

ÉTUDE DE CAS

1

ÉTUDE DE CAS NUMÉRO 3 : INHIBITEURS DES ACÉTYLCHOLINESTÉRASES, ENTRE PESTICIDES ET MÉDICAMENTS

Consignes à lire avant de commencer

Préparation en amont de la séance :

En amont de la séance, vous devez travailler (2h) :

- **le chapitre 4 d'enzymologie** : de la partie IV. Vous avez une version rédigée mais aussi la présentation vidéo à disposition.
- **Les exercices de préparation** très courts intercalés dans le chapitre 4
- **Les consignes du deuxième TD d'enzymologie** : Afin de comprendre comment traiter les documents fournis ainsi que la rédaction attendue.
- **Une revue** pour présenter le thème de l'atelier

Objectifs d'apprentissage :

A l'issue de cette séance, les étudiants seront capables d'analyser des résultats de cinétique enzymatique en présence d'inhibiteur (1S, 1P)

Organisation de la séance :

Cette étude de cas est faite pour vous mettre en difficulté de prime abord. Vous allez travailler en équipe de 6 maximum afin de résoudre l'ensemble de données. Vous vous installez sur un îlot de travail. Vous avez à votre disposition des marqueurs, des feuilles véléda et de la patafix pour écrire au mur sur des « tableaux ». Vous pouvez utiliser des ordinateurs des tablettes MAIS vous ne pouvez pas utiliser l'IA. Elle ne vous permettra pas de réussir ce type de travail ni d'atteindre les objectifs d'apprentissage.

Vous **devez** échanger au sein d'une équipe mais entre membres de l'équipe pour réussir ce travail et vous équiper de :

- calculatrice
- papier millimétré, crayon gris et règle
- papier brouillon
- un support propre pour le rendu final

Accompagnement de la séance :

Au cours de la séance pour passer d'une sous partie à l'autre, vous devrez **aller voir l'enseignant pour valider votre travail**.

Vous devez également remplir un **questionnaire d'autoévaluation avant la séance (une fois que vous avez lu le cours) et après la séance** afin que je puisse adapter la séance de retour en classe entière.

A la fin de la séance, vous déposerez le fruit de votre travail en équipe en indiquant bien sur les parties individuelles qui a fait quoi dans l'espace moodle dédié. Ce document doit contenir le résultat correctement rédigé final de votre travail mais aussi vos difficultés et comment vous les avez résolues (voir la box Help).

HELP : QUE FAIRE ?

Vous ne pouvez pas m'interroger à chaque difficulté, vous allez suivre un parcours et remplir le document de type "Help" pour cela. Voici l'ordre du travail à réaliser quand vous ne voyez pas comment répondre à la question :

1. Reprendre la partie de cours correspondante et noter les informations
2. Aller voir dans l'énoncé de TD d'enzymologie correspondant afin de comprendre comment traiter les données et noter les informations
3. Échangez avec vos co-équipiers : notez les idées des autres
4. Échangez avec une autre équipe : notez les propositions de l'autre équipe

Vous serez autorisés à venir me demander quand vous aurez réalisé et noté toutes ces étapes.

WHOLE BIBLIOGRAPHY

- [1] Rosanna CALIANDRO et al. "Kinetic and structural studies on the interactions of *Torpedo californica* acetylcholinesterase with two donepezil-like rigid analogues". In : *J Enzyme Inhib Med Chem* 33.1 (déc. 2018), p. 794-803.
- [2] T. DARREH-SHORI et H. SOININEN. "Effects of Cholinesterase Inhibitors on the Activities and Protein Levels of Cholinesterases in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Alzheimers Disease : A Review of Recent Clinical Studies". In : *CAR* 7.1 (1^{er} fév. 2010), p. 67-73. (Visité le 09/11/2025).
- [3] Dietrich E LORKE et al. "Combined Pre- and Posttreatment of Paraoxon Exposure". In : *Molecules* 25.7 (27 mars 2020), p. 1521. (Visité le 09/11/2025).
- [4] Iris MANGAS et al. "New insights on molecular interactions of organophosphorus pesticides with esterases". In : *Toxicology* 376 (fév. 2017), p. 30-43. (Visité le 09/11/2025).
- [5] Gabriella MARUCCI et al. "Efficacy of acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease". In : *Neuropharmacology* 190 (juin 2021), p. 108352. (Visité le 09/11/2025).
- [6] Carla NICOLA et al. "Chemical constituents antioxidant and anticholinesterasic activity of *Tabernaemontana catharinensis*". In : *ScientificWorldJournal* 2013 (2013), p. 519858.
- [7] Carey N. POPE et Stephen BRIMIJORN. "Cholinesterases and the fine line between poison and remedy". In : *Biochemical Pharmacology* 153 (juill. 2018), p. 205-216. (Visité le 09/11/2025).
- [8] Xi Can TANG et Yi Fan HAN. "Pharmacological Profile of Huperzine A, a Novel Acetylcholinesterase Inhibitor from Chinese Herb". In : *CNS Drug Reviews* 5.3 (sept. 1999), p. 281-300. (Visité le 09/11/2025).

