

UNIVERSITÉ DE NANTES
FACULTÉ DE PHARMACIE

ANNÉE 2012

N°

THÈSE
pour le
DIPLÔME D'ÉTAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

par

Lorena Adriana AILLET

Présentée et soutenue publiquement le 6 Février 2012

**Maladie d'Alzheimer, diagnostique et thérapeutique:
implication du stress oxydatif**

Président : Mme Edith BIGOT, Maître de conférence en Biochimie

Membres du jury: M. Thierry PATRICE, Professeur de Physiologie
Mme Sonia FORCE, Pharmacien d'officine

Table des matières

Introduction.....	1
I- Découverte de la maladie.....	2
II- Description.....	3
A) La Clinique.....	3
B) Diagnostic actuel.....	4
1- Le stade alzheimer.....	5
a- Le diagnostic de démence.....	5
b- La démence « probable » due à la maladie d'Alzheimer.....	6
c- La démence « possible » due à la maladie d'Alzheimer.....	7
2- Le stade MCI.....	7
3- Le stade préclinique.....	9
a- Stade 1: Stade asymptomatique d'amylose cérébrale.....	9
b- Stade 2: Positivité amyloïde et preuve de dysfonctionnement synaptique et/ou neurodégénérescence précoce.....	9
c- Stade 3: Positivité amyloïde, neurodégénérescence et déclin cognitif léger.....	9
4- Diagnostic de routine.....	10
5- Diagnostic différentiel.....	11
a- Les démences vasculaires.....	11
b- Démences associées aux noyaux gris centraux et autres.....	11
1- Les démences associées à la maladie de Parkinson.....	11
2- La démence à corps de Lewy.....	11
3- La paralysie supra-nucléaire progressive.....	11
4- La maladie de Huntington.....	12
5- Démence frontotemporale.....	12
C) Histologie.....	14
1- Les plaques séniles.....	14
2- Les dégénérescences neurofibrillaires.....	14
D) Les neuromédiateurs.....	14
E) Anatomie.....	16
1- L'écorce cérébrale.....	16
2- Le lobe pariétal.....	16
3- Le lobe temporal.....	16
4- Le lobe occipital.....	18
5- L'aire associative pariéto-temporo-occipitale.....	18
6- L'hippocampe.....	18
7- Les ventricules cérébraux.....	18
F) Facteurs de risques.....	20
1- Facteurs de risque vasculaires:.....	20
a- Cholestérol.....	20
b- Hypertension.....	20
c- Diabète.....	21
d- Inflammation.....	22
2- Facteurs de risque sociaux.....	22
3- Les gènes responsables.....	23
a- APP(Amyloid Precursor Protein).....	23
b- Préséniline 1 (PSEN1).....	23
c- Préséniline 2 (PSEN2).....	23
d- APOE.....	24

e- Autres gènes impliqués.....	24
3- Le stress oxydatif.....	26
III- Le lien entre stress oxydatif et MA.....	29
A) Définition.....	29
1- L'oxygène.....	29
2- Les espèces réactives de l'oxygène.....	30
a- Les espèces radicalaires.....	30
b- Les espèces non radicalaires.....	33
3- Les sources endogènes.....	35
4- Les sources exogènes.....	39
a- Mode de vie.....	39
b- Environnement.....	39
B) Action des EROs sur le métabolisme.....	39
1- Les lipides.....	39
a- Définitions.....	39
b- La peroxydation des lipides.....	40
1- La peroxydation enzymatique.....	40
2- La peroxydation non-enzymatique.....	41
3- L'oxygène singulet.....	41
c- Les produits.....	42
1- Isoprostanes.....	42
2- Phospholipides oxydés.....	42
3- Hydroxy-alcanes.....	43
4- Prostaglandines.....	43
5- Acides gras nitrés.....	44
d)La peroxydation lipidique dans la MA.....	45
2- Les glucides.....	51
a- Voie des polyols.....	51
b- Glycation des protéines.....	52
c- Glycoxydation et MA.....	53
d- Glycoxydation et AGEs.....	54
3- Les protéines.....	56
a- Définition.....	56
b- L'oxydation des protéines.....	59
c- Oxydation de la structure protéique.....	59
d- Clivage des liaisons peptidiques.....	60
e- Oxydation des résidus d'acides aminés des chaînes latérales.....	60
f- Oxydation des acides aminés soufrés.....	61
g- Modification des protéines par les peroxydants.....	61
h- Génération de dérivés carbonyles.....	62
i- Rôle de l'oxygène singulet.....	62
j- Oxydation des protéines lors de MA.....	63
4- L'ADN.....	64
a- Définitions.....	64
b- Dommages sur les bases.....	65
1- Thymine.....	65
2- Cytosine.....	66
3- Guanine.....	66
4- Adénine.....	66
5- Mécanisme.....	67

