

Le rôle central de l'acétylcholinesterase dans la neurotransmission est connue depuis plus d'un siècle. Les inhibiteurs des cholinestérases sont utilisés comme traitement dans de nombreuses pathologies mais également utilisés comme arme chimique (gaz sarin) et pesticides. De façon assez surprenante, les inhibiteurs réversibles utilisés comme traitement sont des réponses prophylactiques à la toxicité des inhibiteurs irréversibles utilisés comme poisons [7].

L'acétylcholinestérase est la seule enzyme régulant la neurotransmission chez les vertébrés dans les voies cholinergiques (utilisant l'acétylcholine comme neuromédiateur). Ces voies sont retrouvées dans le cerveau, l'activation musculaire ainsi que le système nerveux autonome. L'acétylcholinestérase dégrade l'acétylcholine dans les millisecondes après son exocytose. Cela permet de mettre rapidement fin au signal. C'est une enzyme qui est dite "parfaite" car sa vitesse catalytique est proche de la limite de la vitesse de diffusion. Dans le système périphérique, les motoneurones cholinergiques relarguent de l'acétylcholine pour activer les muscles et permettent le déplacement et motricité fine. Les neurones du système nerveux parasympathique stimulent la contraction des muscles lisses (péristaltisme, contraction vessie, sécrétion des glandes salivaires, ralentissement des battements cardiaque au noeud sinoatrial). Dans le système nerveux central, six noyaux cholinergiques (notés Ch1-Ch6) peuvent être identifiés qui touchent des fonctions comme la cognition, la mémoire, la respiration, la locomotion par exemple. L'inhibition de l'acétylcholinestérase prolonge la demi-vie de l'acétylcholine et donc le signal cholinergique. Cela entraîne des tetanies musculaires (immobilisation, vomissement, diarrhées, incontinence, suffocation) et des augmentations des sécrétions périphériques (salive) [7].

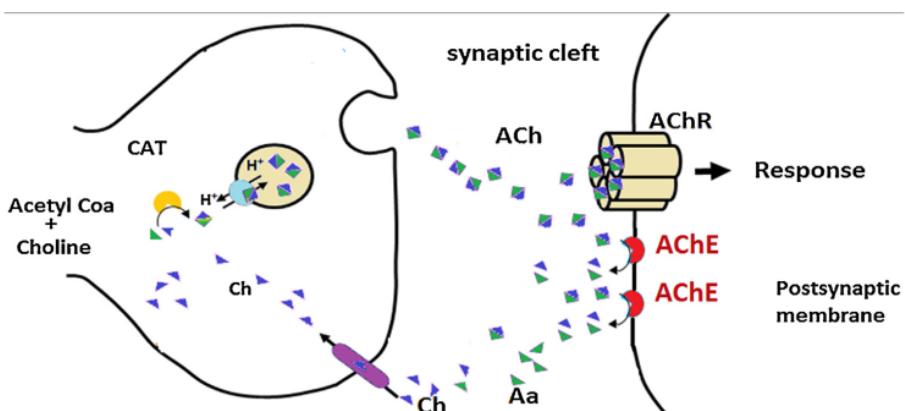


Fig. 5. Acetylcholinesterase function in the synapse. The neurotransmitter acetylcholine (ACh) is released from the presynaptic neurons, interacts with the receptor (AChR) in the post-synaptic membrane and is hydrolyzed by acetylcholinesterase (AChE), releasing acetic acid (Aa) and choline (Ch) that is recovered by the presynaptic cell for resynthesis.

FIGURE 1.1 – Rôle de l'acétylcholinestérase dans les synapses cholinergiques [4]

Partie 1 : Inhibiteurs réversibles des Acétylcholinesterases : des remèdes pour les maladies neurodégénératives

L'inhibition de l'AChE dans le cerveau est utilisé en traitement précoce de la maladie d'Alzheimer dans l'objectif de stimuler les fonctions cognitives en prolongeant le signal cholinergique. Dans cette pathologie, une forte perte de neurones cholinergiques est observée dans le noyau CH4 ainsi qu'une réduction des markers cholinergiques dans le cortex frontal. Ces observations ont aboutit à l'hypothèse d'une démence cholinergique et l'analyse des effets bénéfiques des inhibiteurs de l'AChE. De nombreux inhibiteurs naturels et synthétiques ont depuis été testés et utilisés dans le traitement de cette maladie. Les traitements actuels ont un effet mineur mais les recherches continuent afin de trouver des inhibiteurs plus efficaces mais aussi pour étendre ces traitements à d'autres maladies neurodégénératives. Dans cette partie, nous allons analyser les modes d'inhibitions réversibles de potentiels molécules utilisables dans le traitement des maladies neurodégénératives [7].