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].

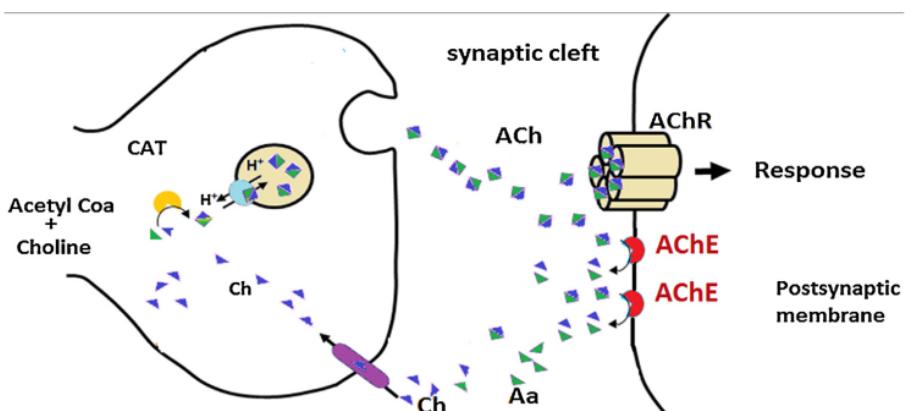


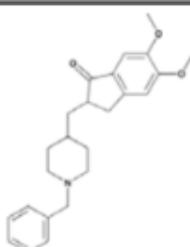
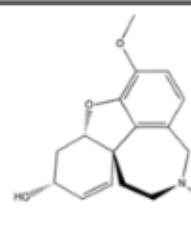
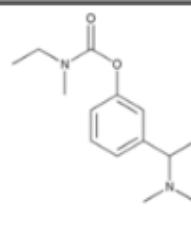
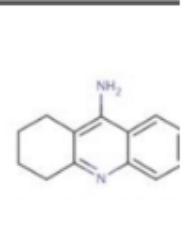
Fig. 5. Acetylcholinesterase function in the synapse. The neurotransmitter acetylcholine (ACh) is released from the presynaptic neurons, interacts with the receptor (AChR) in the post-synaptic membrane and is hydrolyzed by acetylcholinesterase (AChE), releasing acetic acid (Aa) and choline (Ch) that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

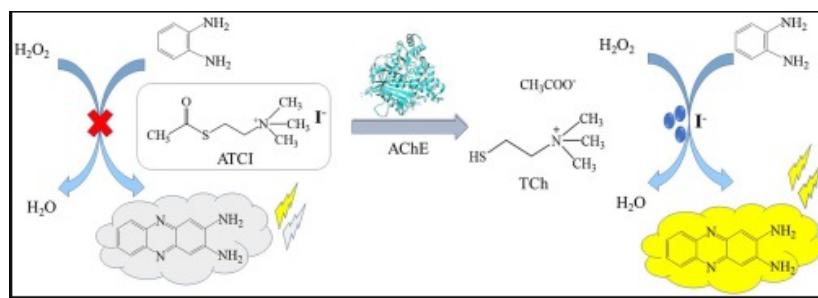
Des mesures d'inhibition ont été réalisés sur quatre molécules :

- 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

L'effet des inhibiteurs est testé sur une réaction in vitro de transformation de l'ATCI qui permet de fabriquer des intermédiaires colorés :



L'enzyme AChE étant supposée Mickaëlienne les résultats sont traités par la méthode des double inverse.

A. Mécanisme d'action des inhibiteurs.

A partir des données expérimentales proposées, pour chaque condition une moyenne des inverse de vitesse initiale est calculée ainsi que l'écart-type pour chaque point. Les données sont présentées dans la figure ???. Pour l'ensemble des inhibiteurs, le modèle en double inverse est bien une droite ($r^2 > 0,95$) donc l'enzyme est bien Mickaëlienne dans toutes les conditions testées.

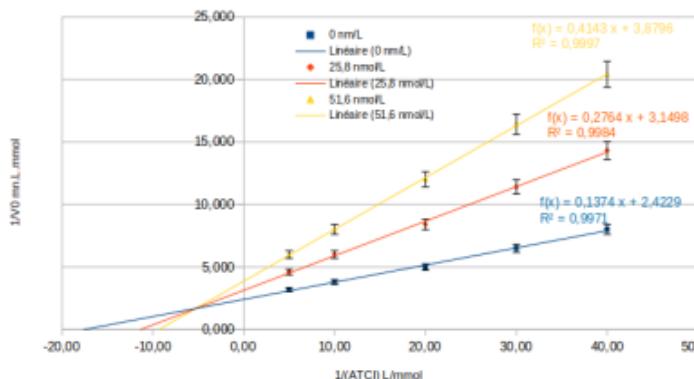
Exemple de calcul d'équation de droite pour l'huperzine A - sans inhibiteur :

$$a = \frac{y_B - y_A}{x_B - x_A} = \frac{8 - 3,2}{40 - 5} = 0,137$$

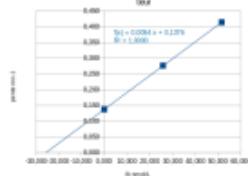
$$b = y_B - a * x_B = 8 - 40 * 0,137 = 2,5$$

