des APs typiques (*Hori et al., 2006*).

Néanmoins ces remaniements anatomiques corrélés aux perturbations cognitives surviennent chez des patients naïfs de traitement et s'aggravent avec la chronicité de la SCZ et la sévérité de l'ensemble des symptômes.

## 2. Dérèglement de la neurotransmission :

L'altération de la transmission de différents neurotransmetteurs sous-tend certains symptômes de la SCZ.

Si on s'intéresse particulièrement aux déficits cognitifs, l'hypothèse du lien entre le déficit de signalisation dopaminergique au niveau frontal et la perturbation des

performances de la mémoire de travail observée en clinique et pré-clinique a été avancée ([Slifstein et al., 2015](#) ; [Lewis et al., 2008](#)).

Expliqué précédemment, l'origine de cette hypoactivité dopaminergique pourrait venir d'une altération des récepteurs NMDA amenant à une diminution de l'activité des interneurons GABA à parvalbumine (PV). Des études précliniques ont montré que les interneurons PV+ étaient essentiels à la conduction des oscillations gamma (représentant l'activité électrique du cerveau et se déclenchant lors de l'activation synchrone des neurones pendant une tâche) au niveau cortical. On a pu observer durant une activité cognitive une diminution de ces oscillations au niveau du cortex pré-frontal chez les patients SCZ ([Lewis et al., 2012](#)).

Cette altération a également pu être démontrée par diminution de l'expression de l'ARNm de la PV et de la concentration de GAD67 au niveau du cortex préfrontal (CPF) (ainsi que dans d'autres régions néocorticales) ([Hashimoto et al., 2003](#) ; [Lewis et al., 2008](#)).

### 3. La plasticité cérébrale :

La plasticité cérébrale se définit par la capacité du cerveau à remodeler ses connexions structurales et moléculaires en fonction de l'environnement et des expériences vécues par l'individu ([Lewis et al., 2008](#)).

Elle peut être structurelle (neurogénèse, synaptogénèse...) ou fonctionnelle (potentialisation à long et court terme) et concerner les neurones ou la glie.

La modification de différentes formes de plasticité serait impliquée dans la SCZ. On va s'intéresser ici à la plasticité structurelle. Et en particulier à la neurogénèse qui désigne l'ensemble des processus de formation d'un neurone fonctionnel du système nerveux à partir d'une cellule souche neuronale. Un de ses médiateurs principaux est le BDNF (« Brain-Derived Neurotrophic Factor »). Celui-ci est exprimé principalement au niveau de l'HIP et du CPF. Ce facteur neurotrophique stimule la croissance dendritique et la densité des épines.

Dans des études cliniques, on a pu observer *in vivo* que le taux sérique en BDNF de patients atteints de SCZ était étroitement corrélé aux performances neurocognitives de mémoire et d'apprentissage ([Zhang et al., 2012](#)).

Une diminution de l'expression de l'ARNm de ce facteur au niveau du CPF et de l'HIP a également été rapportée dans des études *post mortem* ([Lewis et al., 2008](#) ; [Durany et al., 2001](#)).

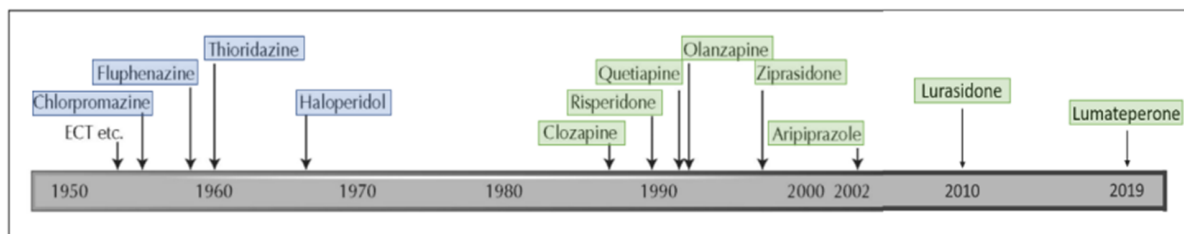
Ces observations sont étroitement liées à la réduction du volume de l'HIP et l'altération des processus de mémoire observés chez des patients SCZ.

## D. Traitements de la schizophrénie :

### 1. Traitement médicamenteux :

De façon générale, le traitement de la SCZ a pour objectif de réduire les symptômes et de favoriser l'insertion socio-professionnelle des patients.

Le premier antipsychotique, la chlorpromazine, a été découvert en 1950. Il fait partie de la première classe des APs, dit de première génération ou APs typiques. Depuis l'arsenal thérapeutique à disposition des médecins s'est enrichi avec l'apparition des APs dits de deuxième génération ou atypiques (*figure 5*).



*Figure 5 : Date de mise sur le marché des principaux antipsychotiques aux USA. En bleu : antipsychotiques de première génération, en vert : antipsychotiques atypiques de seconde génération. ECT = « electroconvulsive therapy ». Adapté d'après Tandon, 2002 (Jaeschke et al., 2016)*

Cette classe des APs atypiques fait partie, dans les recommandations officielles en France, de la première ligne de traitement dans la prise en charge de la SCZ (HAS, 2017). On retrouve, souvent associée, des antidépresseurs, normothymiques, anxiolytiques et hypnotiques selon le contexte clinique du patient. Ainsi que des traitements de « supports » liés aux phénomènes de dépendances tabagiques, alcooliques... et aux effets secondaires des neuroleptiques.

Nous allons ici nous intéresser plus particulièrement à l'aripiprazole.

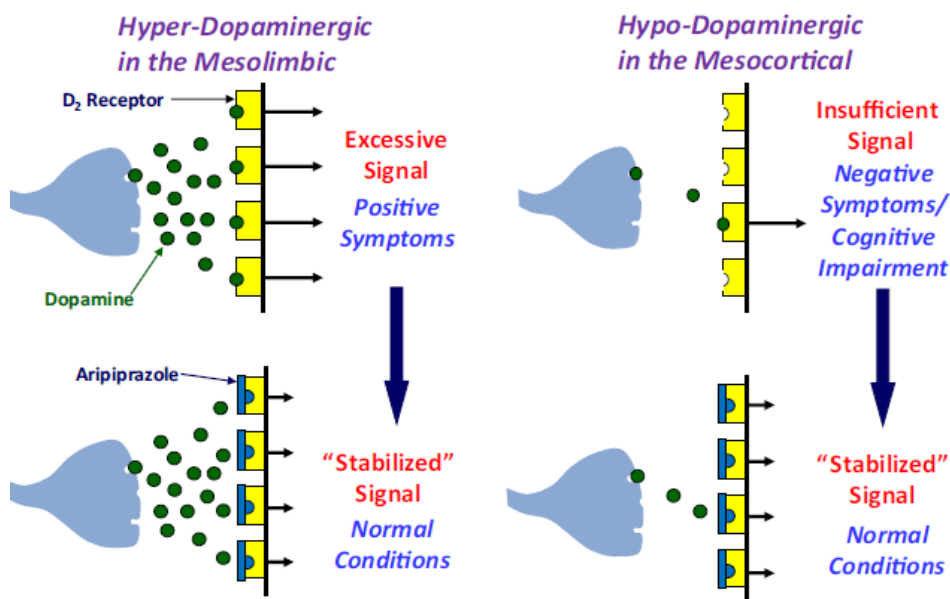
## a. L'aripiprazole

### ➤ Généralités :

La première génération d'AP (neuroleptique (NRL) typique) a été développée avec comme propriété pharmacodynamique principale l'antagonisme vis à vis des récepteurs D2 de la DA bloquant l'hyperactivité dopaminergique responsable en partie des symptômes productifs de la SCZ.

La deuxième génération d'AP (NRL atypique) apparue dans les années 80 associe un antagonisme d'une part, vis-à-vis des récepteurs D2-like et d'autre part, vis-à-vis des récepteurs sérotoninergique 5-HT2a. Ce profil pharmacologique étant caractérisé principalement par rapport aux premières générations de NRL par une diminution des effets indésirables extra pyramidaux. En effet, l'antagonisme des récepteurs 5HT-2a confère à ces NRL atypiques une sélectivité d'action sur la voie mésolimbique et une diminution d'antagonisme de la voie dopaminergique nigro-striatale ([Stahl, 2015](#)).

La troisième génération, représentée notamment par l'ARZ présente un mécanisme d'action unique comparé aux 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> générations. Il est principalement agoniste partiel des récepteurs dopaminergiques D2 et sérotoninergiques 5-HT1a et antagoniste des récepteurs sérotoninergiques 5-HT2a constituant une nouvelle classe pharmacologique de NRL les « stabilisateurs du système dopaminergique » ([Figures 6 et 7](#)) ([Preda et al., 2020](#)).



*Figure 6: « Stabilisateur du Système Dopaminergique » : Mécanisme de l'ARZ en tant qu'agoniste partiel des récepteurs D2 ([Kikuchi et al., 2021](#)).*

Receptors	Brexpiprazole	Aripiprazole	Olanzapine	Quetiapine	Risperidone	Haloperidol
D <sub>2</sub>	0.30	0.34	20	180	2.2	1.4
D <sub>3</sub>	1.1	0.8	50	940	9.6	2.5
5-HT <sub>1A</sub>	0.12	1.7	2100	230	210	3600
5-HT <sub>2A</sub>	0.47	3.4	3.3	220	0.29	120
5-HT <sub>2C</sub>	34	96	10	1400	10	4700
5-HT <sub>7</sub>	3.7	39	250	1800	3.0	1100
α <sub>1</sub>	3.8 <sup>a</sup>	52 <sup>a</sup>	54	15	1.4	4.7
H <sub>1</sub>	19	61	2.8	8.7	19	440
M <sub>1</sub>	>1000	6800	4.7	100	2800	1600

<sup>a</sup>α<sub>1A</sub> receptor, the Ki values are quoted from [Maeda et al., 2014](#), [Citrome et al., 2015](#), [Miyamoto et al., 2000](#)

**Figure 7** : Constante d'affinité des antipsychotiques pour différents récepteurs (Ki, nmol/L) ([Kikuchi et al, 2021](#)).

### ➤ Pourquoi cet antipsychotique ?

Plusieurs critères nous ont poussés à choisir cet AP pour notre étude. Tout d'abord, il s'agit d'un des APs les plus prescrits dans le monde et qui présente, outre la SCZ, un large spectre d'indications. Il a, par ailleurs, été démontré que contrairement à la majorité des autres APs, l'ARZ améliore les symptômes déficitaires et partiellement les symptômes cognitifs ([Hori et al., 2017](#)) suggérant une potentielle possibilité de l'augmentation de son efficacité vis à vis de ces derniers symptômes par l'activité physique. Cette dernière assertion étant étayée par des impacts communs et positifs de cet AP et de l'activité physique sur la neurogenèse et la sécrétion de BDNF ([Chikama et al., 2017](#) ; [Park et al., 2009](#)). Enfin, le profil pharmacologique de l'ARZ semble associé à sa capacité à améliorer des déficits cognitifs dans des modèles murins de schizophrénie par hypofonctionnement glutamatergique ([Nagai et al., 2009](#)).

## 2. Traitement non médicamenteux :

La prise en charge non médicamenteuse de la SCZ propose des psychothérapies, une aide à la réhabilitation psychosociale et remédiation cognitive.

L'électroconvulsivothérapie (ECT) a été l'un des premiers traitements utilisés pour traiter la SCZ. Elle consiste à l'administration répétée de chocs électriques sur le crâne. Elle est aujourd'hui utilisée en dernière intention dans le traitement de la maladie quand la SCZ est dite résistante ou réfractaire aux APs. Une étude de 2005 de Tharyan ([Tharyan et al, 2005](#)) recense plusieurs études cliniques contrôlées de 1982 à 2005 comparant un placebo à l'ECT, différentes approches non pharmacologiques et des



APs pour des patients atteints entre autres de SCZ. Ils en concluent que l'utilisation de l'ECT associé à des APs peut être considéré comme une option de traitement quand on souhaite obtenir une prise en charge rapide des symptômes ainsi que pour les SCZ réfractaires aux médicaments mais que le bénéfice clinique ne perdure pas.

La stimulation magnétique trans-crânienne (rTMS) est une technique indolore qui contrairement à l'ECT ne nécessite pas d'anesthésie. Son principe est basé sur l'utilisation de courte impulsion d'origine magnétique au niveau cérébrale dont l'objectif est d'augmenter ou diminuer l'excitabilité corticale. Elle est proposée aux patients SCZ souffrant d'hallucinations auditives persistantes. Il existe à ce jour aucune étude robuste sur un réel bénéfice de la prise en charge de certains symptômes de la SCZ par rTMS ([Guttesen et al., 2021](#) ; [Sciortino et al., 2021](#))

### ➤ **Activité sportive et schizophrénie :**

Comme évoqué en introduction, la SCZ regroupe des troubles multiples, liés à la pathologie elle-même, au style de vie des patients et également aux traitements.

Les troubles liés au style de vie des patients sont essentiellement la conséquence de la sédentarité, d'une hygiène négligée, de troubles du sommeil et d'une mauvaise alimentation. S'ajoutent à cela les effets indésirables et inévitables des traitements, qui sont généralement des traitements à vie (syndrome métabolique, pathologies cardiovasculaires, diabète, etc.).

De façon très intéressante, on peut noter que la plupart de ces problèmes physiques et mentaux peuvent-être en partie contrebalancés par l'activité physique ([Maurus et al., 2019](#)). En effet, l'activité physique est reconnue pour être un moyen non-pharmacologique très puissant pour améliorer la santé, non seulement physique mais aussi mentale ([Ashdown-Frankset et al., 2020](#)); ceci a été montré dans plusieurs pathologies ([U.S. Department of Health and Human Services, 1996](#)). Les principaux effets bénéfiques de l'activité physique concernent les fonctions cardiovasculaires et musculo-squelettiques, mais de plus en plus d'études révèlent que l'activité physique stimule aussi les fonctions cérébrales. En effet, un certain nombre de données cliniques et issues de l'expérimentation animale démontrent que la pratique d'une activité physique entraîne l'augmentation du nombre de cellules gliales, de neurones, de vaisseaux sanguins cérébraux, et enrichit la substance blanche ainsi que les complexités synaptique et dendritique ([Gligoroska et al., 2012](#) ; [van Praag et al., 1999](#)). De tels effets sont associés à une amélioration de la cognition et à une augmentation

de la résistance au stress aussi bien chez l'homme que chez l'animal ([Rothman et al., 2013](#)).

Concernant l'impact de l'activité physique sur l'amélioration des symptômes de la schizophrénie, un certain nombre de données cliniques récentes mettent en évidence un effet positif de telles approches notamment concernant les symptômes cognitifs ([Shimada et al., 2022](#)) et les symptômes négatifs ([Cella et al., 2023](#)). Par ailleurs, dans une méta-analyse récente (regroupant 6456 participants issus de 117 essais randomisés contrôlés, atteints de différentes pathologies psychiatriques dont, pour certains, la schizophrénie), Yu et ses collaborateurs ont notamment montré qu'un protocole d'exercice de résistance permettait d'améliorer les symptômes positifs alors qu'un entraînement multimodal (avec l'association d'au moins deux types d'exercice (exercice aérobique et exercice de résistance, par exemple)) permettait d'améliorer les symptômes négatifs des patients schizophrènes ([Yu Q et al., 2022](#)). Ces données récentes soulignent et renforcent l'intérêt de telles approches pour potentialiser et/ou compléter l'efficacité thérapeutique des antipsychotiques. Cependant, un certain nombre de points restent à élucider concernant l'intérêt de l'activité physique dans ce domaine (par exemple, durée et fréquence nécessaire des entraînements, périodes éligibles par rapport à l'évolution de la maladie,...) et en particulier, la mise en évidence des mécanismes moléculaires, cellulaires, synaptiques et systémiques impliqués. Pour cela, l'expérimentation animale permettant notamment de réaliser des études longitudinales comportementales corrélées à des approches *ex vivo* est d'un grand intérêt.