FIGURE 1.2 – traitements anti-Alzeimer [2]

	Donepezil	Galantamine	Rivastigmine	Tacrine
Structure				
Chemical class [29]	Piperidine	Phenanthrene alkaloid	Carbamate	Acridinamide
Target enzymes	AChE	AChE	AChE and BuChE	AChE and BuChE
Inhibition of target enzymes [29]	Non-competitive Rapidly-reversible (<1 ms)	Competitive Rapidly-reversible (<1 ms)	Non-competitive Very slowly reversible (~6–8 h)	Non-competitive Rapidly-reversible
Metabolism [30]	CYP2D6 and 3A4	CYP2D6 and 3A4	AChE and BuChE	CYP1A2
Recommended dose	10 mg/day (once daily)	24 mg/day (twice daily)	9.5 mg/24 h patch (once daily) 12 mg/day (twice daily)	160 mg/day (four times daily)
Available formulations	Tablets	Tablets Oral solution Once-daily controlled release	Transdermal patch Capsules Oral solution	Capsules
Plasma half-life [29, 31]	~ 70 hours	~ 7 hours	~ 3 hours (patch) ~ 1 hour (capsule)	—

Question 1 Analyse biochimique

Des mesures d'inhibition ont été réalisés sur quatre molécules :

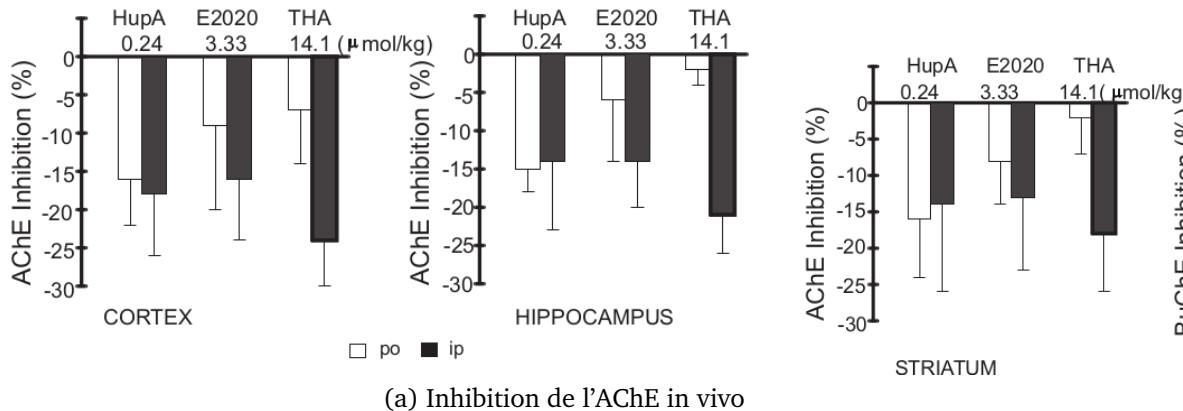
- deux molécules utilisées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer en europe (la galantamine [6] et le donepezile [1])
- l'Huperzine A (extrait de *Huperzia serrata*) utilisé en chine pour le traitement d'alzheimer et les pathologies de perte de mémoire bénignes. Elle est vendue en compléments alimentaires pour la mémoire [8].
- une extraction de *Tabernaemontana catharinensis*,une plante originaire d'Amérique du sud utilisée traditionnellement pour traiter les inflammations de la peau [6].

Les résultats de ces études sont consignées dans le tableau. Traitez ces données afin d'obtenir les mécanismes et les constantes cinétiques. Expliquez comment chaque inhibiteur va agir sur la concentration en acétylcholine active.