A

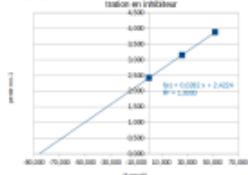
Étude cinétique de l'AChE sur le substrat ATCI en présence ou non d'huperzine A



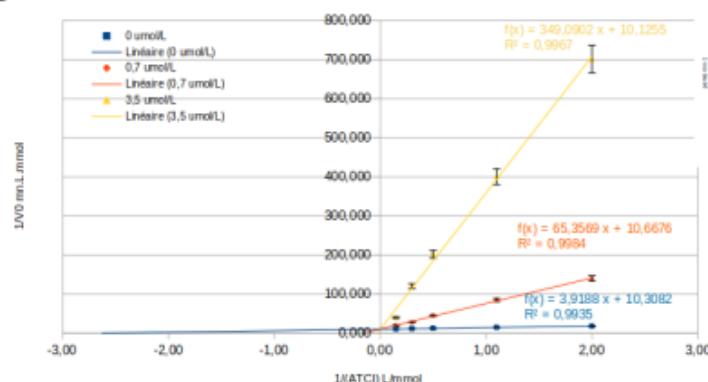
Graphique secondaire pente en fonction de la concentration en inhibiteur



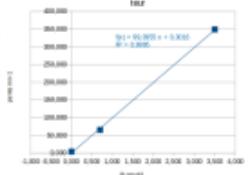
Graphique secondaire ordonnée à l'origine en fonction de la concentration en inhibiteur

**B**

Étude cinétique de l'AChE sur le substrat ATCI en présence ou non de galantamine



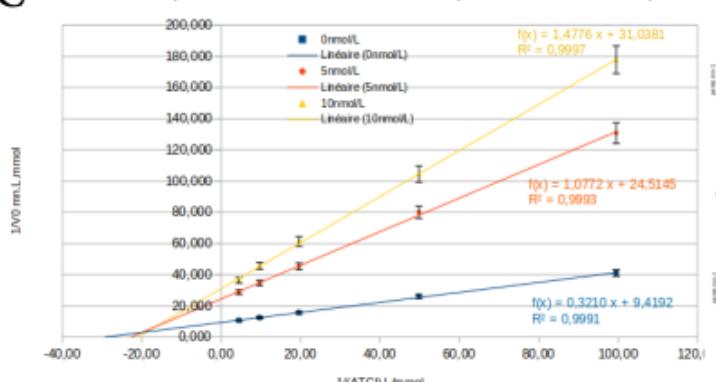
Graphique secondaire pente en fonction de la concentration en inhibiteur



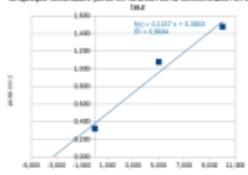
Graphique secondaire ordonnée à l'origine en fonction de la concentration en inhibiteur

**C**

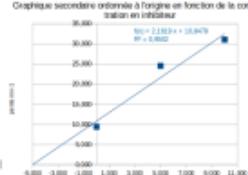
Étude cinétique de l'AChE sur le substrat ATCI en présence ou non de Donepezil



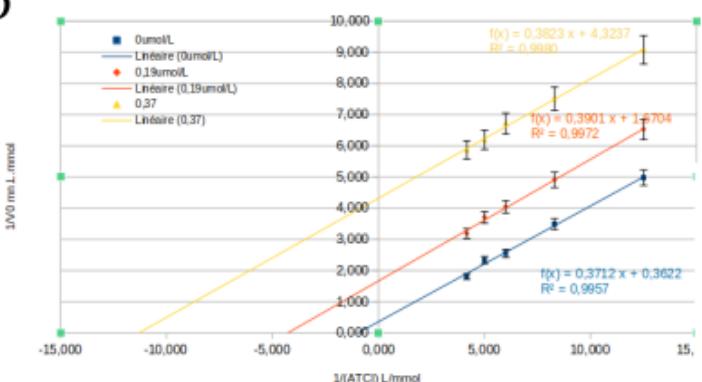
Graphique secondaire pente en fonction de la concentration en inhibiteur



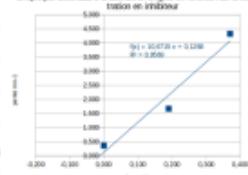
Graphique secondaire ordonnée à l'origine en fonction de la concentration en inhibiteur