## E. La schizophrénie et la recherche préclinique :

### 1. Les modèles animaux :

Le développement de nouvelles molécules dans la prise en charge de la schizophrénie nécessite une administration chez l'animal durant la phase de recherche en préclinique comme c'est le cas pour d'autres pathologies. Par ailleurs, son étiologie multifactorielle et non élucidée de nos jours, et les modifications comportementales qui la caractérisent ne permettent pas de mettre en œuvre de manière préférentielle des études strictement cellulaires, tissulaires ou encore sur un organe ciblé au cours de ces essais précliniques mais impliquent des études *in vivo*.

Le développement d'un modèle animal de schizophrénie apparaît à la fois comme un véritable enjeu de santé publique au vu d'une absence de thérapeutique réellement

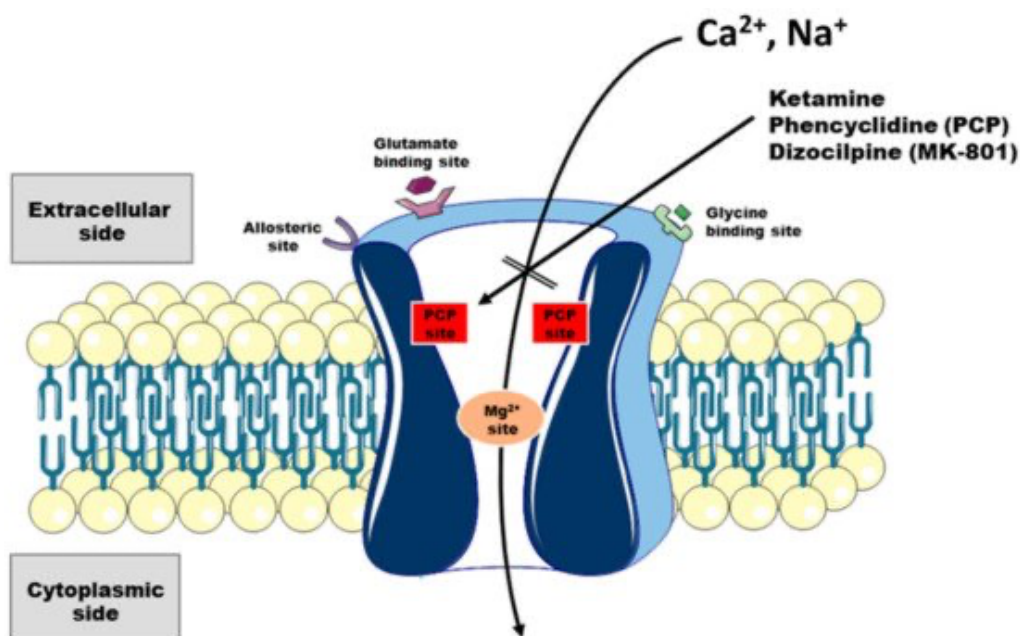
efficace mais également un véritable défi dans le domaine scientifique. De nombreux modèles visant à modéliser la nature complexe de son étiologie ont été développés au cours de ces dernières années. De façon schématique, ces modèles s'articulent autour de trois catégories, une approche pharmacologique, des modifications génétiques et environnementales ainsi que des atteintes anatomiques.

Le modèle peut être composé d'une seule approche ou d'une association de plusieurs modifications chez l'animal.

Un des premiers modèles à être apparu a été l'administration d'antagoniste des récepteurs NMDA (*Krystal et al., 1999*).

Ce modèle pharmacologique a été utilisé pour notre étude par administration chronique de PCP (*Nabeshima et al., 2006*). Ce composé est un psychotrope synthétisé en 1962 aux Etats-Unis et utilisé initialement en thérapeutique comme anesthésique et analgésique. Son usage fût rapidement détourné vers l'utilisation à des fins « récréatives » et ceci a conduit à l'interdiction de sa commercialisation en 1978.

Il agit comme antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA du glutamate avec une fixation allostérique lorsque le récepteur est en conformation ouverte (*Figure 8*).



*Figure 8* : Le récepteur NMDA est un récepteur ionotropique nécessitant la liaison de glutamate et de la glycine pour son activation. Il est composé de 4 sous unités formant un pore central perméable aux ions calcium (Ca<sup>2+</sup>). Au repos le canal pore est occupé par du magnésium (Mg<sup>2+</sup>) mais durant la dépolarisation l'ion Mg<sup>2+</sup> se détache pour

*laisser entrer dans la cellule les ions calcium. La PCP (comme la kétamine et le MK801) se fixe alors quand le récepteur est en conformation ouverte et va bloquer l'influx calcique.*

*Schéma extrait de la publication de (Lisek et al., 2020)*

On a pu observer chez les humains lors de la prise aiguë et prolongée de PCP, la survenue d'hallucinations et de délires pouvant évoquer les symptômes productifs observés chez des patients SCZ ainsi que l'altération des performances cognitives, une alogie et un retrait social progressif évoquant les symptômes déficitaires et cognitifs de la SCZ (Cohen et al., 1962).

Ces symptômes observés chez l'humain sain ont amené à la création d'un modèle pharmacologique murin de SCZ ainsi qu'au développement de l'hypothèse glutamatergique dans l'étiologie de la SCZ.

Des approches regroupant plusieurs facteurs ont également vu le jour au cours de ces dernières années.

Nous pouvons citer par exemple le modèle 3-hit (Bouet et al., 2020) conçu sur trois facteurs : un facteur génétique (délétion partielle du gène *map6* codant pour la protéine MAP6 impliquée dans la stabilisation des microtubules), un facteur environnemental précoce (séparation maternelle au jour 9 postnatal) et un tardif (une exposition chronique au tétrahydrocannabinol (THC) durant l'adolescence).

Une fois avoir sélectionné le modèle en fonction de ce que l'on souhaite mettre en évidence, la deuxième difficulté est d'évaluer les différents symptômes chez la souris. En effet les symptômes schizophréniques présentent une grande variabilité inter individuelle rendant le diagnostic complexe.

Ce diagnostic passe par une évaluation comportementale avec une expression verbale de la part des patients. Cette dimension rend son appréciation complexe quasi impossible chez l'animal. Il est donc nécessaire de développer et de déterminer comment il est possible d'observer et d'évaluer les symptômes de la SCZ chez la souris.

Plusieurs approches sont possibles, soit la mise en évidence d'altérations anatomiques et structurelles par différentes approches (moléculaire, tissulaire, électrique...) ou alors une approche comportementale par l'utilisation de tests

spécifiques permettant d'observer des réactions modélisant celles observées chez l'homme.

## 2. Protocole d'activité physique en préclinique :

L'évaluation des programmes d'activité physique à visée de santé chez l'homme sont des études se déroulant généralement sur une longue période, nécessitant un groupe avec un programme d'activité physique adaptée (APA) et un groupe témoin. Le suivi et le contrôle des essais rend difficile de prouver scientifiquement l'efficacité de l'activité physique dans l'amélioration de certains symptômes. Les méta-analyses et les revues systématiques destinées à faire la synthèse de ces essais font le constat actuellement d'un manque d'études de bonne qualité sur le plan méthodologique (*Ouvrage Inserm, 2019*).

L'intérêt de travailler en préclinique sur un protocole incluant de l'activité physique permet un contrôle et un suivi exact du temps et de l'intensité sportive donnée.

Pour les souris, une multitude de protocoles est retrouvée dans la littérature. Nous allons nous intéresser particulièrement à l'activité physique sur tapis roulant.

Une revue et méta-analyse de Costa Daniele en 2019 regroupe une multitude de protocoles avec la durée d'entraînement, la vitesse du tapis roulant et le temps de l'exercice, le genre et la souche de souris utilisée, l'étude comportementale réalisée *a posteriori* ainsi que les observations physiologiques au niveau cérébral observée à la fin du protocole (*Da Costa Daniele et al., 2019*).

Une étude De Bono a montré que les premiers effets physiologiques apparaissaient à partir de 10 jours d'entraînements (*De Bono et al., 2006*). Manzanares a pu observer des changements au niveau des muscles squelettiques, de la biogenèse mitochondriale et des capacités oxydatives à partir de 20 jour d'activité sportive (*Manzanares et al., 2018*)

En lien avec notre projet nous avons donc établi un protocole d'APA d'une durée de 14 jours minimum. Cette durée d'APA a motivé également notre décision de mettre en place une voie d'administration de l'ARZ par voie non invasive.

### III. PARTIE II :

Cette deuxième partie présente notre étude pilote. Comme évoqué plus tôt plusieurs éléments nous ont motivés à mettre en place une étude préliminaire. Les objectifs principaux ont été la mise en place d'un protocole d'administration par eau de boisson de l'ARZ avec l'étude des paramètres pharmacocinétiques de l'ARZ chez la souris C57Bl6 et le choix de la dose d'ARZ à utiliser.

#### A. Voie d'administration chez les souris :

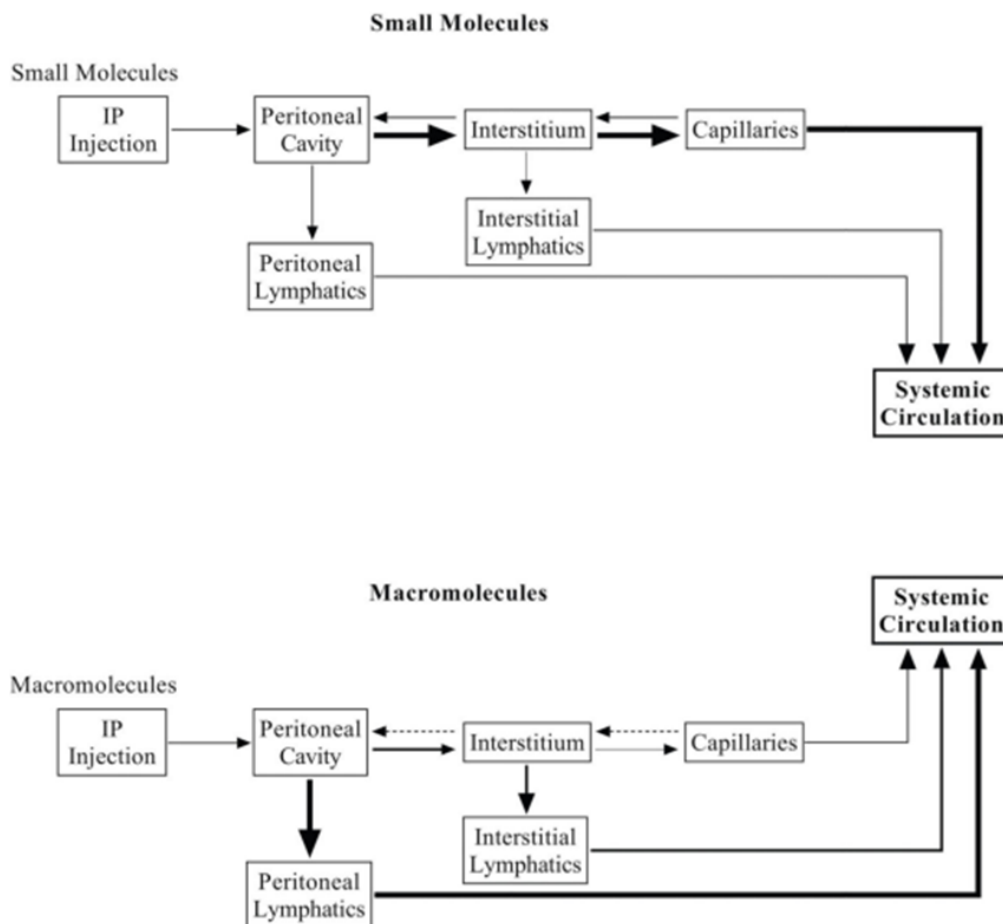
Il existe différentes voies d'administration de traitement chez les souris. La sélection de l'une par rapport à l'autre peut dépendre des caractéristiques physicochimiques de la molécule, de la durée de traitement ainsi que de la fréquence d'administration, du caractère anxiogène de la prise de traitement, des techniques de dosage de la substance utilisée et du souhait d'éviter ou non le passage digestif de la substance. On retrouve autant de voies possibles chez l'animal que chez l'humain.

Nous vous présenterons une liste non exhaustive de ces voies d'administration qui ont été utilisées au cours du projet.

La voie orale est la voie la plus utilisée en clinique et est, de ce fait, également choisie dans de nombreuses études expérimentales notamment chez le rongeur. C'est la voie qui présente le caractère translationnel le plus important, en ce qui concerne les médicaments chimiques (petites molécules). Ceux-ci étant le plus fréquemment administrés par voie orale chez l'homme. Dans ce cas, l'approche la plus communément utilisée est l'administration par gavage, par l'intermédiaire d'une sonde gastrique permettant d'amener directement la substance dans l'estomac de l'animal ([Gaillard et al., 2015](#)). C'est une technique qui peut être considérée comme stressante pour l'animal et peut occasionner des lésions de l'œsophage. Par ailleurs, elle n'est pas adaptée au développement préclinique de nouveaux biomédicaments, ceux-ci devant être administrés par voie intraveineuse, intramusculaire ou sous-cutanée.

Les deuxièmes types de voies utilisées sont l'injection de traitement par effraction cutanée et/ou muqueuse. On retrouve principalement la voie intra péritonéale (IP) et la voie sous cutanée (SC).

La voie IP permet d'injecter la substance à travers la paroi abdominale au niveau de la fosse péritonéale (Al Shoyaib et al., 2019)



*Figure 9* : Aperçu schématique des voies d'absorption pour les petites et macromolécules de la cavité péritonéale à la circulation systémique (Al Shoyaib et al., 2019)

C'est une voie pratique et facile à maîtriser, qui est moins stressante que la voie orale par gavage pour le rongeur, adaptée à différentes formulations (c'est-à-dire modifiable en fonction des propriétés physico-chimiques de l'agent pharmacologique testé), qui est caractérisée par une vitesse de résorption élevée et qui est adaptée pour les administrations répétées et de macromolécules (Al Shoyaib et al., 2019). Elle permet de plus l'injection de volume important (Morton et al., 2001). Elle reste néanmoins peu adaptée à l'étude de formulation de principes actifs et/ou de leurs propriétés pharmacocinétiques pour la translation clinique. Il est également impossible de déterminer avec certitude la dose de médicament injecté au niveau de la cavité péritonéale plutôt qu'au niveau des intestins, de la vessie ou autre organe se situant à proximité (Lewis et al., 1966). C'est enfin une voie qui nécessite une certaine

technicité. A titre d'illustration dans une étude ancienne, l'équipe de Steward en 1968 a reporté 14% d'erreur de placement de l'aiguille pour la voie IP ([Steward et al., 1968](#)).

La voie SC est une autre voie communément utilisée chez le rongeur. Elle permet d'éviter l'effet de premier passage hépatique contrairement à la voie IP. C'est une voie facile d'utilisation mais qui ne peut être envisagée pour les molécules irritantes et avec des pH situés aux extrémités du pH physiologique pouvant entraîner des douleurs chez l'animal et éventuellement provoquer la nécrose des tissus ([Morton et al., 2001](#)).

Depuis quelques années se développent également la mise en place de protocoles chez les rongeurs pour une prise du traitement, soit via l'eau de boisson soit via la nourriture. L'équipe de Zhang décrit en 2021 comment administrer une substance chez le rongeur en l'incorporant à des gelées sucrées en contrôlant le temps et la quantité administrée de médicament pour un individu donné ([Zhang et al., 2021](#)).

Ces techniques permettent de s'affranchir du caractère anxigène lié à la manipulation de l'animal pour chaque administration, surtout lors d'une administration chronique de la substance. Il reste néanmoins une complexité non négligeable de l'utilisation de ces techniques.