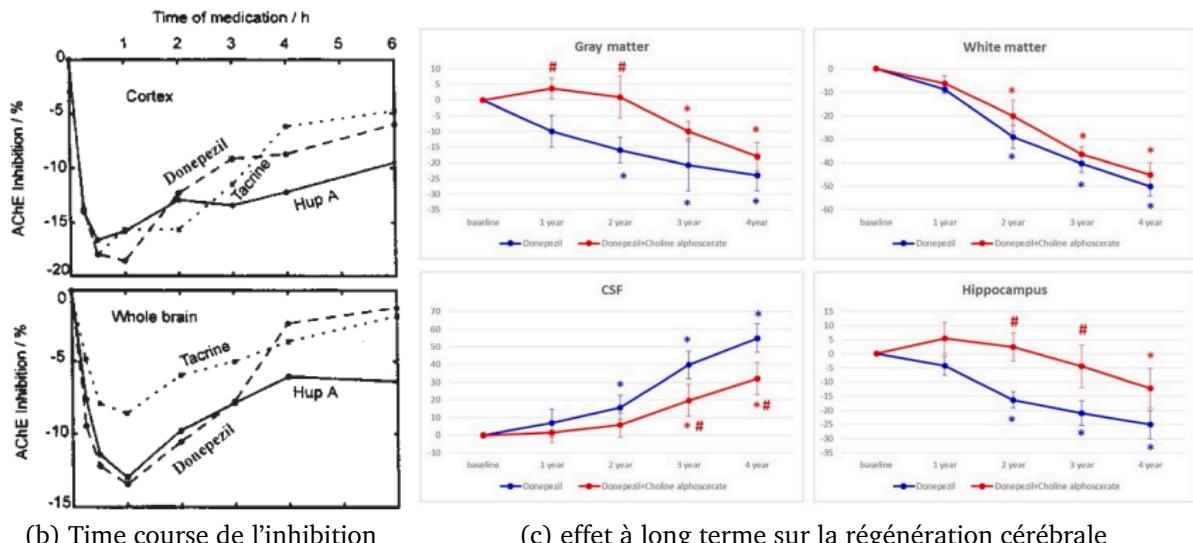
Concentration en huperzine A (nmol/L)	1/V ₀ (mn.L.mol)	1/(ATCI-substrat) en L/mmol				
		5,00	10,00	20,00	30,00	40,00
0	exp1	3,200	3,800	5,000	6,500	8,000
	exp2	3,368	4,000	5,263	6,842	8,421
	exp3	3,048	3,619	4,762	6,190	7,619
25,8	exp1	4,600	6,000	8,400	11,400	14,300
	exp2	4,842	6,316	8,842	12,000	15,053
	exp3	4,381	5,714	8,000	10,857	13,619
51,6	exp1	6,00	8,00	12,00	16,40	20,40
	exp2	6,32	8,42	12,63	17,26	21,47
	exp3	5,71	7,62	11,43	15,62	19,43
Concentration en galantamine (umol/L)	1/V ₀ (mn.L.mol)	1/(ATCI-substrat) en L/mmol				
		0,15	0,30	0,50	1,10	2,00
0	exp1	10,60	11,40	12,60	14,70	18,00
	exp2	11,16	12,00	13,26	15,47	18,95
	exp3	10,10	10,86	12,00	14,00	17,14
0,7	exp1	20,00	28,000	45,000	85,000	140,000
	exp2	21,05	29,47	47,37	89,47	147,37
	exp3	19,05	26,67	42,86	80,95	133,33
3,5	exp1	40,00	120,00	202,00	400,00	700,00
	exp2	42,11	126,32	212,63	421,05	736,84
	exp3	38,10	114,29	192,38	380,95	666,67
Concentration en donepezil (nmol/L)	1/V ₀ (mn.Delta(A))	1/(ATCI-substrat) en L/mmol				
		4,5	9,7	19,6	49,8	99,5
0	exp1	10,65	12,44	15,60	26,00	41,00
	exp2	11,21	13,09	16,42	27,37	43,16
	exp3	10,14	11,85	14,86	24,76	39,05
5	exp1	28,80	34,60	45,28	80,00	130,60
	exp2	30,32	36,42	47,66	84,21	137,47
	exp3	27,43	32,95	43,12	76,19	124,38
10	exp1	36,30	45,60	61,22	104,30	177,60
	exp2	38,21	48,00	64,44	109,79	186,95
	exp3	34,57	43,43	58,30	99,33	169,14
Concentration en fraction e (umol/L)	1/V ₀ (mn.L.mol)	1/(ATCI-substrat) en L/mmol				
		4,160	5,000	6,000	8,300	12,500
0	exp1	1,81	2,33	2,55	3,48	4,97
	exp2	1,90	2,45	2,68	3,67	5,23
	exp3	1,72	2,22	2,43	3,32	4,73
5	exp1	3,19	3,70	4,04	4,90	6,52
	exp2	3,35	3,89	4,25	5,16	6,86
	exp3	3,03	3,52	3,84	4,67	6,21
10	exp1	5,86	6,19	6,70	7,50	9,06
	exp2	6,17	6,51	7,05	7,89	9,54
	exp3	5,58	5,89	6,38	7,14	8,63

Question 2 Analyse des effets cliniques

Des analyses d'effet des inhibiteurs réversibles sur le cerveau de rat ont été réalisés. Analyser les résultats obtenus.



(a) Inhibition de l'AChE in vivo



(b) Time course de l'inhibition

(c) effet à long terme sur la régénération cérébrale

FIGURE 1.3 – Effets des inhibiteurs de l'acétylcholinesterase *in vivo*. (a) Comparative effects of HupA, donepezil (E2020), and tacrine (THA) on cholinesterase inhibition in rats. Values are expressed as percent inhibition (vs. saline control) \pm S.D. n = 4–12 (b) Time course of ChE inhibition following oral administration of HupA (1.5 μ mol/kg), donepezil (16 μ mol/kg), and THA (120 μ mol/kg) in rats. Values were expressed as percent inhibition vs. saline control. n = 4–6. [8] (c) Changes in the percentage of gray and white matter, cerebrospinal fluid (CSF) and hippocampus volumes in the two groups of patients treated with donepezil (10 mg/day) plus placebo or with donepezil + choline alfoscerate (1200 mg/day) over the four years of observation. The data are means of the percentage variation \pm S.E.M. *p < 0.05 versus baseline; p < 0.05 versus donepezil and placebo.[5]