**D**

Étude cinétique de l'AChE sur le substrat ATCI en présence ou non de fraction e



Graphique secondaire pente en fonction de la concentration en inhibiteur



Graphique secondaire ordonnée à l'origine en fonction de la concentration en inhibiteur

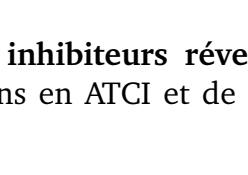


FIGURE 1.3 – Analyse cinétique de l'AChE en présence de 4 inhibiteurs réversibles. Les réactions ont été réalisées en présence de différentes concentrations en ATCI et de quatre inhibiteurs (A-Huperzine A ; B Galantamine ; C Donepezil ; D fraction e)

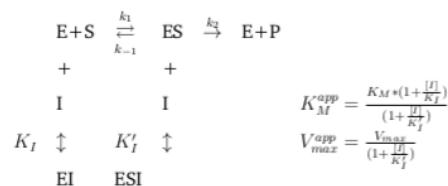
Dans le cas de l'huperzine A, l'inhibiteur diminue le V_{max} et augmente le K_M , les droites ne se croisent ni sur l'axe des ordonnées ni sur l'axe des abscisses. L'huperzine A est donc un inhibiteur mixte de l'AChE.

Dans le cas du galantamine, l'inhibiteur ne modifie pas le V_{max} et augmente le K_M , les droites ne se croisent sur l'axe des ordonnées. Le galantamine est donc un inhibiteur compétitif de l'AChE.

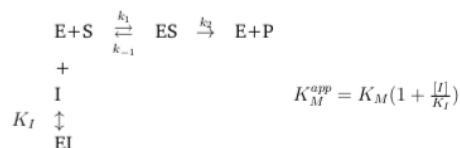
Dans le cas du donopezil, l'inhibiteur diminue le V_{max} mais ne change pas le K_M , les droites se croisent sur l'axe des abscisses. Le donopezil est donc un inhibiteur mixte non compétitif de l'AChE.

Dans le cas de la fraction e, l'inhibiteur diminue le V_{max} et le K_M , les droites sont parallèles. La fraction e est donc un inhibiteur uncompétitif de l'AChE.

A. Inhibiteur mixte



B. Inhibiteur compétitif



C. Inhibiteur uncompétitif

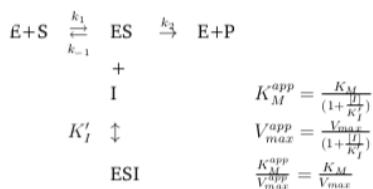


FIGURE 1.4 – Mécanismes des 4 inhibiteurs réversibles. A-Huperzine ($K_I > K'_I$) et donopezil ($K_I = K'_I$) ; B Galantamine ; C fraction e

B. Obtention des constantes cinétiques

Les constantes d'inhibitions sont obtenues en réalisant des graphiques secondaires à partir des trois types de graphiques primaires.

GALANTAMINE, COMPÉTITIF

L'équation de chaque droite du graphique primaire est la suivante :

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_M app}{V_{max}} * \frac{1}{S_0}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_M(1+\frac{I_0}{K_I})}{V_{max}} * \frac{1}{S_0}$$

La pente de chaque droite dépend donc de la constante d'inhibition et de la concentration en inhibiteur :

$$a(primaire) = \frac{K_M(1+\frac{I_0}{K_I})}{V_{max}}$$

donc :

$$a(primaire) = \frac{K_M}{V_{max}} + \frac{K_M}{V_{max}*K_I} * I_0$$

En traçant $a(primaire) = f(I_0)$, une droite est obtenue de pente $\frac{K_M}{V_{max}*K_I}$ et d'ordonnée à l'origine $\frac{K_M}{V_{max}}$. A l'intersection avec l'axe des abscisses, le point particulier $-K_I$ est trouvé :

$$y = 0 \text{ donc } \frac{K_M}{V_{max}} + \frac{K_M}{V_{max}*K_I} * I_0 = 0$$

$$\text{donc } 1 + \frac{1}{K_I} * I_0 = 0$$

$$\text{donc } I_0 = -K_I$$

Le graphique secondaire obtenu est bien une droite dont le point d'intersection avec l'axe des abscisses lu est supérieur à -0,1 nM donc $K_I < 0,1 nM$.