On ne retrouve pas dans la littérature un protocole bien établi pour toutes les substances. Certaines molécules sont difficilement solubles dans l'eau. Une étude préliminaire doit souvent être réalisée au préalable pour déterminer les différentes interactions pouvant survenir avec le type de nourriture utilisée. Les souris ne sont jamais laissées seules dans leur cage, il en devient difficile de déterminer individuellement si la consommation d'eau et de nourriture est homogène au sein même d'une cage...

Dans ce contexte, nous avons décidé de mettre en place un protocole d'administration de l'ARZ par eau de boisson ce qui, à notre connaissance, n'a jamais été validé d'un point de vue pharmacocinétique (mesure des concentrations résiduelles obtenues après administration subchronique). Au début de nos travaux plusieurs études utilisaient un protocole d'administration d'antipsychotiques via l'eau de boisson. Au cours d'une première étude relativement ancienne ([Kuruvilla et al., 1982](#)), les auteurs ont administré à des souris mâles CD1 via les biberons, un antipsychotique, l'haloperidol, pendant 35 jours. Dans cette étude, les souris étant hébergées par 5 ou 6. Une autre étude réalisée par Thomas et Yao en 2007 ([Thomas and Yao, 2007](#)) a administré un antipsychotique atypique, la clozapine via une solution remplaçant l'eau



de boisson, pendant 4 semaines, à des souris mâles et femelles transgéniques (souris knock-out apoD). Dans cette étude, les souris étaient hébergées individuellement. Une autre étude ([Wang et al., 2006](#)) s'est intéressée aux effets de l'administration chronique (via l'eau de boisson) de l'halopéridol et de la clozapine chez des souris gestantes et leurs portées. Dans cette étude, les femelles gestantes étaient hébergées par deux, les souriceaux, hébergés par groupes de 8-10, étaient traités jusqu'à leur 56ème jour postnatal. Plus récemment, He et ses collaborateurs ont testé, dans ces conditions, les effets d'un autre antipsychotique atypique, la quétiapine, administrée pendant 1 à 7 mois via l'eau de boisson dans un modèle (maladie d'Alzheimer) de souris transgénique ([He et al., 2009](#)). Dans cette étude, les souris mâles étaient hébergées individuellement alors que les souris femelles l'étaient par groupes de 5 à 6 souris. La même équipe chinoise, en collaboration avec des chercheurs canadiens et américains a administré cette même quétiapine toujours en libre accès via les biberons pendant 10 mois chez des souris transgéniques femelles modèle de la maladie d'Alzheimer ([Luo et al., 2014](#)). Cette étude mettait en œuvre uniquement des souris femelles hébergées par groupes de 3 ou 4.

L'intérêt du protocole que nous avons choisi est, comme c'est le cas dans certaines de ces études ([Kuruvilla et al., 1982](#), [Luo et al., 2014](#) ; [Wang et al., 2006](#)), de laisser pendant toute la période d'exposition au traitement, les souris en environnement social (hébergement par 5 dans les cages) et non en isolation sociale (souris hébergée individuellement). Ceci est très important pour les études expérimentales et en particulier comportementales, car l'hébergement individuel constitue un stress chronique (si le traitement dure plusieurs semaines à plusieurs mois) pour des souris au comportement très sociable et grégaire, stress dont les conséquences sur les résultats expérimentaux sont difficiles à quantifier et de ce fait constitue un biais dans l'analyse de ces résultats. Le caractère innovant de notre étude, réside dans le fait que nous avons mesuré les concentrations résiduelles en aripiprazole après administration subchronique de cet antipsychotique, ce qui n'avait jamais été réalisé à notre connaissance dans des études utilisant ce mode d'administration (en libre accès via une solution remplaçant l'eau de boisson).

## B. Choix d'une dose dans la recherche animale

Il est difficile de déterminer la dose adéquate de médicament à utiliser chez les animaux pour se retrouver dans l'intervalle de concentrations thérapeutiques comparables à celles utilisées en clinique.

Des équivalences de dose entre l'humain et l'espèce animal utilisé peuvent être appliqués (*Nair et al., 2016*). Il réside néanmoins des incertitudes concernant la substance utilisée, la voie d'administration, la caractère aigu ou chronique de la prise, et les caractéristiques individuelles de l'animal. En effet, il existe différentes souches de souris utilisées en expérimentation animale (exemple la souris C57Bl/6, la Friend Leukemia Virus Strain B...).

La pharmacodynamie et pharmacocinétique de la substance peuvent varier en fonction de la souche, de l'âge et du genre utilisé.

Une étude de Chikama a observé, à la dose de 3mg/kg d'aripiprazole par voie IP pendant 21J chez la souris C57Bl/6, une majoration de la neurogénèse au niveau de l'hippocampe (*Chikama et al., 2017*).

Une autre étude de Feigin a observé après injection par voie IP d'une dose unique d'ARZ à 2,5mg/kg, un blocage des effets de la PCP dans le « Prepulse Inhibition Test » (PPI) (*Feigin et al., 2007*). C'est un test mesurant l'inhibition du réflexe du sursaut. En effet une altération du PPI a été signalé dans plusieurs maladies psychiatriques, en particulier la SCZ (*Powell et al., 2009*).

Nagai a étudié en 2008 plusieurs doses d'ARZ 0,01 ; 0,03 ; 0,1 ; 0.3 et 1 mg/kg. Il a pu observer après la mise en place d'un modèle murin de SCZ par administration de PCP, des améliorations cognitives après administration d'ARZ en dose unique par gavage à la dose de 1mg/kg (*Nagai et al., 2009*).

Dans l'objectif du projet qui est l'amélioration des troubles cognitifs et des symptômes négatifs par la prise d'ARZ dans un modèle murin de SCZ nous avons décidé d'utiliser une large gamme de trois doses à tester : 0,1mg/kg, 1 mg/kg et 10 mg/kg. Ces 3 doses sont en effet retrouvées fréquemment utilisées dans les études expérimentales précliniques (*Allen et al., 2011; Cosi et al., 2005; Flood et al., 2007; Gil et al., 2018; Kim et al., 2017; Klingerman et al., 2014; Park et al., 2019; Rajagopal et al., 2022; Stephan et al., 2022; Wesolowska et al., 2011*).

Dans l'évaluation de la dose la plus adaptée, deux dimensions ont été abordées : la mesure des concentrations résiduelles de l'ARZ après administration par biberon pendant 9 jours et la mesure de l'activité locomotrice en fonction de la dose administrée.

L'aripiprazole est connu pour entraîner à certaines doses des effets hypolocomoteurs (*Nagai et al., 2009 ; Jerlhag et al., 2008 ; Bäckström et al., 2021*). L'activité motrice spontanée des souris peut être évaluée dans un actimètre automatique. On place les souris individuellement pendant 1h dans une cage standard équipée de 2 rayons infrarouges. Le nombre d'interruption du rayon par la souris est décompté automatiquement et permet de refléter l'activité locomotrice de la souris sur un temps donné (*Since et al., 2013*).

L'étude que nous avons menée a été soumise pour publication dans le journal « Toxicology and Applied Pharmacology ». La version soumise est insérée dans la partie 4 suivante de cette thèse

## IV. PUBLICATION

### **Pharmacokinetic validation of new protocole of oral chronic administration of aripiprazole through drinking water.**

Cécile Chofflet, Marie Héraudeau, Pierre-Marie Morice, Véronique Lelong-Boulouard, Valentine Bouet, Thomas Freret, Michel Boulouard.

UNICAEN, INSERM, COMETE, CYCERON, CHU Caen, Normandie Université, 14000 Caen, France.

#### **Abstract**

Schizophrenia is a chronic mental illness, with a prevalence of about 1%. The symptoms of this illness are classified in three categories: positive symptoms, negative symptoms and alteration in cognitive function. Concerning pharmacologic treatment of this pathology, current antipsychotics ameliorate mainly positive symptoms. In a largest context, our main study is to associate aripiprazole with physical activity in a rodent model of schizophrenia and evaluate the amelioration of cognitive deficit and negative symptoms. Our first step has been to validate the administration of aripiprazole by drinking water, to calculate the pharmacokinetic parameters of the antipsychotic in C57Bl/6 mice, to determinate the residual concentration of aripiprazole after a chronic administration by water bottle and to choose the adequate dose of the antipsychotic. The quantification of aripiprazole in blood and in our solution was determinate by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Three doses of aripiprazole were tested: 0.1, 1 and 10 mg/kg with for each dose the control of the spontaneous locomotor activity.

We validate our method of aripiprazole solubilization. The 10mg/kg dose of aripiprazole present coherent residual concentration and no strong effect of the spontaneous activity of mice.

**Keywords:** Schizophrenia, aripiprazole, pharmacokinetic, C57Bl/6 mice, drinking water.

#### **Conflict of interest statement**

The authors declare no conflict of interest.

## 1. Introduction

Schizophrenia is a chronic mental illness, with a prevalence of about 1%. The symptoms of this illness are classified in three categories: positive symptoms, negative symptoms and alteration in cognitive function (Davidson and McGlashan, 1977). Concerning pharmacologic treatment of this pathology, current antipsychotics are characterized by severe limitations. Firstly, these treatments are efficient for about half of patients only. Secondly, they ameliorate mainly positive symptoms (e.g., hallucinations and thought disorders which are the core of the disease) but negative (e.g., flat affect and social withdrawal) and cognitive (e.g., learning and attention disorders) symptoms remain insufficiently treated. Aripiprazole is an atypical antipsychotic approved by the US Food and Drug Administration (FDA) since 2002 for the treatment of schizophrenia. It is, notably, a partial dopamine D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> and serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors agonist and a serotonin 5-HT<sub>2a</sub> antagonist mainly. Its unique mechanism of action, classifies it as a third-generation antipsychotic (Preda et al, 2020) and brings about allowance in regulating positive schizophrenic symptoms and in a certain way, negative and cognitive ones with minimum metabolic and extrapyramidal adverse effects (Hori et al, 2017). A strategy aimed at better managing these latter symptoms would be to combine physical activity with particular 2nd and 3rd generation antipsychotics. In fact, clinical investigations have indicated that physical exercise is effective in alleviating negative and cognitive symptoms in patients with schizophrenia (Rosenbaum et al, 2014; Firth et al, 2015; Dauwan et al, 2016), but the mechanism is largely unknown.

This is why our laboratory has just initiated a program aimed at determine if the association of chronic (three months) aripiprazole treatment with physical activity (by treadmill) improve the cognitive and negative symptoms observed in schizophrenia in a mice model generated by subchronic injection of phencyclidine (Noda et al, 1995).

As part of this project, some methodological aspects must be settled. Given the long period of administration of aripiprazole envisaged (at least 3 months) and in order to limit the stress (Walker et al, 2012) in the mice inherent in the repetition (one injection orally daily) of the injections, we decided to administer our antipsychotic via drinking water. In effect, this stress may mask or enhance treatment effects, increasing the risk of false positive or negative results and decreasing reliability.

In this context, the main objective of this present study is to verify whether the subchronic administration of aripiprazole via a bottle-delivered solution in C57Bl/6 mice, housed in standard social conditions (five mice per cage), is consistent from a pharmacological point of view. In other words, the question is whether this mode of administration makes it possible to obtain individual residual plasma concentrations of aripiprazole that are relatively stable over time (in particular, during the duration of the behavioral studies) making it possible to correlate the drug-induced behavioral modifications at the level of pharmacological exposition. To our knowledge, such a study has never been carried out in C57Bl/6 mice with aripiprazole. Moreover, given the few pharmacokinetic studies of aripiprazole described in mice in the literature (Kirschbaum et al, 2010; Nagasaka et al, 2014; Wang et al, 2009) particularly in the C57Bl/6 mouse (Balog et al, 2022), and the frequent use of the intraperitoneal and oral routes (via gavage) in behavioral studies, we have completed our study by, firstly, a comparison of the residual concentrations obtained after acute administration by these two routes and, finally, by a description of main pharmacokinetic parameters after oral administration of a dose of 10 mg/kg (by gavage) of aripiprazole. In parallel, we also studied the effects on the spontaneous activity of aripiprazole, both after acute (p.o. via gavage) and subchronic administration.

## 2. Materials and methods

## 2.1 Animals

All experiments were performed with C57/BL6 J male mice aged between 6 to 10 weeks (Janvier Labs©, Le Genest-Saint-Isle, France). All animals were housed in a normal 12h light-dark room (light on at 7 am), with regulated temperature and humidity ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $55 \pm 10\%$  respectively), and access to food and water *ad libitum* in standard laboratory cage (n = 5 per cage). Experiments were performed in accordance with French and European Economic Guidelines for the care and use of laboratory animals (2010/63/UE) and authorized under the No. APAFIS#5161.

## 2.2 Pharmacological treatment

### 2.2.1 Drugs formulation and administration

Aripiprazole chlorhydrate (Thermo Fischer Scientific©, Waltham, USA) was dissolved in water with polysorbate 20% (Tween 20®, Sigma-Aldrich©, Saint-Louis, USA) at 0.5% of the solution and acetic acid (2 drops for 100ml of the solution). Based on data from the literature and in particular on the doses of aripiprazole used intraperitoneally and orally (by gavage) in C57Bl/6 mice, a wide range of doses 0.1-1-10 mg/kg has been implemented in our experience (Allen et al, 2011; Cosi et al, 2005; Flood et al, 2007; Gil et al, 2018; Kim et al, 2017; Klingerman et al, 2014; Park et al, 2019; Rajagopal et al, 2022; Stephan et al, 2022; Wesolowska et al, 2011).

For IP and PO (gavage) administration, aripiprazole and solvent (control group) were injected in a volume of 10ml/kg.

For the drinking solution administration procedure, the volume of consumed liquid was estimated a few days before the start of treatment and the concentrations of drug solutions (in mg/ml) were prepared according to the amount consumed (3,8 ml/mouse/day).

## 2.3 Pharmacokinetic study

### 2.3.1 Chromatographic system

ARZ quantification in formulation and in blood sample were measured using liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). The chromatography was carried out using ABSciex API 4500 QTRAP triple quadrupole mass spectrometer (Framingham, MA, USA) equipped with an electrospray ionization source. Acquisition was realized in multiple reaction monitoring (MRM) mode. The separation was performed on a reversed-phase Biphenyl column (2.1 x 100 mm, Phenomenex, USA). Mobile phases consisted of 1mM ammonium formate in water and 0.02% formic acid, (A phase) and ammonium formate 1mM in methanol and 0.02% formic acid (B phase), with gradient elution at 0.5mL/min. The column temperature was maintained at 40°C. All analyses were carried out in positive ion ESI (ESI+). Aripiprazole was extracted from rat plasma using liquid-liquid extraction. 100 µL of plasma were added with 50 µL of internal standards (D6-Venlafaxine and D3-Olanzapine, 250ng/mL), 500µL of sodic solution 0,25M and a mix of ethyl acetate/dichloromethane/hexane (40/22/38 v/v). Organic phase was extracted and dried down then the extract reconstituted in 100 mL of A mobile phase prior to LC-MS/MS quantification.

### 2.3.2 Stability (room temperature) formulation control

The measure of the concentration of aripiprazole in solution bottle was made by LC-MS on the same 5 sample the day of the preparation (T0) and 3 days after (T3). It was to determine if the concentration of aripiprazole was stabled at room temperature at least for 3 days.

### 2.3.3 Blood sample collect

All animals were anesthetized with isoflurane gas at 5% then 2.5% for maintain (with 70%/30% nitrous oxide/oxygen). Blood samples were collected *via* intracardiac puncture into heparinised tubes and stored at -20°C until analysis. The quantification of ARZ was performed on whole blood.