c- Liaisons ADN/ADN et ADN/protéine.....	68
d- Dommages oxydatifs dans l'ADN nucléaire et mitochondrial.....	69
e- Dommages oxydatifs de l'ADN lors de MA.....	70
C) EROs et protéine Tau	71
D) EROs et peptide β -amyloïde.....	71
E) Implication des métaux.....	74
F) Les systèmes antioxydants.....	77
1- Les systèmes antioxydants enzymatiques.....	77
2- Les systèmes antioxydants non-enzymatiques.....	78
3- La répartition dans le cerveau.....	79
4- Mécanismes de défense anti-oxydante lors de MA.....	81
IV- Méthode de mesure.....	83
A) Le test PATROL.....	83
B) Le test TEAC.....	85
C) Le test ORAC.....	85
D) Autres.....	87
1- FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Capacity).....	87
2- DPPH.....	87
3- CUPRAC (cupric reducing antioxydant capacity).....	88
E) Comparaison.....	88
F) Application à la MA.....	89
V- Traitement.....	90
A) Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase.....	90
1- Tacrine.....	90
2- Donépézil.....	90
3- Galantamine.....	91
4- Rivastigmine.....	92
B)Antagoniste des récepteurs NMDA: Mémantine.....	93
C)Efficacité des traitements existants.....	94
1- Efficacité individuelle.....	94
2- Comparaison.....	95
3- Bithérapie.....	98
4- Thérapeutique actuelle et EROs.....	98
D)Recherche actuelle.....	99
E) Les anti-oxydants.....	100
Conclusion.....	104

Index des illustrations

Illustration 1: Alois Alzheimer (jehre.fr 06/11).....	2
Illustration 2: Auguste Deter en 1902 (medgeriatria.blogspot.com 06/11).....	2
Illustration 3: de gauche à droite: A.Alzheimer, E. Kraepelin, R. Gaupp, et F. Nissl (ajma.vendee.free.fr 06/11).....	3
Illustration 4: Emplacement des ventricules cérébraux.....	18
Illustration 5: Comparaison entre les ventricules cérébraux d'un témoin sain et d'un patient souffrant de MA.....	19
Illustration 6: Règles de restriction de spin énoncées par Wigner.....	29
Illustration 7: La chaîne respiratoire mitochondriale et sa localisation.....	37
Illustration 8: Fonctionnement des quatre complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale.....	38
Illustration 9: Effets directs et indirectes des AGEs lors de la formation des agrégats de peptide amyloïde.....	54
Illustration 10: Les acides aminés naturels.....	57
Illustration 11: Nitration des protéines.....	62
Illustration 12: Réaction de l'oxygène singulet avec le tryptophane.....	63
Illustration 13: Composition d'un brin d'ADN.....	65
Illustration 14: Les bases présentes dans l'ADN.....	65
Illustration 15: mécanisme hypothétique reliant le stress oxydatif et le peptide amyloïde..	73
Illustration 16: Taux de (GPx), (GR) et (CuZnSOD).....	80
Illustration 17: Taux de (GSH) et de (GSSG) dans les différentes composantes cervicales.....	80
Illustration 18: Réaction du rose bengale excité par onde lumineuse dans le test PATROL.....	84
Illustration 19: principe du test PATROL réalisé à 40°C.....	84
Illustration 20: Mécanisme du test ORAC	86