L'équation de cette droite est :

$$y = 99,3955x + 0,3016 \text{ donc pour } y = 0, x = \frac{-0,3016}{99,39}$$

$$\text{donc } K_I = \frac{0,3016}{99,39} \text{ donc } K_I = 0,003 nM.$$

EXTRAIT E, UNCOMPÉTITIF

L'équation de chaque droite du graphique primaire est la suivante :

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{max}^{app}} + \frac{K_M}{V_{max}} * \frac{1}{S_0}$$

donc

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{\frac{V_{max}}{1+\frac{I_0}{K'_I}}} + \frac{K_M}{V_{max}} * \frac{1}{S_0}$$

L'ordonnée à l'origine dépend donc de la concentration en inhibiteur et de la constante d'équilibre K'_I :

$$b(primaire) = \frac{1}{\frac{V_{max}}{1+\frac{I_0}{K'_I}}}$$

$$\text{donc : } b(primaire) = \frac{1+\frac{I_0}{K'_I}}{V_{max}}$$

$$\text{donc } b(primaire) = \frac{1}{V_{max}} + \frac{1}{K'_I * V_{max}} * I_0$$

Le graphique $b(primaire) = f(I_0)$ est donc une droite de pente $\frac{1}{K'_I * V_{max}}$ et d'ordonnée à l'origine $\frac{1}{V_{max}}$. Au point d'intersection avec l'axe des abscisses, le point particulier $-K'_I$ est trouvé :

$$\text{Pour } y = 0, \frac{1}{V_{max}} + \frac{1}{K'_I * V_{max}} * I_0 = 0 \text{ donc } 1 + \frac{1}{K'_I} * I_0 = 0 \text{ donc } I_0 = -K'_I.$$

Le graphique secondaire obtenu est bien une droite dont le point d'intersection avec l'axe des abscisses lu est -3500 nM donc $K'_I = 3500 nM$. L'équation de cette droite est : $y = 10,672x + 0,127$ donc pour $y = 0, x = \frac{-0,127}{10,672}$ donc $K'_I = \frac{0,127}{10,672}$ donc $K'_I = 0,012 nM$.

DONOPEZIL ET HUPERZINE, MIXTE

L'équation de chaque droite du graphique primaire est la suivante :

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{max}^{app}} + \frac{K_M^{app}}{V_{max}^{app}} * \frac{1}{S_0}$$

$K_M \frac{(1+\frac{I_0}{K_I})}{1+\frac{I_0}{K'_I}}$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{\frac{V_{max}}{1+\frac{I_0}{K'_I}}} + \frac{\frac{K_M^{app}}{V_{max}^{app}} * \frac{1}{S_0}}{1+\frac{I_0}{K'_I}}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{1+\frac{I_0}{K'_I}}{V_{max}} * \frac{1}{S_0}$$

Nous avons donc à la fois la pente et l'ordonnée à l'origine qui dépendent de la concentration en inhibiteur et respectivement de K_I et K'_I . Les démonstrations et les points particuliers sont exactement identiques aux démonstrations précédentes. Je ne les remet donc pas.

Les graphiques obtenus pour l'huperzine et la galantamine C sont des droites et comme précédemment, les constantes d'inhibition sont déterminées :

— Huperzine A : $K_I = 25,6 nM$ et $K'_I = 85,8 nM$

— Donopezil : $K_I = 3,28 nM$ et $K'_I = 5 nM$

En conclusion, les 4 inhibiteurs suivent un mécanisme différent (tableau ci-dessous).

TABLE 1.1 – Modalités d’actions de trois inhibiteurs de C1s en présence de C4

Inhibiteur	Mécanisme	K_I nM	K'_I nM
Galantamine	Compétitif	0,003	
fraction e	Incompétitif		0,034
Huperzine A	Mixte	25,6	85,8
Donopezile	Mixte non compétitif	3,28	5

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.

Afin de mesurer l’inhibition de l’AChE In vivo, des injections ou des administrations orales d’huperzine A, de donopezile et de tacrine ont été réalisés chez des rats.

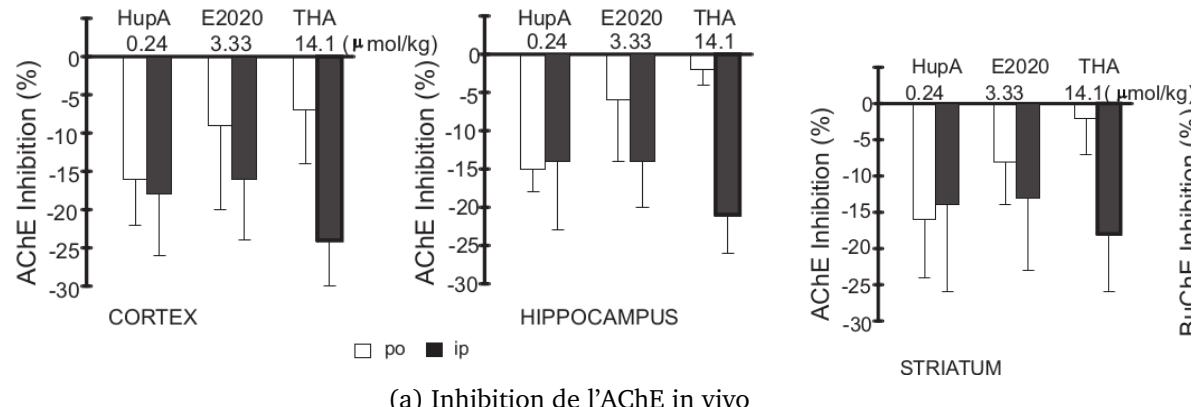
En administration orale l’huperzine A inhibe de 15 % l’activité dans le cortex, l’hippocampe et le striatum alors que dans les mêmes conditions le donopezil et la tacrine inhibent jusque 3 à 10 fois moins respectivement. En injection, l’effet de l’huperzine A est équivalente aux inhibitions lors de l’administration orale par contre, les effets des autres composés sont augmentés d’un facteur 3 à plus de 10 pour le donopezil et la tacrine respectivement. En injection, l’inhibiteur le plus efficace dans les trois régions cérébrales analysées est la tacrine (jusque 25 % contre 15-20 % pour les deux autres). Néanmoins, il est intéressant de noter que ces effets nécessitent une concentration presque 100 fois supérieure de tacrine que d’huperzine A.