### 2.3.4 Pharmacokinetic of ARZ:

## 2.4 Behavioural assessment

Animals were placed in the testing room at least 30mn before the behavioural tasks. The testing room was dimly enlightened around 30 lumen with regulated temperature and humidity ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$  and  $55 \pm 10\%$  respectively).

### 2.4.1 Actimeter

Spontaneous locomotor activity was measured in a restrained environment through an automated actimeter (Imetronic®) (Bouet, 2021). Mice were individually placed in standard cages (19cm x 11cm x 14cm) under two lines of infrared beams.

The test duration was 1h and the numbers of beam crossing reflecting locomotor activity were automatically counted. The total activity including the activity in the front, in the back and back and forth was measured.

## 2.5 Experimental setting:

### Acute studies:

#### Pharmacokinetic studies:

#### *1- Kinetic parameters for acute administration of 10 mg/kg aripiprazole:*

Blood samples were collected at 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 and 24h after single oral administration of ARZ at 10 mg/kg to male C57/BL 6 mice under fasted condition. Each point was composed of 4 mice (at the point 0.5, 1, 2 and 4) and 3 mice at the point 8, 12 and 24h. The pharmacokinetic parameters: Cmax (maximum plasma drug concentration), tmax (time to reach the maximum plasma drug concentration), t1/2 (apparent elimination half-life) and AUCt-h (area under concentration-time curve from 0h to the last observable concentration at time) were calculated by non-compartment analysis.

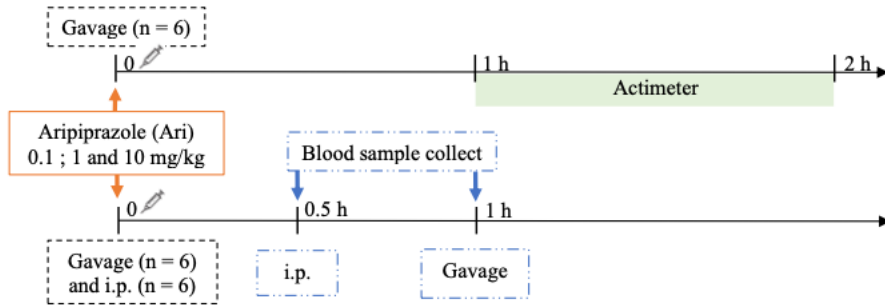
#### *2- Comparison of residual concentrations after i.p. and p.o administration*

The aim of this study was to compare the concentrations obtained after intraperitoneal and oral (gavage) administration of our range of doses (0.1-1-10 mg/kg). The blood sample collect was realized 1h after the administration by gavage and 0.5h after the intraperitoneally injection (n=6 per group).

#### *3.- Locomotor activity after p.o. administration:*

→ Acute study (see figure 1 for experimental design):

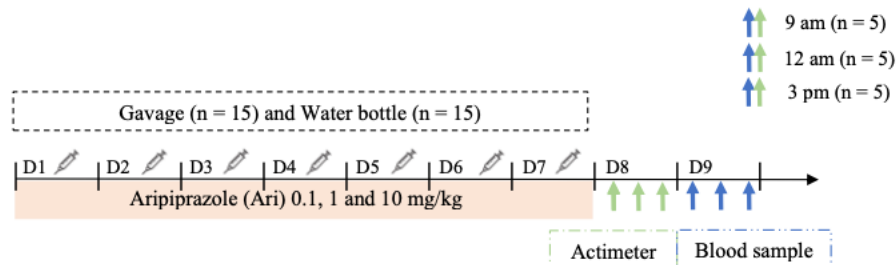
The locomotor activity of 24 mice divided into 4 groups (control, 0.1-1-10 mg/kg, p.o. (gavage) n=6 per group) was measured for 1 hour, 1 hour after the administration of aripiprazole. The total activity including the activity in the front, in the back and back and forth was measured.



**Figure 1:** Experimental design of acute study.

→ Subchronic study (see figure 2 for experimental design):

Two groups (n= 45 per group, n=15 per dose) corresponding to two different methods of administration of aripiprazole were used. In “oral (gavage)” group, mice have been treated by our doses (0.1-1-10 mg/kg) every day at 9 a.m. for 9 days. For the other group (drinking solution), aripiprazole was administered via drinking solution. On the 8th day, in the two administration groups, the mice of each dose (n=15) were randomly allocated to 3 subgroups (n=5 per subgroup). Locomotor activity was measured for one hour at 10 a.m. for one subgroup, at 12 p.m. for the second and at 3 p.m. for the third.



**Figure 2:** Experimental design of subchronic study.

Weight and liquid intake by the mice were also monitored daily during the subchronic study.

## 2.6 Data analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad® Prism software (Version 8.3.0, La Jolla, USA). The test used for normal distribution and variance comparison were the Shapiro test and Fischer test (before a t test) / Bartlett test (before an ANOVA test) respectively. When the



variances were significantly different, a Welch correction was applied. For the difference between two samples: Student t test as a parametric test and the Wilcoxon test as a non-parametric paired test were used. The comparison between to a reference value were calculated with univariate t-test (and the Wilcoxon test for a non-parametric test). For the analysis of > 2 samples, we used a one-way or two-way ANOVA test. If a significantly difference was observed, a Tukey's multiple comparisons test was performed.

Differences were considered significant when the associated P value was below 0.05.

Main pharmacokinetic parameters: area under the plasma drug concentration-time curve ( $AUC_{0-\infty}$ ), the non compartmental half-life time ( $t_{1/2}$ ), the Mean Transit Time were calculated by non-compartment analysis using "Rstudio" (R Core Team) software equipped with "PK" package.

### 3. Results

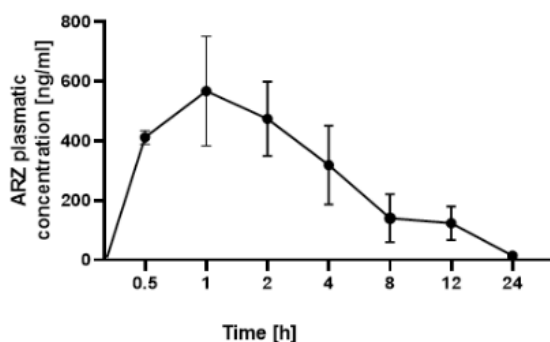
#### 3.1 Acute studies

##### 3.1.1- Kinetic parameters for acute administration of 10 mg/kg aripiprazole:

After a single oral administration (10 mg/kg) to mice, maximal plasmatic concentration of aripiprazole was equal to 567.7 ng/ml with a  $T_{max}$  of 1 h (Figure 3, Table 1). The  $T_{1/2}$  was equal to 4.84 h.

Route/dose	$C_{max}$ [ng/mL]	$T_{max}$ [h]	$AUC_{(0 \text{ to last})}$ [ng.h/ml]	$AUC_{(0 \text{ to inf})}$ [ng.h/ml]	MTT (mean transit time) [h]	$T_{1/2}$ [h]
G. 10 mg/kg	567.7 ± 106	1	3737 ± 413.3	3831.9 ± 403.9	6.98	4.84

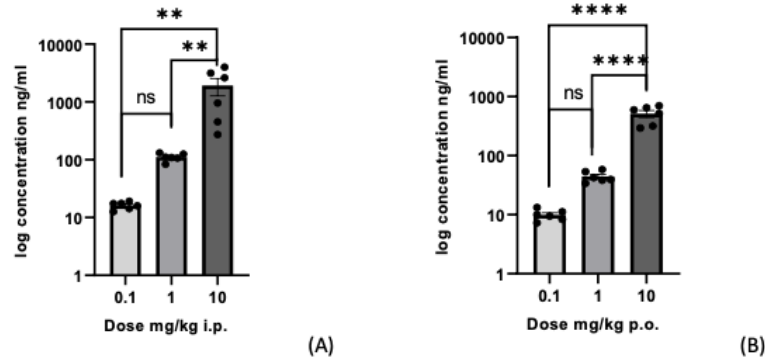
**Table 1:** Pharmacokinetic data of ARZ after 10 mg/kg gavage administration from 0.5 to 24h in mice



**Figure 3:** Time profile of plasmatic concentrations after a single oral administration of aripiprazole (ARZ) to C57Bl/6 mice at a dose of 10mg/kg. Each point represents the mean ± SD of data from four mice (0.5-1-2-4h) or three mice (8-12-24h).

##### 3.1.2- Comparison of residual concentrations after i.p. and p.o administration

The residual concentrations of ARZ are indicated in table 2 and figure 4 (as log concentration). Analysis showed significantly differences (ANOVA one way for gavage:  $F(2,15) = 48.04$ ;  $P < 0.0001$ , for intraperitoneal administration,  $F(2,15) = 8.451$ ;  $P = 0.0035$ ). Post hoc analysis (Tukey's multiple comparison test) showed no difference between the 0.1 mg/kg and the 1 mg/kg for the two different administration routes ( $P = 0.8218$  for gavage and  $P = 0.9818$  for i.p. administration) and significant differences for other doses comparisons (see figure 4 for details).



**Figure 4:** ARZ log concentration ng/ml (Mean  $\pm$  SEM) after i.p. (A) and p.o. (B) acute administration at the three doses tested (n=6 per dose).

\*\* $p < 0.01$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$  (Tukey's multiple comparisons test)

ARZ	i.p..	p.o.	Ratio [i.p.]mean/[p.o.]mean
0.1 mg/kg	16.18 ( $\pm 0.9776$ )	9.91 ( $\pm 0.8606$ )	1.63
1 mg/kg	111.1 ( $\pm 6.750$ )	44.35 ( $\pm 3.812$ )	2.5
10 mg/kg	1911 ( $\pm 636.1$ )	512.8 ( $\pm 70.10$ )	3.725

**Table 2:** Mean  $\pm$  SEM of the concentration of ARZ in ng/ml

**Figure 5** indicate comparison of log concentration obtained for each dose depending of the route of administration. Analysis (Unpaired Student test) revealed significant difference for 0.1 mg/kg ( $P = 0.0007$ ) and for 1mg/kg ( $P < 0.0001$ ) and only tendance for signification for 10 mg/kg ( $P = 0.0538$ ).

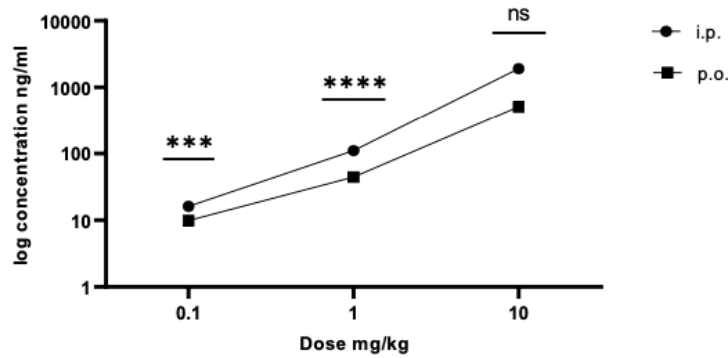


Figure 5: ARZ log concentration ng/ml i.p. group and p.o. group. Data are shown in Mean at the three different doses. Unpaired Student test  
 \*\*\*  $p < 0.01$ ; \*\*\*\*  $p < 0.0001$

### 3.1.3- Locomotor activity after acute p.o. administration:

To explore the effect of aripiprazole on spontaneous activity at the three different doses, we measured locomotor activity after a single oral administration. Figures 6B et 6C shows the effect of a single administration of aripiprazole on locomotor activity in mice. Treatment with aripiprazole decreased total locomotor activity in a dose-dependent manner (ANOVA one-way  $F(3,20) = 20.44$ ;  $P < 0.0001$ , post hoc Tukey test details in fig 6.B). The time course of changes in locomotor activity revealed a significant decrease that aripiprazole at doses of 1 and 10 mg/kg caused marked locomotor suppression 1 h after treatment (ANOVA two way with repeated measures, effect of group:  $F(3,20) = 20.44$ ,  $P < 0.0001$ ; effect of the time:  $F(11, 220) = 2.285$ ,  $P = 0.0116$ ; no effect of interaction between group and time:  $F(33, 220) = 1.234$ ,  $P = 0.1892$ ; fig 6.C).

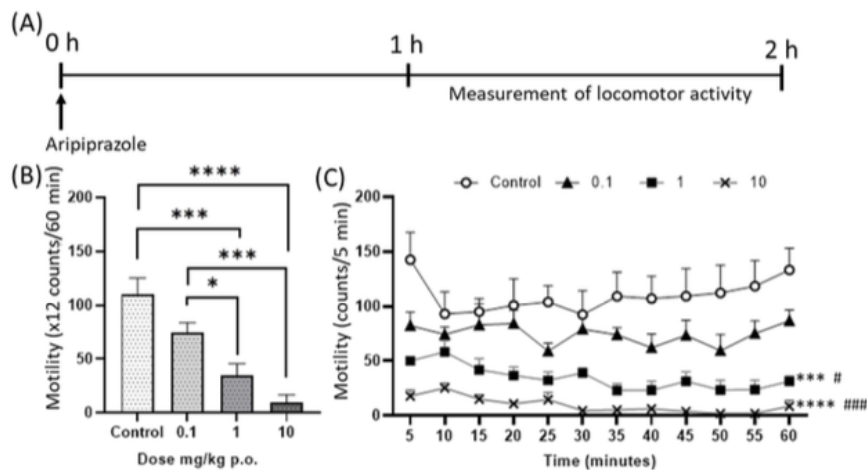


Fig 6: Effects of single p.o administration of aripiprazole (0.1, 1 or 10 mg/kg) or vehicle on locomotor activity.

(A) Experimental schedule for the measurement of locomotor activity. Mice were administered aripiprazole (0.1–1–10 mg/kg, p.o.) or vehicle, 1 h before the measurement of locomotor activity.

(B) Total locomotor activity for 1 h. Data are shown in mean values  $\pm$  S.E.M (n=6 per group). Analysis with a post hoc Tukey test: \*p<0.05; \*\*p<0.01; \*\*\* p<0.001; \*\*\*\* p<0.0001

(C) Time course of changes in locomotor activity measured every 5 minutes. Data are shown in mean values  $\pm$  S.E.M (n=6 per group). \*\*\*p<0.001, \*\*\*\*p<0.0001 versus control group; #p<0.05, ###p<0.001 versus 0.1 mg/kg group.

### 3.2 Subchronic studies

#### 3.2.1 Formulation control:

We validate the dilution of ARZ in solution bottle and determinate if the concentration was stable at least for three days. Because ARZ showed solubilisation difficulties in water, we added tween 20 (1%, m/m) a non-ionic surfactant and acid acetic to obtain a micellar solution.

The formulation control was obtained at day one of the preparation by LC-MS and three days later with the same sample (keeping in room temperature).

The results are shown in table 3. Our formulation allowed ARZ to solubilise at 1 mg/ml at 21  $\pm$  2°C with no significant change between the sample and 72h later (Wilcoxon test, samples paired: P=0.6250).

We compared also separately with a one sample t test with the theoretical mean 1 mg/kg, no difference was found (Day 1 P=0.0768, Day 3 P=0.2063)

	Concentration (mg/ml)	
	Day 1	Day 3
	0.684	0.988
	1.05	0.967
	0.779	0.983
	0.920	0.948
	0.827	0.697
Mean ( $\pm$ SEM)	<b>0.852</b> ( $\pm$ 0.06245)	<b>0.9166</b> ( $\pm$ 0.05534)

**Table 3.** Concentration of ARZ (mg/ml) in solution bottle at day 1 and 72h later. Data represents the concentration of each sample and the mean  $\pm$  SEM of the sample of the day. Wilcoxon test, samples paired: P=0.6250.

#### 3-2-2 Comparison of residual concentrations after p.o administration (gavage and drinking bottle group):

##### → Gavage group:

After 8 days of treatment, the plasma concentration of ARZ at 10, 12 and 3pm after a last single oral administration at 9 am day 9 are shown in table 4. We compared for each dose the possible difference at the 3 times of the day.