Index des figures

Figure 1: Proposition d'évolution entre les différents stades précliniques.....	10
Figure 2: Répartition électronique de l'oxygène à l'état fondamental.....	33
Figure 3: Différences de répartition des électrons des deux formes d'oxygène sur la couche antiliante.....	34
Figure 4: Corrélation entre l'activité de l'AChE et la capacité totale anti-oxydante.....	46
Figure 5: Taux de céramides et de cholestérol dans le cerveau liés au stress oxydatif.....	48
Figure 6: Taux de céramides associées aux membranes	49
Figure 7: Test Patrol des sujets sains,sujets ayant fait un AVC à J0, J1 et J5.....	89

Index des schémas

Schéma 1: Récapitulatif des gènes impliqués dans la MA.....	26
Schéma 2: Récapitulatif des voies pathologiques liées à la MA.....	28
Schéma 3: Contournement de spin.....	29
Schéma 4: Neurotoxicité et neuroprotection de NO en lien avec la MA.....	32
Schéma 5: Produits et voies reliés à la peroxydation lipidique.....	44
Schéma 6: Rôle du métabolisme des lipides membranaires modifiés dans la MA.....	50
Schéma 7: Mécanismes de génération des produits d'Amadori.....	53
Schéma 8: Réaction de Fenton des acides aminés.....	60

Liste des abréviations.

AChe: Acétylcholine estérase
ADN: Acide Désoxyribo Nucléique
ADP: Adénosine Di-Phosphate
AGEs: Advanced Glycation End products
ALS: Amyotrophic lateral sclerosis
AMM: Autorisation de Mise sur le Marché
APOE: Apolipoprotéine E
APP: Amyloid Protein Precursor
ARNm: Acide ribonucléosique messenger
ATP: Adénosine Tri-Phosphate
AUC: Aire sous courbe
AVC : Accident Vasculaire Cérébral
CAT: Catalase
CML: carboxyméthyl-lysine
Cox: Cyclo-oxygénase
CRP: Protéine C- réactive
CSF: Cerebro Spinal Fluid = fluide cérébrospinal
DHA: acide docosahexanoïque
dt2: Diabète de type 2
EPA: acide eicosapentoïque
ERN: Espèce Réactive de l'azote
ERO: Espèce Réactive de l'Oxygène
GABA: Gamma- Amino Butyric Acid
GPx: Glutathion peroxydase
GR: Glutathion réductase
GSH: Glutathion réduit
GSSG: Glutathion oxydé
HDL: High Density Lipid
HHE: Aldéhyde 4-hydroxy-2-hexenal
HNE: Aldéhyde 4-hydroxy-2-nonenal
IL: Inter-Leukine
LCR: Liquide Cérébro Rachidien
MA: Maladie d'Alzheimer
MCI: Mild Cognitive Impairment= déclin cognitif modéré
MDA: Malondialdéhyde
MMS: Mini-Mental State
Mn-SOD: Super Oxyde Dismutase lié au manganèse
MP: Maladie de Parkinson
MRI = IRM: imagerie par résonance magnétique
NMDA: acide N-méthyl-D-aspartique
NOS: NO Synthase
PC: Phosphatidine Choline
PET-scan: positron emission tomography
Pi: Phosphate inorganique
PSEN: Préséniline
SNC: Système Nerveux Central
VLDL: Very Low Density Lipid

Remerciements

Six années s'achèvent par ce travail difficile. Difficile pour moi mais également pour mes proches.