Après administration orale, les cinétiques d’ihnibition de l’ACHE in vivo permettent de suivre l’effet pharmacologique des composés. La concentration en tacrine utilisée est encore 100 fois supérieur à celle en huperzine A et celle en donopezil 10 fois supérieurs. Les trois composés semblent avoir un effet inhibiteur maximal une heure après l’administration oral. L’effet de l’huperzine et du donopezil est deux fois supérieur à la Tacrine. L’effet de l’huperzine A se maintient dans le temps 5 fois plus que les deux autres au bout de 4h.

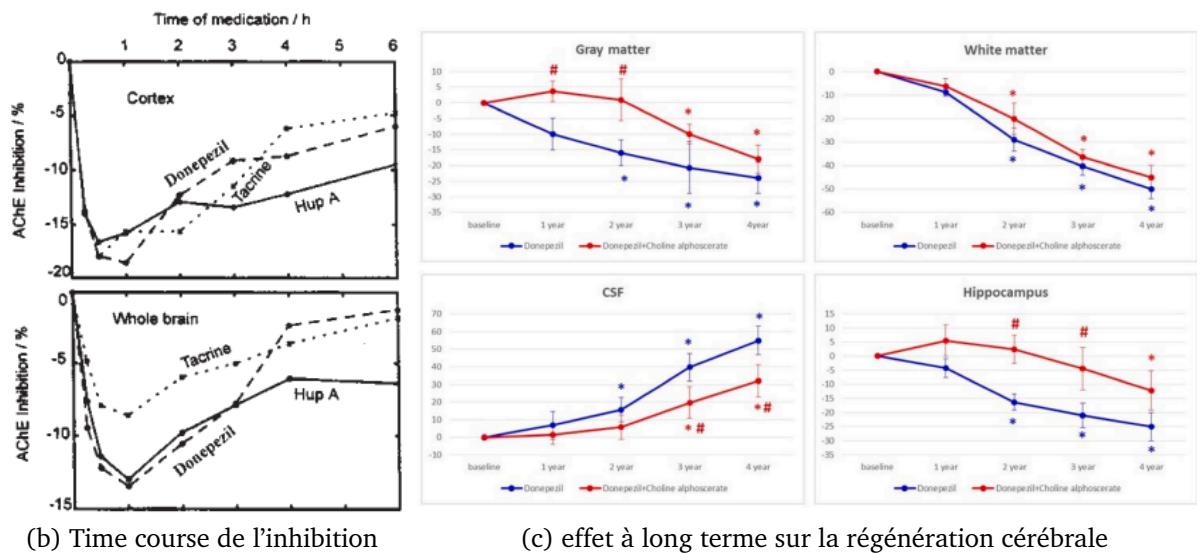
Finalement, l’effet inhibiteur sur l’AChE est bien retrouver in vivo avec une efficacité différente selon la voie d’administration : le donopezil et la tacrine semblent mal diffuser lors d’administration orale. De plus, les doses nécessaires sont respectivement 10 fois et 100 fois plus fortes pour obtenir un effet que pour l’Huperzine A.

Afin de déterminer si les traitements permettent la survie de plus de matière cérébrale chez les patients atteints d’AD, un suivi de patients traités uniquement avec le Donopezil (traitement classique) ou avec le donopezil + la choline alphoscerate (un précurseur cholinergique).

D’une façon générale, tous les patients expérimentent une diminution des matières grises et blanches ainsi que du volume de l’hippocampe au cours des 4 années de l’ordre respectivement de 30 % 50 % et 30 %. Au contraire, le volume de fluide cérébrospinal augmente de 30 à 50%. L’ajout d’un précurseur de l’acétylcholine permet de ralentir la perte de volume de la matières grise de façon significative pendant 3 ans avec un maintien voire une amélioration pendant 2 ans. Un effet équivalent est observé sur l’hyppocampe avec un effet observé sur 4 ans. Néanmoins, les courbes semblent tendre vers un volume final commun. En ce qui concerne la matière blanche, aucune différence significative n’est observée. Le volume du CSF augmente moins en présence du double traitement mais les différences ne semblent significatives qu’à partir de 3 ans de traitement.