After an ANOVA two-way, we found an effect of group ( $F(2,12) = 138.1, P < 0.0001$ ), effect of the time ( $F(2,24) = 5.203, P = 0.0133$ ), effect of interaction between group and time ( $F(4,24) = 2.892, P = 0.0437$ ). A Tukey's post hoc test showed two differences for the 10mg/kg group between 10am and 3pm ( $P = 0.0009$ ) and between 12am and 3pm ( $P = 0.0048$ ). We found no difference between 0.1 and 1, ( $P = 0.0713$ ) but we found a difference between 0.1 and 10 ( $P < 0.0001$ ) and between 1 and 10 ( $P < 0.0001$ )

	10 am	12 am	3 pm
0.1 mg/kg	7.472 ( $\pm 0.4073$ )	7.114 ( $\pm 0.1687$ )	6.506 ( $\pm 0.1176$ )
1 mg/kg	77.68 ( $\pm 26.03$ )	40.68 ( $\pm 2.616$ )	27.12 ( $\pm 3.711$ )
10 mg/kg§§§	336.8 ( $\pm 82.5$ )	307.4 ( $\pm 39.45$ )**	157.6 ( $\pm 18.83$ )****

**Table 4:** Mean  $\pm$  SEM of the concentration of ARZ in ng/ml for the three concentrations at 10am, 12am and 3pm for the p.o. gavage group. n= 5 per group. §§§ p<0.001 versus 0.1 mg/kg and 1 mg/kg groups. \*\*p<0.01, \*\*\*\*p<0.0001 versus group "10mg/kg, 10 am".

➔ **Water bottle group:**

The plasma concentration of ARZ after water bottle administration are shown in table 5. The result for the 0.1mg/kg was under the curves for analyse by LCMS. The concentration was too low to be interpretate. If we focus on the two other doses, by an ANOVA 2way we found an effect of group ( $F(1,8) = 406.2, P < 0.0001$ ), effect of the time ( $F(2,16) = 5.208, P = 0.0181$ ), effect of interaction between group and time ( $F(2,16) = 5.316, P = 0.0170$ ). A Tukey's post hoc test showed three differences: for the 1mg/kg group between 10am and 12am ( $P = 0.0447$ ), for the 10mg/kg group between 10am and 3pm ( $P = 0.0256$ ) and between 12am and 3pm ( $P = 0.0083$ ).

We tested also the possible difference intra individual for each separate group to validate the homogeneity of the d.b. administration: by ROUT Method (Q=1%) no outliers were found.

	10 am	12 am	3 pm
0.1 mg/kg	NE	NE	NE
1 mg/kg	7.696 ( $\pm 0.2948$ )	14.36 ( $\pm 1.360$ ) *	11.83 ( $\pm 0.8628$ )
10 mg/kg&&&&	31.24 ( $\pm 0.9516$ ) #	29.84 ( $\pm 2.742$ ) ##	38.62 ( $\pm 2.282$ )

**Table 5:** Mean  $\pm$  SEM of the concentration of ARZ in ng/ml for the three concentrations at 10 am, 12 am and 3 pm for the p.o. drinking bottle group. n= 5 per group. &&&&p<0.0001 versus 1 mg/kg group. \* p<0.05 versus "1mg-10 am". #p<0.05 versus 10 mg 3 pm, ##p<0.01 versus "10 mg 3 pm".

3.2.3 Locomotor activity after subchronic p.o. (gavage or solution bottle) administration:

This experiment aimed to compare the effects of aripiprazole on spontaneous activity performance after two modalities of subchronic oral administration: one by gavage, the other via a drinking solution. The results are reported in the figure 9.

→ **Gavage group:**

To explore the effect of sedation by aripiprazole at the three different doses, we measured locomotor activity after a subchronic oral administration and analyse the differences found between 10 am, 12am and 3pm.

We made an ANOVA two way with no repeated measure (different sample between 10, 12 and 3pm). We found an effect of time ( $F(2,32)=17.79$ ,  $P<0.0001$ ), an effect of group ( $F(3,16)=27.10$ ,  $P<0.0001$ ) and no interaction between group and time ( $F(6,32)=2.161$ ,  $P=0.0733$ ).

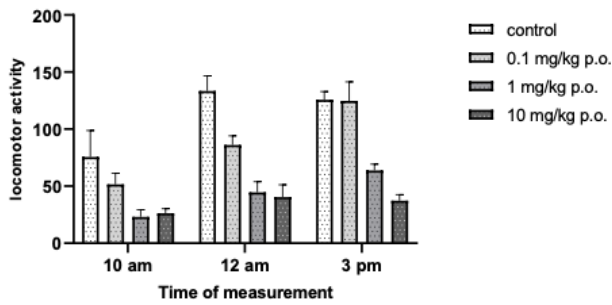


Figure 7: Effects of subchronic p.o. (gavage group) administration of aripiprazole (0.1, 1 or 10 mg/kg) or vehicle on locomotor activity in mice at the three time of the day. Data are presented as the accumulated counts over the entire 60-min period. Shown are the mean values ± S.E.M (n=5 per group)

→ **Water bottle group:**

Even if the locomotor activity was measured for 1h we grouped the result to compare the mean of each mouse at the three different time (10, 12 and 3pm) and the three doses. With an ANOVA two way we found no difference between group ( $F(3,16)=1.263$ ;  $P=0.3204$ ), small effect of the time of measurement ( $F(2,32)=3.843$ ,  $P=0.0319$ ) and no interaction between group and time ( $F(6,32)=1.899$ ,  $P=0.115$ ). With the post hoc test we found the only differences was at 1 mg/kg between 10 am and 12am ( $P=0.0233$ ) and 10 am and 3pm (0.0499) (details are shown in figure 8)

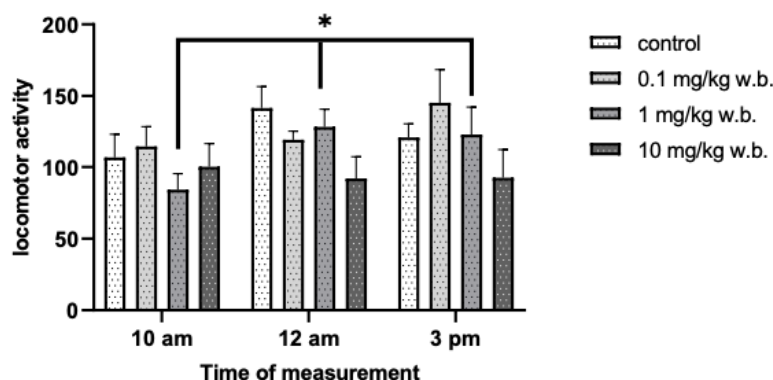


Figure 8: Effects of subchronic p.o. (drinking water) administration of aripiprazole (0.1, 1 or 10 mg/kg) or vehicle on locomotor activity in mice at the three time of the day. Data are presented as the accumulated counts over the entire 60-min period. Shown are the mean values  $\pm$  S.E.M (n=5 per group). \* p<0.05.

#### 4 Discussion:

##### 4.1 Acute studies

##### 4.1.1- Kinetic parameters for acute administration of 10 mg/kg aripiprazole:

To our knowledge, no study to measure the main pharmacokinetic parameters after acute administration has been performed in C57Bl/6 mice to date. The only study in this mouse strain reported the residual concentration obtained after intraperitoneal administration of aripiprazole at a dose of 2.5 mg/kg (once daily for 8 days) (Balog et al, 2022). Nagasaka (Nagasaka et al, 2014) described pharmacokinetic parameters after a single oral administration of aripiprazole (2 mg/kg) in FVB mice. The authors notably reported  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$  and  $AUC_{inf}$  values equal to 272 ng/ml, 0.5 h, 4.1 h and 1810 ng.h/ml, respectively. Using the same mouse strain (FVB) Wang (Wang et al, 2009) indicates that, after an i.p. of 2 mg /kg administration of aripiprazole, the residual plasma concentrations after 1h, 2h and 3 h are respectively equal to 183, 114 and 82 ng/ml which makes it possible to approximate a  $T_{1/2}$  of the order of 3 hours. In study of Piazzini (Piazzini et al, 2020) mice CD-1 were orally administered using an ARP dose of 0.2 mg/kg (ARP commercial solution (Abilify®)) and the values of  $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $T_{1/2}$  and  $AUC_{0-24}$  were equal to 437ng/ml, 4h, 13.4 h and 8463 ng.h/ml, respectively. It is difficult to compare the values of the pharmacokinetic parameters obtained in our study with those of Nagasaka, Piazzini and Wang, being notably the differences in mouse strains, doses of aripiprazole, route of administration and other methodological considerations, but concerning the  $T_{1/2}$ , our results are close to those of Nagasaka for this parameter (4.84 h for us versus 4.1 h).

##### 4.1.2- Comparison of residual concentrations after i.p. and p.o administration

Taking into account that many studies in C57Bl/6 mice, in particular behavioral ones, use acute intraperitoneal administration of aripiprazole (Allen et al, 2011; Balog et al, 2022; Bortolozzi,

et al, 2007; Choy et al, 2016; Cosi et al, 2005; Faure et al, 2019; Flood et al, 2007; Huang, et al, 2020; Murotani et al, 2011, Mutlu et al, 2017; Pereira et al, 2014; Ponce et al, 2015; Rajagopal et al, 2022; Sarkysyan et al, 2010; Wesolowska et al, 2011; Zocci et al, 2005), we decided to compare the residual concentrations obtained after administration of our range of doses (0.1-1-10 mg/kg) after intraperitoneal and oral administrations. We used a 30-minute delay between administration of aripiprazole and collection of plasma samples for the i.p. in accordance with the work of Chen et al, 2020; Flood et al, 2007; Mutlu et al, 2017 using i.p. acute injection of aripiprazole in C57Bl/6 mice. The delay was 1 h for oral administration in accordance with our kinetic data described here ( $T_{max} = 1$  h). In summary, we note a significant dose-dependent increase in residual concentrations for the two types of administration in the range of doses used (figure 4 and table 2). Moreover, under our conditions, for each dose, the concentrations obtained after i.p. administration are higher than those obtained after p.o. injection. Interestingly, the comparison of the residual concentrations for each dose and each route of administration (table) shows that the higher the dose, the greater the ratio  $\text{mean}[i.p.]/\text{mean}[p.o.]$ , going from 1.63 to 0, 1 mg/kg to 2.5 to 1  $\mu\text{mg}/\text{kg}$  and 3.725 to 10 mg/kg. Knowledge of this ratio can be very useful for extrapolating doses of interest in C57Bl/6 mice when switching from the i.p. at the p.o. and vice versa.

#### 4.1.3- Locomotor activity after acute p.o. administration

To our knowledge, no study has so far reported the effects of aripiprazole on locomotor activity after a single oral administration in C57Bl/6 mice. Our results appear nevertheless, similar to those of Zocci et al, 2005 reporting a decrease in locomotor activity in this same strain of mice after acute intraperitoneal administration of aripiprazole at 0.3 mg/kg but not at 0.1 mg/kg. Our results can also be compared to those of Boulay et al, 2010 and Marinho et al, 2014, who notably reported a hypolocomotor effect at a dose of 1 mg/kg in Swiss mice after single oral or i.p. administration, respectively. As well as those of Jerlhag (Jerlhag, 2008) who reported a significant decrease in locomotor activity in NMRI mice after a single i.p. from a dose of 1.25 mg/kg. In addition, other studies using acute i.p. of the same range of doses as us (0.1-1-10 mg/kg) in Swiss mice did not show any change in spontaneous activity (Almeida-Santoz et al, 2014; Viana et al, 2013). However, Picada et al, 2011, using i.p. single dose of the 1-3-10 mg/kg range in SR-1 mice demonstrated a decrease in spontaneous activity at the 3 doses tested. Differences in the results of studies of the effects of acute administration of aripiprazole on spontaneous activity could reside, beyond the route of administration, in the strain of mice used, the housing conditions of the animals (reversed light/dark cycle or not), in the time between aripiprazole administration and test, in the methods of measuring activity (for example, counting the number of interrupted photocell beams versus measuring the distance traveled in an open-field) and the duration of the test.

## **4.2 Subchronic study**

### 4.2.1 Formulation control:

We have developed a solubilization method for aripiprazole and we have also checked the stability over 3 days at room temperature of this solution. After several adjustments aimed at optimizing solubility by varying in particular the concentration of the surfactant, we have validated our solution of aripiprazole hydrochloride, carried out with the addition of polysorbate 20 dosed at 0.5% of the solution, 2 drops of 10  $\mu\text{l}$  of acetic acid/100ml of solution (Kirschbaum et al, 2009) and completed with tap water. We used the surfactant agent tween 20 which allows to solubilize about 10 mg of aripiprazole per ml (Ramya et al, 2019) and contains hydrophilic groups which allows it to be soluble in water. Finally, we also demonstrated that our solution



was stable for at least 3 days at the temperature of the mouse housing room. This allowed us to set the frequency of 3 days for changing bottle solutions.

#### 4.2.2 Locomotor activity after subchronic p.o. (gavage and solution drinking) administration and correlation with residual concentration:

We measured the change in body weight as well as the volumes of water or solution consumed during the 9 days of administration of the different doses of aripiprazole and found no significant difference between the different groups (data not shown).

##### 4.2.2.1 Plasmatic residual concentration

The two main results of our study concern, on the one hand, the demonstration of residual plasma concentrations measurable 9 days (reach of the state of equilibrium of concentrations) after administration by the bottle solution of doses of 1 and 10 mg/kg, and on the other hand, that these concentrations remain relatively stable during the period 9 am-3 pm which corresponds to the period of behavioral experimentation. Interestingly, little inter-individual variability is observed for the concentrations measured for each of the two doses and each point after this mode of administration.

This suggests that our mode of administration based on the average water consumption of the mice and without individual control of the volumes actually consumed ultimately makes it possible to achieve comparable levels of systemic exposure to aripiprazole for each of the experimental groups.

Only one study has, to our knowledge, measured the residual concentration of aripiprazole in C57BL/6J male mice after subchronic administration (Balog et al, 2022). In this study, the authors obtained a concentration of between 100 and 125 ng/ml after subchronic administration (a daily intraperitoneal injection at 8 am for 8 days) of 2.5 mg/kg of aripiprazole. The samples were taken 4 to 6 hours after the last treatment. It is difficult to make a comparison of our data with those of this study (given methodological differences concerning in particular the route of administration and the time of collection after the last administration) but we can note that the residual concentration value (100-125 ng/ml) obtained by Balog is between those obtained 3 hours and 6 hours after the last oral administration (gavage) of doses of 1 mg/kg and 10 mg/kg, respectively (see table 4).

Moreover, no accumulation of aripiprazole is seen in subchronically (p.o. gavage) treated mice compared to acutely injected animals. This result is in agreement with those of Kirschbaum, (Kirschbaum et al, 2010) obtained after subchronic i.p. administration of aripiprazole in FVB mice.

## **5 Conclusion:**

We have validated from a pharmacokinetic point of view a new chronic administration protocol in C57BL/6 mice via the drinking water of aripiprazole. This makes it possible to obtain stable concentrations of aripiprazole (between 10 am and 15 pm) and therefore seems particularly suitable for measuring behavioral parameters after long periods (several months) of exposure to this antipsychotic.

## References

Allen JA, Yost JM, Setola V, Chen X, Sassano MF, Chen M, Peterson S, Yadav PN, Huang XP, Feng B, Jensen NH, Che X, Bai X, Frye SV, Wetsel WC, Caron MG, Javitch JA, Roth BL,

Jin J. Discovery of  $\beta$ -arrestin-biased dopamine D2 ligands for probing signal transduction pathways essential for antipsychotic efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011 Nov 8;108(45):18488-93.