(a) Inhibition de l'AChE in vivo



(b) Time course de l'inhibition

(c) effet à long terme sur la régénération cérébrale

FIGURE 1.5 – 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.PO : administration orale - IP injection [8] (c)Changes in the percentage of gray and white matter, cerebrospinal fluid (CFS) 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]

Finalement, l’ajout d’un précurseur de l’acétylcholine à l’inhibiteur de l’AChE semblent permettre de ralentir les effets cérébraux de la maladie pendant 3 à 4 ans voire de stopper certains effets pendant deux ans.

Partie 2 : Inhibiteurs des Acétylcholinesterases : traiter un inhibiteur toxique par un inhibiteur réversible

Question 1

Des expériences d'exposition au Paraoxon (un composé organophosphoré - pesticide) chez des populations de rats ont été réalisées en réalisant ou non des traitements par des inhibiteurs réversibles de l'acétylcholinestérase identifiés dans les traitements contre les maladies neurodégénératives (Pyridostigmine, physostigmine, Ranitine, Tacrine, K-27).

Traitez et analysez ces résultats en terme de toxicité du Paraoxon mais aussi d'effets protecteurs et/ou soignant des inhibiteurs réversibles.

Groups (G)	30 min	1 h	2 h	3 h	4 h	24 h	48 h
Paraoxon only (pretreatment group)	63/88/96	63/88/96	63/88/96	67/88/96	67/88/96	67/88/96	67/88/96
Paraoxon only (pre- and posttreatment group)	75/88/92	79/88/92	79/88/92	79/92/92	83/92/92	83/92/96	83/92/96
Pyridostigmine pretreatment	13/88/83	21/88/83	25/88/88	25/88/88	25/88/88	29/88/88	29/88/88
Pyridostigmine pretreatment + K-27 posttreatment	13/100/96	13/100/100	13/100/100	21/100/100	21/100/100	29/100/100	29/100/100
Physostigmine pretreatment	4/29/46	4/29/46	13/33/46	13/33/46	13/33/46	13/33/46	13/33/50
Physostigmine pretreatment + K-27 posttreatment	8/42/54	8/42/54	8/42/54	8/42/54	8/42/54	8/42/54	8/42/54
Ranitidine pretreatment	0/79/92	0/83/92	4/92/92	4/92/92	8/92/92	13/92/92	13/92/92

Table 1. Cont.

Groups (G)	30 min	1 h	2 h	3 h	4 h	24 h	48 h
Ranitidine pretreatment + K-27 posttreatment	25/58/83	29/67/83	33/67/83	38/75/83	42/83/83	46/83/83	46/96/83
Tacrine pretreatment	0/54/92	0/58/92	13/71/92	13/79/92	13/79/92	13/79/92	13/79/92
Tacrine pretreatment + K-27 posttreatment	0/63/83	0/63/83	0/67/83	0/71/88	0/71/92	0/75/92	0/79/92
K-27 pretreatment	13/8/13	25/17/21	25/21/25	25/21/29	33/29/33	46/42/38	46/42/42
K-27 pretreatment + K-27 posttreatment	0/25/33	17/25/46	21/25/46	21/29/46	21/42/46	25/54/50	25/58/50

FIGURE 1.6 – Effets prophylactique et traitement des inhibiteurs réversibles sur la mortalité due au paraoxon. Mortality of rats given paraoxon intraperitoneally (i.p.) in a dosage of 1 (first value), 2 (second value), or 3 µmol/animal (third value). Listed is the proportion of dead animals in percent (derived from 24 rats) at each time point (30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 24 h, and 48 h after paraoxon injection) for rats given no pretreatment (rows 1 and 2 : paraoxon only) and for animals given i.p. injections of the AChE inhibitors pyridostigmine, physostigmine, ranitidine, tacrine, or K-27 30 min before paraoxon exposure (pretreatment), either alone or followed by K-27 immediately after paraoxon exposure (K-27 posttreatment). The dose injected for pretreatment and for K-27 posttreatment was approximately one-fourth of the LD₀₁. The lines are arranged to compare pretreatment alone (white row) are listed above the same treatment combined with K-27 posttreatment (grey row, underneath).[3]

L'effet protecteur et curatif des inhibiteurs réversibles de AChE suite à une exposition au paraxon

ont été mesurés en exposant des rats à trois concentrations en paraxon et en les traitant ou non en prophylaxie ou en post-exposition. Les données ont été recueillies sur une durée de 48h. La cinétique n'apportant pas de précision sur les mécanismes, le choix a été fait de mettre sous format graphique uniquement les données après 48h post exposition (cf graphique).