T Almeida-Santos AF, Gobira PH, Souza DP, Ferreira RC, Romero TR, Duarte ID, Aguiar DC, Moreira FA. The antipsychotic aripiprazole selectively prevents the stimulant and rewarding effects of morphine in mice. *Eur J Pharmacol*. 2014 Nov 5;742:139-44.

Balog M, Anderson AC, Heffer M, Korade Z, Mirmics K. Effects of Psychotropic Medication on Somatic Sterol Biosynthesis of Adult Mice. *Biomolecules*. 2022 Oct 21;12(10):1535.

Bortolozzi A, Díaz-Mataix L, Toth M, Celada P, Artigas F. In vivo actions of aripiprazole on serotonergic and dopaminergic systems in rodent brain. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007 Apr;191(3):745-58

Bouet V, Percelay S, Leroux E, Diarra B, Léger M, Delcroix N, Andrieux A, Dollfus S, Freret T, Boulouard M. A new 3-hit mouse model of schizophrenia built on genetic, early and late factors. *Schizophr Res*. 2021 Feb;228:519-528

Boulay D, Bergis O, Avenet P, Griebel G. The glycine transporter-1 inhibitor SSR103800 displays a selective and specific antipsychotic-like profile in normal and transgenic mice. *Neuropsychopharmacology*. 2010 Jan;35(2):416-27.

Choy KH, Shackelford DM, Malone DT, Mistry SN, Patil RT, Scammells PJ, Langmead CJ, Pantelis C, Sexton PM, Lane JR, Christopoulos A. Positive Allosteric Modulation of the Muscarinic M1 Receptor Improves Efficacy of Antipsychotics in Mouse Glutamatergic Deficit Models of Behavior. *J Pharmacol Exp Ther*. 2016 Nov;359(2):354-365.

Cosi C, Waget A, Rollet K, Tesori V, Newman-Tancredi A. Clozapine, ziprasidone and aripiprazole but not haloperidol protect against kainic acid-induced lesion of the striatum in mice, in vivo: role of 5-HT1A receptor activation. *Brain Res*. 2005 May 10;1043(1-2):32-41.

Davidson L and McGlashan TH. The Varied Outcomes of Schizophrenia. *The Canadian Journal of Psychiatry*. 1997 42 (1): 34-43.

Dauwan M, Begemann MJ, Heringa SM, Sommer IE. Exercise Improves Clinical Symptoms, Quality of Life, Global Functioning, and Depression in Schizophrenia: A Systematic Review and Meta-analysis. *Schizophr Bull*. 2016 May;42(3):588-99.

Faure A, Nosjean A, Pittaras E, Duchêne A, Andrieux A, Gory-Fauré S, Charvériat M, Granon S. Dissociated features of social cognition altered in mouse models of schizophrenia: Focus on social dominance and acoustic communication. *Neuropharmacology*. 2019 Nov 15;159:107334.

Firth J, Cotter J, Elliott R, French P, Yung AR. A systematic review and meta-analysis of exercise interventions in schizophrenia patients. *Psychol Med*. 2015 May;45(7):1343-61.  
Flood DG, Gasior M, Marino MJ. Variables affecting prepulse inhibition of the startle reflex and the response to antipsychotics in DBA/2NCr1 mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007 Dec;195(2):203-11.

Gil CH, Kim YR, Lee HJ, Jung DH, Shin HK, Choi BT. Aripiprazole exerts a neuroprotective effect in mouse focal cerebral ischemia. *Exp Ther Med*. 2018 Jan;15(1):745-750.

Hori H, Yoshimura R, Katsuki A, Atake K, Igata R, Konishi Y, Beppu H, Tominaga H. Blood Biomarkers Predict the Cognitive Effects of Aripiprazole in Patients with Acute Schizophrenia. *Int J Mol Sci*. 2017 Mar 6;18(3):568.

Jerlhag E. The antipsychotic aripiprazole antagonizes the ethanol- and amphetamine-induced locomotor stimulation in mice. *Alcohol*. 2008 Mar;42(2):123-7.

Kim YR, Kim HN, Hong KW, Shin HK, Choi BT. Antidepressant Effects of Aripiprazole Augmentation for Cilostazol-Treated Mice Exposed to Chronic Mild Stress after Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci*. 2017 Feb 8;18(2):355.

Kirschbaum KM, Hiemke C, Schmitt U. Rotarod impairment: catalepsy-like screening test for antipsychotic side effects. *Int J Neurosci*. 2009;119(10):1509-22.

Kirschbaum KM, Uhr M, Holthoewer D, Namendorf C, Pietrzik C, Hiemke C, Schmitt U. Pharmacokinetics of acute and sub-chronic aripiprazole in P-glycoprotein deficient mice. *Neuropharmacology*. 2010 Nov;59(6):474-9.

Klingerman CM, Stipanovic ME, Bader M, Lynch CJ. Second-generation antipsychotics cause a rapid switch to fat oxidation that is required for survival in C57BL/6J mice. *Schizophr Bull*. 2014 Mar;40(2):327-40.

Marinho EA, Oliveira-Lima AJ, Wuo-Silva R, Santos R, Baldaia MA, Hollais AW, Longo BM, Berro LF, Frussa-Filho R. Selective action of an atypical neuroleptic on the mechanisms related to the development of cocaine addiction: a pre-clinical behavioural study. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2014 Apr;17(4):613-23.

Murotani T, Ishizuka T, Isogawa Y, Karashima M, Yamatodani A. Possible involvement of serotonin 5-HT<sub>2</sub> receptor in the regulation of feeding behavior through the histaminergic system. *Neuropharmacology*. 2011 Jul-Aug;61(1-2):228-33.

Mutlu A, Mutlu O, Ulak G, Akar F, Kaya H, Erden F, Tanyeri P. Superior effects of quetiapine compared with aripiprazole and iloperidone on MK-801-induced olfactory memory impairment in female mice. *Biomed Rep*. 2017 May;6(5):567-570.

Nagasaka Y, Sano T, Oda K, Kawamura A, Usui T. Impact of genetic deficiencies of P-glycoprotein and breast cancer resistance protein on pharmacokinetics of aripiprazole and dehydroaripiprazole. Nagasaka Y, Sano T, Oda K, Kawamura A, Usui T. *Xenobiotica*. 2014 Oct;44(10):926-32.

Noda Y, Yamada K, Furukawa H, Nabeshima T. Involvement of nitric oxide in phencyclidine-induced hyperlocomotion in mice. *Eur J Pharmacol*. 1995 Nov 24;286(3):291-7.

Park SY, Kim HY, Lee YS, Heo HJ, Shin HK, Lee WS, Hong KW, Kim CD. Augmented improvement of cognition and memory by aripiprazole add-on for cilostazol treatment in the chronic cerebral hypoperfusion mouse model. *Behav Brain Res*. 2019 Jun 3;365:133-140.

Pereira A, Zhang B, Malcolm P, Sugiharto-Winarno A, Sundram S. Quetiapine and aripiprazole signal differently to ERK, p90RSK and c-Fos in mouse frontal cortex and striatum: role of the EGF receptor. *BMC Neurosci.* 2014 Feb 20;15:30.

Piazzini V, Landucci E, Urru M, Chiarugi A, Pellegrini-Giampietro DE, Bilia AR, Bergonzi MC. Enhanced dissolution, permeation and oral bioavailability of aripiprazole mixed micelles: In vitro and in vivo evaluation. *Int J Pharm.* 2020 Jun 15;583:119361.

Picada JN, Dos Santos Bde J, Celso F, Monteiro JD, Da Rosa KM, Camacho LR, Vieira LR, Freitas TM, Da Silva TG, Pontes VM, Pereira P. Neurobehavioral and genotoxic parameters of antipsychotic agent aripiprazole in mice. *Acta Pharmacol Sin.* 2011 Oct;32(10):1225-32.

Ponce G, Quiñones-Lombraña A, Martín-Palanco NG, Rubio-Solsona E, Jiménez-Arriero MÁ, Palomo T, Hoenicka J. The Addiction-Related Gene *Ank1* is Oppositely Regulated by D1R- and D2R-Like Dopamine Receptors. *Neurotox Res.* 2016 Apr;29(3):345-50.

Preda A, Shapiro BB. A safety evaluation of aripiprazole in the treatment of schizophrenia. *Expert Opin Drug Saf.* 2020 Dec;19(12):1529-1538.

Rajagopal L, Ryan C, Elzokaky A, Burstein ES, Meltzer HY. Pimavanserin augments the efficacy of atypical antipsychotic drugs in a mouse model of treatment-refractory negative symptoms of schizophrenia. *Behav Brain Res.* 2022 Mar 26;422:113710.

Rosenbaum S, Tiedemann A, Sherrington C, Curtis J, Ward PB. Physical activity interventions for people with mental illness: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Psychiatry.* 2014 Sep;75(9):964-74.

Sarkisyan G, Roberts AJ, Hedlund PB. The 5-HT(7) receptor as a mediator and modulator of antidepressant-like behavior. *Behav Brain Res.* 2010 May 1;209(1):99-108.

Stephan M, Schoeller J, Raabe FJ, Schmitt A, Hasan A, Falkai P, Jensen N, Rossner MJ. Spironolactone alleviates schizophrenia-related reversal learning in *Tcf4* transgenic mice subjected to social defeat. *Schizophrenia (Heidelb).* 2022 Sep 29;8(1):77.

Viana TG, Almeida-Santos AF, Aguiar DC, Moreira FA. Effects of aripiprazole, an atypical antipsychotic, on the motor alterations induced by acute ethanol administration in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2013 May;112(5):319-24.

Wang JS, Zhu HJ, Donovan JL, Yuan HJ, Markowitz JS, Geesey ME, Devane CL. Aripiprazole brain concentration is altered in P-glycoprotein deficient mice. *Schizophr Res.* 2009 May;110(1-3):90-4.

Walker MK, Boberg JR, Walsh MT, Wolf V, Trujillo A, Duke MS, Palme R, Felton LA. A less stressful alternative to oral gavage for pharmacological and toxicological studies in mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012 Apr 1;260(1):65-9.

Wesołowska A, Partyka A, Jastrzębska-Więsek M, Kolarz A, Mierzejewski P, Bienkowski P, Kołaczowski M. Tail suspension test does not detect antidepressant-like properties of atypical antipsychotics. *Behav Pharmacol.* 2011 Feb;22(1):7-13.

Zocchi A, Fabbri D, Heidbreder CA. Aripiprazole increases dopamine but not noradrenaline and serotonin levels in the mouse prefrontal cortex. *Neurosci Lett*. 2005 Oct 28;387(3):157-61.

## V. DISCUSSION :

En complément de la discussion disponible dans l'article soumis, dans cette partie V, nous apportons quelques développements complémentaires de discussion.

Dans le cadre de notre projet d'étude de l'intérêt de l'association d'ARZ avec l'activité physique dans la prise en charge des symptômes déficitaires et cognitifs de la SCZ, nous avons mené un certain nombre d'études préliminaires indispensables à la réalisation pratique de ce projet.

Dans le contexte d'une administration chronique de notre AP et avec le souci de limiter le stress inhérent à des administrations quotidiennes invasives, nous nous sommes attachés à mettre au point une méthode d'administration via les biberons de notre agent pharmacologique.

Dans ce cadre, nous avons :

- Mis au point une méthode nouvelle de solubilisation (adaptée à la prise par biberon) de l'ARZ et vérifié la stabilité sur trois jours de la solution obtenue (compatible avec la périodicité des changes de biberons et des cages au sein du laboratoire).
- Établi lors d'une étude subchronique (9 jours), que l'administration à disposition de l'ARZ via les biberons permettait d'obtenir des concentrations résiduelles significatives d'un point de vue pharmacologique.
- Déterminé, après administration unique d'ARZ à la dose de 10mg/kg par voie *per os* (gavage), les paramètres pharmacocinétiques de la molécule chez la souris C57Bl/6.
- Déterminé la dose d'ARZ à utiliser pour la suite de notre protocole par évaluation pharmacocinétique et pharmacodynamique (activité locomotrice par actimétrie).

En parallèle, nous avons suivi la consommation de liquide et le gain de poids chez nos souris pendant 9 jours.

## A. Protocole d'administration par biberon :

### 1. Validation de notre méthode de solubilisation et mesure de la stabilité de l'ARZ :

Nous avons mis en place une méthode de solubilisation de l'ARZ dans l'eau de biberon des souris permettant sa prise en chronique selon une période donnée.

Pour valider cette méthode trois étapes ont été réalisées.

Nous avons tout d'abord, après quelques ajustements, établi la formulation adéquate dans la solubilisation de chlorhydrate d'aripiprazole avec l'ajout de polysorbate 20 (Tween20®) dosé à 0,5% de la solution, 2 gouttes de 10 µl d'acide acétique/100 ml de solution (*Kirschbaum et al., 2010*) et complété avec de l'eau du robinet.

Une fois la formulation établie nous avons dosé par LCMS à partir de cinq tubes d'échantillons la concentration d'ARZ (avec comme objectif la concentration de 1mg/ml). Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les échantillons (voir article).

En accord avec la périodicité des changes de biberons et des cages des souris au sein du laboratoire, ces mêmes échantillons ont été laissés à température ambiante et dosés à nouveau 3 jours après. Aucune différence significative n'a également été retrouvée (voir article).

Nous avons donc pu conclure que notre formulation permettait d'obtenir une solution d'ARZ homogène et stable durant au moins 3 jours justifiant la fréquence de change des biberons tous les 3 jours.

### 2. Étude des concentrations résiduelles d'ARZ

La dernière étape a été réalisée durant l'étude subchronique. Après 9 jours de traitement, nous avons prélevé nos trois groupes de souris à 10h, 12h et 15h et mesuré les concentrations résiduelles aux 3 doses d'ARZ testées. A 0,1mg/kg les concentrations résiduelles mesurées étaient en dessous des valeurs limites de détection de la LCMS et n'ont pu être interprétées. Pour les deux autres doses testées, nous avons montré une homogénéité des résultats entre les différents individus par la méthode de ROUT en statistique n'identifiant aucun « outliers ».

Cette dernière étape nous a permis de valider notre méthode d'administration de l'ARZ par l'eau de boisson.

Si l'on s'intéresse aux études parues, à notre connaissance une seule s'est intéressée aux concentrations résiduelles d'ARZ chez la souris C57Bl6 après administration subchronique (administration quotidienne pendant 8 jours) ([Balog et al, 2022](#)). Dans cette étude, la dose utilisée était égale à 2,5 mg/kg et la voie d'administration était la voie intrapéritonéale.

Il est donc difficile de comparer nos résultats à des études connues présentant la même souche de souris, la même posologie et la même voie d'administration...

## B. Les paramètres pharmacocinétiques :

Concernant les paramètres pharmacocinétiques, peu d'études à notre connaissance n'ont étudié les caractéristiques pharmacocinétiques de l'ARZ en particulier chez la souris C57BL/6. Après administration unique par gavage à la dose de 10mg/kg d'ARZ nous avons mesuré les concentrations résiduelles sanguines d'ARZ à 30min, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h et 24h.

Nous avons pu ainsi déterminer certains paramètres pharmacocinétiques permettant d'implémenter les données chez cette souche de souris.

Parmi les points de discussion (limites de l'étude), l'utilisation de 3 à 4 individus par point de prélèvement peut s'avérer juste statistiquement pour établir une généralité sur la pharmacocinétique de l'ARZ chez la souris C57Bl/6. Cependant, ce nombre d'individu par point est proche de celui couramment utilisé dans les études pharmacocinétiques précliniques. Ce nombre est par exemple, égal à 5 dans l'étude de Kirschbaum ([Kirschbaum et al., 2010](#)).