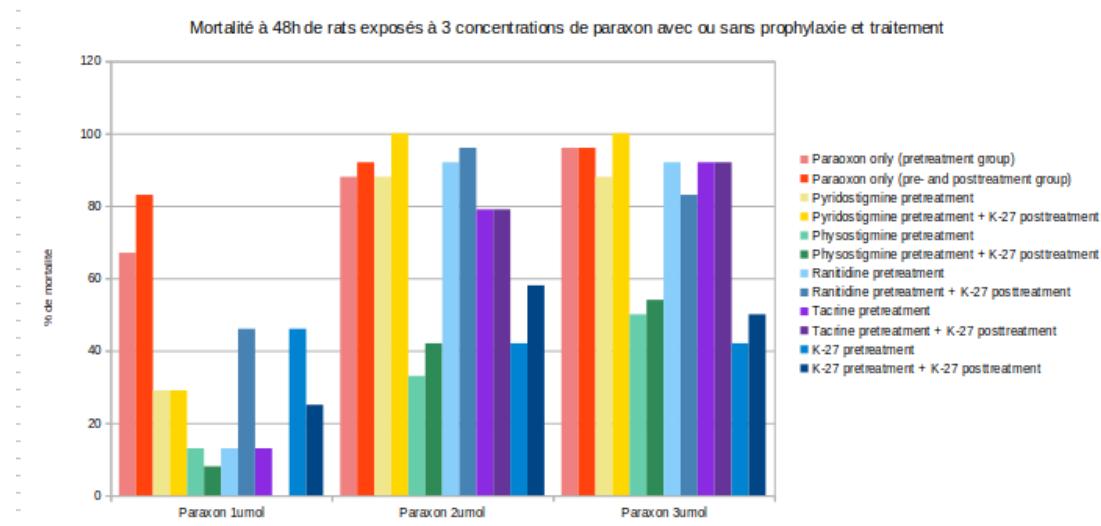


FIGURE 1.7 – Effets prophylactique et traitement des inhibiteurs réversibles sur la mortalité due au paraoxon. Mortality of rats given paraoxon intraperitoneally (i.p.) in a dosage of 1 , 2 , or 3 $\mu\text{mol}/\text{animal}$. The proportion of dead animals in percent (derived from 24 rats) at 48 h after paraoxon injection) for rats given no pretreatment (paraoxon only) and for animals given i.p. injections of the AChE inhibitors pyridostigmine, physostigmine, ranitidine, tacrine, or K-27 30 min before paraoxon exposure (pretreatment), either alone or followed by K-27 immediately after paraoxon exposure (K-27 posttreatment). The dose injected for pretreatment and for K-27 posttreatment was approximately one-fourth of the LD01 . d'après [3]

Sur la population de rats témoins (paraxon only - rouge), l'ajout de K27 après exposition sans prétraiteme nt n'améliore pas la mortalité, voire l'augmente de 20 % pour la plus faible exposition au paraxon.

La pyridostigmine en prétraiteme nt permet de baisser la mortalité de 40 % sur un exposition de 1umol/animal de paraxon mais n'améliore en rien la mortalité sur des doses plus élevées. Le post-traiteme nt au K27 ne change pas cette observation.

La physostigmine en prétraiteme nt permet toujours de diminuer la mortalité quelque soit la quantité de paraxon injecté. Elle diminue de 50 %, 60 % et 45 % la mortalité respectivement pour des injections de 1, 2 et 3 umol. Le post-traiteme nt au K27 ne semble pas modifier significativement ces résultats.

La ranitine en prétraiteme nt permet de baisser la mortalité de 50 % sur un exposition de 1umol/animal de paraxon mais n'améliore en rien la mortalité sur des doses plus élevées. Le post-traiteme nt au K27 a plutôt tendance à augmenter la mortalité lors d'une exposition à 1umol/animal (de 10 % à 40 %).

La tacrine en prétraiteme nt permet de baisser la mortalité de 50 % sur un exposition de 1umol/animal de paraxon mais n'améliore en rien la mortalité sur des doses plus élevées (au mieux de 10 %). Le post-traiteme nt au K27 permet d'atteindre 0 % de mortalité pour l'exposition à 1umol/animal mais ne change rien sur les autres expositions.

Le K27 en prétraitemet permet toujours de diminuer la mortalité quelque soit la quantité de paraxon injecté en la stabilisant à 40 %. Le post-traitement au K27 améliore ce chiffre pour l'exposition à 1umol/animal (20 % de mortalité) par contre il semble plutôt augmenté la mortalité pour les autres expositions (de 10 % à 20 %).

Finalement, les pré-traitements protègent tous pour de faibles expositions mais seuls la physostigmine et le K27 protègent pour les fortes expositions. L'ajout d'un post-traitement au K27 ne semble pas avoir d'effets positifs sur la mortalité.