On a pu retrouver également des variabilités interindividuelles assez importantes, surtout au point les plus proches de l'administration, présentées dans l'article en écart type à la moyenne (*SEM*). Ceci pourra nous inciter lors d'études ultérieures à utiliser un nombre d'animaux plus important pour ces points précoces.

Le modèle pharmacocinétique utilisé a été un modèle d'analyse non compartimentale où les points pharmacocinétiques sont directement déduits des points expérimentaux (Concentration maximale et Temps maximal). Ce sont le type d'études de pharmacocinétique réalisé en préliminaire sur des petits échantillons. Il permet d'obtenir les principaux paramètres pharmacocinétiques et n'a pas pour objectif d'expliquer la variabilité inter-individuelle.



### C. Détermination de la dose adéquat d'ARZ à utiliser :

La première observation a été que les concentrations résiduelles d'ARZ à la dose de 0,1mg/kg se trouvant dans les valeurs basses de détection de la LCMS n'ont pu être interprétées. Cette première remarque nous a permis, pour cette nouvelle méthode d'administration dans l'eau de boisson, d'éliminer cette dose potentielle pour la suite de nos travaux.

Les autres résultats ont montré que notre nouveau protocole d'administration par biberon permet d'obtenir des concentrations résiduelles cohérentes d'un point de vue pharmacologique. En effet les concentrations obtenues à la dose de 10 mg/kg sont comparables à celles obtenues par gavage à la dose de 1mg/kg. Par ailleurs pour les deux doses interprétables dans la prise par biberon, on retrouve une certaine stabilité des concentrations durant la période d'étude comportementale visée (9h à 15h).

D'un point de vue pharmacodynamique les résultats d'actimétrie indiquent l'absence d'effet hypolocomoteur important chez nos souris aux deux doses permettant d'obtenir des concentrations plasmatiques détectables, l'analyse des données comportementales obtenues dans les différents tests envisagées (mémoire, sociabilité) ne seront donc pas biaisés par des éventuels effets sédatifs.

En effet l'ARZ est connu pour entraîner des effets hypolocomoteurs dose-dépendant. La publication de Nagai montre qu'à partir de la dose unique de 0,3mg/kg par gavage on observe une diminution de mobilité des souris par rapport au groupe témoin ([Nagai et al., 2009](#)). Une autre étude intéressante a observé, à la dose 1mg/kg par voie IP, que l'ARZ contrait les effets psychostimulants entraînés par l'injection de MK801 (antagoniste des récepteurs NMDA également utilisé dans les modèles de SCZ au même titre que la PCP) ([Leite et al., 2008](#))

Au vu des différents résultats pharmacocinétiques et pharmacodynamiques obtenus, nous avons décidé de sélectionner la dose de 10 mg/kg par biberon pour la suite de notre protocole.

### D. Consommation liquide et surveillance poids :

Parallèlement à ça, les résultats n'étant pas présentés dans l'article, nous nous sommes intéressés à la consommation de « liquide » et l'évolution du poids de nos souris. L'objectif étant de déterminer si la prise d'ARZ (associée à ses excipients de solubilisation) par eau de boisson entraînait une prise de poids ainsi qu'une surconsommation de liquide par rapport au groupe gavage.

Le suivi de ces deux paramètres a été journalier ce qui nous a également permis d'ajuster au mieux la quantité d'ARZ à solubiliser dans l'eau par rapport à la moyenne du volume consommé par souris.

Nos résultats ont montré l'absence de modification sur l'évolution du poids de nos différents groupes de traitement suggérant que l'ARP n'a pas d'influence sur ce paramètre. La méta-analyse de Barton ([Barton et al., 2020](#)) montre en étude clinique que l'ARZ (en fonction de la dose et du temps d'exposition) entraîne un gain de poids comparé au groupe placebo. Il faut souligner que cet AP n'est pas classé parmi ceux qui engendrent le plus de prise de poids. Concernant le lien de ces données cliniques avec notre étude, la faible durée d'exposition à l'ARZ de nos souris et le faible échantillonnage nous ne permettent pas de conclure sur la potentielle influence de notre AP sur ce paramètre chez les souris C57BL/6. Nous veillerons cependant à mesurer l'évolution du poids corporel lors de notre prochaine étude (3 semaines d'exposition).

Concernant la consommation de liquide, aucune différence significative n'a été observée entre le groupe *per os* (gavage) et le groupe biberon. Une moyenne de 3,67ml/souris/jour a été trouvée pour le groupe *per os* (gavage) et une moyenne de 4,170 ml/souris/jour pour le groupe eau de biberon.

Le guide sur le management et le bien-être des animaux de laboratoires de Wolfensohn, évoque une consommation de 6-7 ml d'eau par jour ([Wolfensohn et al., 2013](#)). Les lignes directives du Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA) mentionnent une consommation d'eau variant de 3,9 à 8,2ml par souris selon la souche. Nos résultats sont en accord avec ceux retrouvés dans le CCPA.

Il sera néanmoins intéressant de suivre la consommation d'eau lors de notre étude pour le groupe réalisant de l'activité physique. La réalisation d'activité sportive chez nos souris pourrait logiquement amener à une augmentation de la consommation d'eau et donc des concentrations résiduelles d'aripiprazole retrouvées chez celles-ci.

## VI. CONCLUSION & PERSPECTIVE :

En conclusion, cette étude nous a permis de valider un protocole innovant d'administration de l'ARZ adapté à l'administration chronique de ce médicament et permettant de diminuer considérablement le niveau de stress chez nos souris du fait du caractère non invasif de la voie d'administration choisie.

Nous avons pu également sélectionner la dose d'intérêt de 10mg/kg que nous utiliserons dans notre projet de validation d'une nouvelle approche de prise en charge des symptômes déficitaires et cognitifs de la schizophrénie.

Par ailleurs, nous avons pour la première fois à notre connaissance caractérisé les paramètres pharmacocinétiques de l'aripiprazole après administration aiguë de la dose de 10 m/kg par voie orale (par gavage). La connaissance de ces paramètres nous sera très utile (ainsi qu'à d'autres chercheurs d'autres équipes) dans nos études ultérieures utilisant cet antipsychotique.

Nous avons également démontré que la méthode d'administration libre via l'eau de boisson de cet AP permettait d'obtenir des concentrations résiduelles significatives et relativement stables pendant la période désignée des analyses comportementales (entre 10 heures et 15 heures).

## Bibliographie :

Akbarian S, Huang HS. Molecular and cellular mechanisms of altered GAD1/GAD67 expression in schizophrenia and related disorders. *Brain Res Rev.* 2006;52(2):293-304.

Al Shoyaib A, Archie SR, Karamyan VT. Intraperitoneal Route of Drug Administration: Should it Be Used in Experimental Animal Studies? *Pharm Res.* 2019;37(1):12).

Allen JA, Yost JM, Setola V, Chen X, Sassano MF, Chen M, Peterson S, Yadav PN, Huang XP, Feng B, Jensen NH, Che X, Bai X, Frye SV, Wetsel WC, Caron MG, Javitch, JA, Roth BL, Jin J. Discovery of  $\beta$ -arrestin-biased dopamine D2 ligands for probing signal transduction pathways essential for antipsychotic efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(45):18488-93.

Andreasen, N. C., & Flaum, M. Schizophrenia: The characteristic symptoms. *Schizophrenia Bulletin.* 1991;17(1), 27–49.

Ashdown-Franks G, Firth J, Carney R, Carvalho AF, Hallgren M, Koyanagi A, et al. Exercise as Medicine for Mental and Substance Use Disorders: A Meta-review of the Benefits for Neuropsychiatric and Cognitive Outcomes. *Sports Med Auckl NZ.* 2020;50(1):151-70.

Balog M, Anderson AC, Heffer M, Korade Z, Mirnics K. Effects of Psychotropic Medication on Somatic Sterol Biosynthesis of Adult Mice. *Biomolecules.* 2022; 12(10):1535.

Barton BB, Segger F, Fischer K, Obermeier M, Musil R. Update on weight-gain caused by antipsychotics: a systematic review and meta-analysis. *Expert Opin Drug Saf.* 2020;19(3):295-314.

Bouet V, Percelay S, Leroux E, Diarra B, Léger M, Delcroix N, et al. A new 3-hit mouse model of schizophrenia built on genetic, early and late factors. *Schizophr Res.* 2021;228:519-28.

Bralet MC, Navarre M, Eskenazi AM, Lucas-Ross M, Falissard B. Intérêt d'un nouvel instrument dans l'évaluation cognitive dans la schizophrénie. *L'Encéphale.* 2008;34(6):557-62.

Brown AS, Susser ES. Prenatal Nutritional Deficiency and Risk of Adult Schizophrenia. *Schizophr Bull.* 2008;34(6):1054-63.

Cella M, Roberts S, Pillny M, Riehle M, O'Donoghue B, Lyne J, Tomlin P, Valmaggia L, Preti A. Psychosocial and behavioural interventions for the negative symptoms of schizophrenia: a systematic review of efficacy meta-analyses. *Br J Psychiatry.* 2023;15:1-11

Cheslack-Postava K, Brown AS. Prenatal infection and schizophrenia: A decade of further progress. *Schizophr Res.* 2022;247:7-15.

Chikama K, Yamada H, Tsukamoto T, Kajitani K, Nakabeppu Y, Uchimura N. Chronic atypical antipsychotics, but not haloperidol, increase neurogenesis in the hippocampus of adult mouse. *Brain Res.* 2017;1676:77-82.

Citrome L, Stensbøl TB, Maeda K.. The preclinical profile of brexpiprazole: what is its clinical relevance for the treatment of psychiatric disorders? *Expert Rev Neurother.* 2015;15(10):1219–29.

Cohen B, Rosenbaum G, Luby Ed, Gottlieb Js. Comparison of Phencyclidine Hydrochloride (Sernyl) with Other Drugs: Simulation of Schizophrenic Performance with Phencyclidine Hydrochloride (Sernyl), Lysergic Acid Diethylamide (LSD-25), and Amobarbital (Amytal) Sodium; II. Symbolic and Sequential Thinking. *Arch Gen Psychiatry.* 1962;6(5):395-401.

Cosi C, Waget A, Rollet K, Tesori V, Newman-Tancredi A. Clozapine, ziprasidone and aripiprazole but not haloperidol protect against kainic acid-induced lesion of the striatum in mice, in vivo: role of 5-HT<sub>1A</sub> receptor activation. *Brain Res.* 2005;1043(1-2):32-41.

Crow TJ. Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. *Br J Psychiatry J Ment Sci.* 1980;137:383-6.

Da Costa Daniele TM, de Bruin PFC, de Matos RS, de Bruin GS, Maia Chaves C, de Bruin VMS. Exercise effects on brain and behavior in healthy mice, Alzheimer's disease and Parkinson's disease model—A systematic review and meta-analysis. *Behav Brain Res.* 2020;383:112488.

Davidson L, McGlashan TH. The Varied Outcomes of Schizophrenia. *Can J Psychiatry*. 1997;42(1):34-43.

De Bono JP, Adlam D, Paterson DJ, Channon KM. Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2006 ;290(4):R926-34.

Durany N, Michel T, Zöchling R, Boissl KW, Cruz-Sánchez FF, Riederer P, et al. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin 3 in schizophrenic psychoses. *Schizophr Res*. 2001;52(1):79-86.

Fejgin K, Safonov S, Pålsson E, Wass C, Engel JA, Svensson L, et al. The atypical antipsychotic, aripiprazole, blocks phencyclidine-induced disruption of prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007;191(2):377-85.

Flood DG, Gasior M, Marino MJ. Variables affecting prepulse inhibition of the startle reflex and the response to antipsychotics in DBA/2NCRl mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007;195(2):203-11.

Gaillard D, Benoit MA, Herbeaux K. Administration de substance, par voie orale, chez la Souris et le Lapin. *STAL*. 2015;41(2):11-5.

Gil CH, Kim YR, Lee HJ, Jung DH, Shin HK, Choi BT. Aripiprazole exerts a neuroprotective effect in mouse focal cerebral ischemia. *Exp Ther Med*. 2018;15(1):745-750.

Glahn DC, Laird AR, Ellison-Wright I, Thelen SM, Robinson JL, Lancaster JL, et al. Meta-Analysis of Gray Matter Anomalies in Schizophrenia: Application of Anatomic Likelihood Estimation and Network Analysis. *Biol Psychiatry*. 2008;64(9):774-81.

Gligoroska JP, Manchevska S. The Effect of Physical Activity on Cognition – Physiological Mechanisms. *Mater Socio-Medica*. 2012;24(3):198-202.

Gottesman, I. I. *Schizophrenia genesis: The origins of madness*. (W H Freeman/Times Books/ Henry Holt & Co. (ed.)). 1991

Gründer G, Cumming P. Chapter 7 - The Dopamine Hypothesis of Schizophrenia: Current Status. In: Abel T, Nickl-Jockschat T, éditeurs. *The Neurobiology of Schizophrenia*. San Diego: Academic Press; 2016 [cité 25 mars 2022]. p. 109-24.

Guttesen LL, Albert N, Nordentoft M, Hjorthøj C. Repetitive transcranial magnetic stimulation and transcranial direct current stimulation for auditory hallucinations in schizophrenia: Systematic review and meta-analysis. *J Psychiatr Res.* 2021;143:163-75.

Hany M, Rehman B, Azhar Y, Chapman J. Schizophrenia. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cité 28 mars 2022]. Disponible sur : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539864/>

HAS. ALD n° 23 – Schizophrénies. Haute Autorité de Santé. 2017 [cité 29 mai 2023]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_565630/fr/ald-n-23-schizophrenies](https://www.has-sante.fr/jcms/c_565630/fr/ald-n-23-schizophrenies).

Hashimoto T, Volk DW, Eggan SM, Mirnics K, Pierri JN, Sun Z, et al. Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2003;23(15):6315-26.

He J, Luo H, Yan B, Yu Y, Wang H, Wei Z, Zhang Y, Xu H, Tempier A, Li X, Li XM. Beneficial effects of quetiapine in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging.* 2009;30(8):1205-16.

Heckers S. Neuroimaging studies of the hippocampus in schizophrenia. *Hippocampus.* 2001;11(5):520-8.

Henriksen MG, Nordgaard J, Jansson LB. Genetics of Schizophrenia: Overview of Methods, Findings and Limitations. *Front Hum Neurosci.* 2017;11: 322.

Hikama K, Yamada H, Tsukamoto T, Kajitani K, Nakabeppu Y, Uchimura N. Chronic atypical antipsychotics, but not haloperidol, increase neurogenesis in the hippocampus of adult mouse. *Brain Res.* 2017;1676:77-82.

Hori H, Noguchi H, Hashimoto R, Nakabayashi T, Omori M, Takahashi S, et al. Antipsychotic medication and cognitive function in schizophrenia. *Schizophr Res.* 2006;86(1):138-46.

Hori H, Yoshimura R, Katsuki A, Atake K, Igata R, Konishi Y, et al. Blood Biomarkers Predict the Cognitive Effects of Aripiprazole in Patients with Acute Schizophrenia. *Int J Mol Sci.* 2017;18(3):568.

Howes OD, McCutcheon R, Owen MJ, Murray RM. The Role of Genes, Stress, and Dopamine in the Development of Schizophrenia. *Biol Psychiatry.* 2017;81(1):9-20.

Huang HS, Akbarian S. GAD1 mRNA expression and DNA methylation in prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. *PLoS One*. 2007;2(8):e809.

Inserm. Activité physique Prévention et traitement des maladies chroniques. Chapitre 5. 2019 [cité 29 mai 2023]. Disponible sur: [https://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/9690/Chapitre\\_5.html](https://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/9690/Chapitre_5.html).

Inserm. Épigénétique · Inserm, La science pour la santé. 2017 [cité 27 mai 2023]. Disponible sur : <https://www.inserm.fr/dossier/epigenetique/>

Inserm. Schizophrénie · Inserm, La science pour la santé. 2017 [cité 27 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/schizophrénie/>

Jaeschke RR, Sowa-Kućma M, Pańczyszyn-Trzewik P, Misztak P, Styczeń K, Datka W. Lurasidone: The 2016 update on the pharmacology, efficacy and safety profile. *Pharmacol Rep*. 2016;68(4):748-55.

Jauhar S, Johnstone M, McKenna PJ. Schizophrenia. *The Lancet*. 2022;399(10323):473-86.

Johnstone EveC, Frith CD, Crow TJ, Husband J, Kreef L. Cerebral ventricular size and cognitive impairment in chronic schizophrenia. *The Lancet*. 1976;308(7992):924-6.

Joyce EM, Roiser JP. Cognitive heterogeneity in schizophrenia. *Curr Opin Psychiatry*. 2007;20(3):268-72.

Kaar SJ, Angelescu I, Marques TR, Howes OD. Pre-frontal parvalbumin interneurons in schizophrenia: a meta-analysis of post-mortem studies. *J Neural Transm*. 2019;126(12):1637-51.

Kay SR, Fiszbein A, Opler LA. The Positive and Negative Syndrome Scale (PANSS) for Schizophrenia. *Schizophr Bull*. 1987;13(2):261-76.

Kikuchi T, Maeda K, Suzuki M, Hirose T, Futamura T, McQuade RD. Discovery research and development history of the dopamine D 2 receptor partial agonists, aripiprazole and brexpiprazole. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2021;41(2):134-43.

Kim GW, Kim YH, Jeong GW. Whole brain volume changes and its correlation with clinical symptom severity in patients with schizophrenia: A DARTEL-based VBM study. *PLoS ONE*. 2017;12(5):e0177251.



Kim YR, Kim HN, Hong KW, Shin HK, Choi BT. Antidepressant Effects of Aripiprazole Augmentation for Cilostazol-Treated Mice Exposed to Chronic Mild Stress after Ischemic Stroke. *Int J Mol Sci.* 2017 ;18(2):355.

Kirschbaum KM, Uhr M, Holthoewer D, Namendorf C, Pietrzik C, Hiemke C, et al. Pharmacokinetics of acute and sub-chronic aripiprazole in P-glycoprotein deficient mice. *Neuropharmacology.* 2010;59(6):474-9.

Klingerman CM, Stipanovic ME, Bader M, Lynch CJ. Second-generation antipsychotics cause a rapid switch to fat oxidation that is required for survival in C57BL/6J mice. *Schizophr Bull.* 2014;40(2):327-40.

Koenig, J. I., Kirkpatrick, B., & Lee, P. Glucocorticoid hormones and early brain development in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2002;27(2), 309–318

Konradi C, Heckers S. Molecular aspects of glutamate dysregulation: implications for schizophrenia and its treatment. *Pharmacol Ther.* 2003;97(2):153-79.

Kordi-Tamandani DM, Sahranavard R, Torkamanzahi A. Analysis of association between dopamine receptor genes' methylation and their expression profile with the risk of schizophrenia. *Psychiatr Genet.* 2013;23(5):183-7.

Krystal JH, D'Souza DC, Petrakis IL, Belger A, Berman RM, Charney DS, et al. NMDA Agonists and Antagonists as Probes of Glutamatergic Dysfunction and Pharmacotherapies in Neuropsychiatric Disorders. *Harv Rev Psychiatry.* 1999;7(3):125-43.

Kuruvilla A, Y. K. Fung YK, Uretsky NJ. Behavioral and biochemical changes caused by muscimol in mice withdrawn from haloperidol administration. *Neuropharmacology.* 1982; 21:891-897.

Larsson S, Andreassen OA, Aas M, Røssberg JI, Mork E, Steen NE, et al. High prevalence of childhood trauma in patients with schizophrenia spectrum and affective disorder. *Compr Psychiatry.* 2013;54(2):123-7.

Leite JV, Guimarães FS, Moreira FA. Aripiprazole, an atypical antipsychotic, prevents the motor hyperactivity induced by psychotomimetics and psychostimulants in mice. *Eur J Pharmacol.* 2008;578(2):222-7.

Lewis DA, Curley AA, Glausier JR, Volk DW. Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Trends Neurosci.* 2012;35(1):57-67.

Lewis DA, González-Burgos G. Neuroplasticity of Neocortical Circuits in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2008;33(1):141-65.

Lewis RE, Kuuz AL, Bell RE. Error of intraperitoneal injections in rats. *Laboratory Animal Care.* 1966; 16, 505-50.

Lisek M, Zylinska L, Boczek T. Ketamine and Calcium Signaling—A Crosstalk for Neuronal Physiology and Pathology. *Int J Mol Sci.* 2020;21(21):8410.

Luo G, Liu M, He J, Guo H, Xue M, Wang X, Li XM. Quetiapine attenuates recognition memory impairment and hippocampal oxidative stress in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroreport.* 2014;25(9):647-50.

Maeda K, Sugino H, Akazawa H, Amada N, Shimada J, Futamura T, et al. Brexpiprazole I: in vitro and in vivo characterization of a novel serotonin-dopamine activity modulator. *J Pharmacol Exp Ther.* 2014;350(3):589–604.

Manzanares G, Brito-da-Silva G, Gandra PG. Voluntary wheel running: patterns and physiological effects in mice. *Braz J Med Biol Res.* 2018;52(1):e7830.

Maurus I, Hasan A, Röh A, Takahashi S, Rauchmann B, Keeser D, et al. Neurobiological effects of aerobic exercise, with a focus on patients with schizophrenia. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2019;269(5):499-515.

McGrath JJ, Susser ES. New directions in the epidemiology of schizophrenia. *Med J Aust.* 2009;190(S4):S7-9.

Miyamoto S, Duncan GE, Mailman RB, Lieberman JA. Developing novel antipsychotic drugs: strategies and goals. *Curr Opin CPNS Invest Drugs.* 2000;2(1):25–39.

Morton DB, Jennings M, Buckwell A, Ewbank R, Godfrey C, Holgate B, et al. Refining procedures for the administration of substances. *Lab Anim.* 2001;35(1):1-41.

Nabeshima T, Mouri A, Murai R, Noda Y. Animal Model of Schizophrenia: Dysfunction of NMDA Receptor-Signaling in Mice following Withdrawal from Repeated Administration of Phencyclidine. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1086(1):160-8.

Nagai T, Murai R, Matsui K, Kamei H, Noda Y, Furukawa H, et al. Aripiprazole ameliorates phencyclidine-induced impairment of recognition memory through dopamine D1 and serotonin 5-HT1A receptors. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009;202(1):315-28.

Nair A, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm*. 2016;7(2):27.

Park SY, Kim HY, Lee YS, Heo HJ, Shin HK, Lee WS, et al. Augmented improvement of cognition and memory by aripiprazole add-on for cilostazol treatment in the chronic cerebral hypoperfusion mouse model. *Behav Brain Res*. 2019;365:133-40.

Powell SB, Zhou X, Geyer MA. Prepulse Inhibition and Genetic Mouse Models of Schizophrenia. *Behav Brain Res*. 2009;204(2):282-94.

Preda A, Shapiro BB. A safety evaluation of aripiprazole in the treatment of schizophrenia. *Expert Opin Drug Saf*. 2020;19(12):1529-38.

Rajagopal L, Ryan C, Elzokaky A, Burstein ES, Meltzer HY. Pimavanserin augments the efficacy of atypical antipsychotic drugs in a mouse model of treatment-refractory negative symptoms of schizophrenia. *Behav Brain Res*. 2022;422:113710.

Rapoport JL, Giedd JN, Gogtay N. Neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2012. *Mol Psychiatry*. 2012;17(12):1228-38.

Richetto J, Meyer U. Epigenetic Modifications in Schizophrenia and Related Disorders: Molecular Scars of Environmental Exposures and Source of Phenotypic Variability. *Biol Psychiatry*. 2021;89(3):215-26.

Rothman SM, Mattson MP. Activity-dependent, stress-responsive BDNF signaling and the quest for optimal brain health and resilience throughout the lifespan. *Neuroscience*. 2013;239:228-40.

Schwartz TL, Sachdeva S, Stahl SM. Glutamate Neurocircuitry: Theoretical Underpinnings in Schizophrenia. *Frontiers in Pharmacology*. 2012;3:195.

Sciortino D, Pigoni A, Delvecchio G, Maggioni E, Schiena G, Brambilla P. Role of rTMS in the treatment of cognitive impairments in Bipolar Disorder and Schizophrenia: a review of Randomized Controlled Trials. *J Affect Disord*. 2021;280:148-55.

Shimada T, Ito S, Makabe A, Yamanushi A, Takenaka A, Kawano K, Kobayashi M. Aerobic exercise and cognitive functioning in schizophrenia: An updated systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res.* 2022 ;314:114656

Since M, Freret T, Nee G, Terme T, Vanelle P, Boulouard M. New orally effective 3-(2-nitro)phenylpropanamide analgesic derivatives: Synthesis and antinociceptive evaluation. *Eur J Med Chem.* 2013;69:728-34.

Slifstein M, van de Giessen E, Van Snellenberg J, Thompson JL, Narendran R, Gil R, et al. Deficits in Prefrontal Cortical and Extrastriatal Dopamine Release in Schizophrenia: A Positron Emission Tomographic Functional Magnetic Resonance Imaging Study. *JAMA Psychiatry.* 2015;72(4):316.

Soares-Weiser K, Maayan N, Bergman H, Davenport C, Kirkham AJ, Grabowski S, et al. First rank symptoms for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;1(1):CD010653.

Stahl SM. Psychopharmacologie essentielle ; bases neuroscientifiques et applications pratiques (4e édition). Editeur: Medecine Sciences Publications. 2015

Stephan M, Schoeller J, Raabe FJ, Schmitt A, Hasan A, Falkai P, Jensen N, Rossner MJ. Spironolactone alleviates schizophrenia-related reversal learning in Tcf4 transgenic mice subjected to social defeat. *Schizophrenia (Heidelb).* 2022;8(1):77.

Steward JP, Ornellas EP, Beernink KD, Northway WH. Errors in the technique of intraperitoneal injection of mice. *Appl Microbiol.* 1968;16(9):1418–1419

Tharyan P, Adams CE. Electroconvulsive therapy for schizophrenia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005. [cité 8 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD000076.pub2/abstract.2005>

Thomas EA, Yao JK. Clozapine specifically alters the arachidonic acid pathway in mice lacking apolipoprotein D. *Schizophr Res.* 2007; 89(1-3):147-53.

US Department of Health and Human Services. Physical activity and health: a report of the Surgeon General. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human

Services, Public Health Service, CDC, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, 1996.

Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running Increases Cell Proliferation and Neurogenesis in the Adult Mouse Dentate Gyrus. *Nature Neuroscience*. 1999;2 (3): 266-70.

Vidal Recos. Recommandations Schizophrénie. [cité 27 mai 2023]. Modifié le 31 Janvier 2023. Disponible sur :  
<https://www.vidal.fr/maladies/recommandations/schizophrenie-1620.html>

Wang JS, Zhu HJ, Donovan JL, Yuan HJ, Markowitz JS, Geesey ME, et al. Aripiprazole brain concentration is altered in P-glycoprotein deficient mice. *Schizophr Res*. 2009;110(1):90-4.

Wang JH, Yang JZ, Wilson FA, Ma YY. Differently lasting effects of prenatal and postnatal chronic clozapine/haloperidol on activity and memory in mouse offspring. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;84(3):468-78.

Wesołowska A, Partyka A, Jastrzębska-Więsek M, Kolarz A, Mierzejewski P, Bieńkowski P, Kołaczkowski M. Tail suspension test does not detect antidepressant-like properties of atypical antipsychotics. *Behav Pharmacol*. 2011;22(1):7-13.

Wolfensohn S, Lloyd M. Handbook of laboratory Animal Management and Welfare. 4th edition. Willey-Blackwell. 2013

Yu Q, Wong KK, Lei OK, Nie J, Shi Q, Zou L, Kong Z. Comparative Effectiveness of Multiple Exercise Interventions in the Treatment of Mental Health Disorders: A Systematic Review and Network Meta-Analysis. *Sports Med Open*. 2022;8(1):135

Zhang L. Method for voluntary oral administration of drugs in mice. *STAR Protoc*. 2021;2(1):100330.

Zhang XY, Liang J, Chen DC, Xiu MH, De Yang F, Kosten TA, et al. Low BDNF is associated with cognitive impairment in chronic patients with schizophrenia. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012;222(2):277-84.



UNIVERSITÉ  
CAEN  
NORMANDIE

**U.F.R. Santé**

**Faculté des Sciences Pharmaceutiques**

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE LA FACULTE  
DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

## TITRE

# Validation de l'administration d'aripiprazole dans l'eau de boisson chez la souris dans un projet d'étude sur la schizophrénie en préclinique

---

## Résumé

La schizophrénie est une pathologie psychiatrique fréquente (touchant 1% de la population). Les troubles liés à la pathologie sont regroupés en 3 catégories : symptômes productifs, déficitaires et cognitifs. Actuellement seuls les symptômes positifs sont pris en charge par les antipsychotiques. Dans un contexte large, le but de notre étude est d'associer l'aripiprazole à de l'activité physique dans un modèle murin de schizophrénie dans l'amélioration de la prise en charge des symptômes déficitaires et des atteintes cognitives. Pour se faire, la première étape a été de mettre en place une méthode d'administration de l'aripiprazole dans l'eau de boisson, une étude pharmacocinétique de de l'antipsychotique chez la souris C57Bl/6, une mesure des concentrations résiduelles du médicament après une prise par eau de boisson pendant 9 jours et le choix de la dose de l'aripiprazole à utiliser pour la suite de notre expérience. Les dosages de la solution et des concentrations résiduelles ont été mesurés par chromatographie liquide lié à un spectromètre de masse en tandem (LC/MS/MS). Trois doses d'aripiprazole ont été testés : 0.1, 1 et 10mg/kg chez nos souris avec une approche comportementale associée à la mesure de l'activité locomotrice corrélant les performances d'activité aux concentrations d'aripiprazole utilisées.

Nous avons validé les conditions d'une nouvelle méthode de solubilisation de l'aripiprazole. La dose de 10mg/kg de l'antipsychotique présente des concentrations résiduelles significatives et interprétables par LC/MS/MS ainsi qu'une absence d'effet hypo locomoteur important associé à cette dose.

## **TITLE**

PHARMACOKINETIC OF ARIPIPAZOLE ADMINISTRATION THROUGH DRINKING WATER IN A RODENT MODEL OF SCHIZOPHRENIA : RESULTS FROM A PRECLINICAL STUDY

---

## **Summary**

Schizophrenia is a chronic mental illness, with a prevalence of about 1%. The symptoms of this illness are classified in three categories: positive symptoms, negative symptoms and alteration in cognitive function. Concerning pharmacologic treatment of this pathology, current antipsychotics ameliorate mainly positive symptoms. In a largest context, our main study is to associate aripiprazole with physical activity in a rodent model of schizophrenia and evaluate the amelioration of cognitive deficit and negative symptoms. Our first step has been to validate the administration of aripiprazole by drinking water, to calculate the pharmacokinetic parameters of the antipsychotic in C57Bl/6 mice, to determinate the residual concentration of aripiprazole after a chronic administration by water bottle and to choose the adequate dose of the antipsychotic. The quantification of aripiprazole in blood and in our solution was determinate by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Three doses of aripiprazole were tested: 0.1, 1 and 10 mg/kg with for each dose the control of the spontaneous locomotor activity. We validate our method of aripiprazole solubilization. The 10mg/kg dose of aripiprazole present coherent residual concentration and no strong effect of the spontaneous activity of mice.

---

## **Mots-clés**

Schizophrénie, aripiprazole, pharmacocinétique, souris C57Bl/6.

---