Je remercie tout d'abord ma famille qui a été présente pour moi à tout moment. Aymeric, Marcela, Guillen, Djamila, merci de m'avoir supporté. Merci à Emma, Sofian et Adrien, ils ont été assez sages pour ne jamais rentrer dans le bureau lorsque j'entendais « tata lola travaille »

Difficile pour mes amis qui ont subi mes humeurs . Je remercie sincèrement Marion Bauquin, Delphine Bolle, Sibylle Colaisseau, Guilhem Fadda, Claire Perouze, Anne Laure Zoungrana pour m'avoir soutenue pendant ces derniers mois et aérer l'esprit quand il le fallait.

Je remercie spécialement Mélanie Bonal pour nos « journées thèse », une bonne motivation. Merci également pour les pauses que l'on a pu s'accorder, heures, soirées ou fin de semaines.

Je remercie Mathilde Guyader pour son aide non prévue. La mise en page n'en serait qu'à ses prémices sans sa visite.

Je remercie Luc Aillet et Thierry Aillet pour leur relectures et corrections pendant les fêtes de fin d'année. Sans eux, j'en serais encore à chercher les fautes d'orthographe.

Je remercie mon maître de thèse, M. Thierry Patrice pour son soutien tout au long de la rédaction.

Enfin, je remercie Marga Aillet qui m'a stimulée, pas seulement pendant cette période mais depuis mes premières heures.

Merci.

Introduction

Nous vivons dans des pays industrialisés. Nous vivons dans des pays médicalisés. Nous vivons dans des pays âgés. En effet, grâce à l'évolution des connaissances et des technologies médicales, nos populations vivent plus longtemps mais souvent de façon assistée.

Actuellement le nombre de démences séniles explose d'une part parce que les outils diagnostiques sont plus efficaces et d'autre part parce que la part âgée de notre population n'a jamais été aussi importante.

En 2010, le nombre mondial de personnes démentes était estimé à 35.6 millions. Il est attendu qu'il augmente encore jusqu'à 65.7 millions en 2030 puis 115.4 millions en 2050. Deux tiers habitent dans des pays en développement ou industrialisés (annexe 2). C'est également dans ces pays que la plus grande augmentation du nombre de personnes atteintes est attendue. Entre toutes les démences du sujet âgé possibles, la maladie d'Alzheimer est la plus fréquente, elle représente jusqu'à 70% des cas.(Alzheimer disease international, 2010)

En France en 2010 le nombre de cas de démence est évalué entre 750 000 et 850 000 cas selon les études, soit plus de 1,2% de la population totale. D'ici 2050 ce chiffre devrait être multiplié par 2,4 soit plus de 1 800 000 cas, représentant près de 3% de la population.

Toutes ces estimations sont cependant imprécises car moins d'un cas de démence sur deux est diagnostiqué et pris en charge. Certaines formes surviennent avant l'âge de 60 ans. Il s'agit de formes rares héréditaires pour lesquelles certains gènes ont pu être identifiés. En France, ces formes précoces concernent 32 000 cas avant 60 ans et 1 000 cas avant 50 ans.(Berr, 2011)

La prévalence mondiale estimée de la maladie d'Alzheimer est estimée à 4,7% de la population âgée de plus de 60 ans, en Europe occidentale elle est de 7,2%, la plus élevée au monde.(annexe 1) (Alzheimer disease international, 2010)

Que savons nous aujourd'hui sur cette maladie?

ALZHEIMER (maladie d') (A.Alois, all.,1906) [angl. **Alzheimer's disease**]. Décrite comme la variété la plus fréquente de démence présénile, mais survenant aussi chez le sujet âgé, la maladie d'A. est caractérisée *anatomiquement* par une atrophie de l'écorce cérébrale localisée surtout aux régions pariéto-temporo-occipitales, des lésions de l'hippocampe et une dilatation des ventricules cérébraux; *histologiquement* par des plaques séniles (contenant des dépôts de peptides amyloïde A β) et des dégénérescences neurofibrillaires ; *cliniquement* par une démence massive avec gros troubles de la mémoire, désorientation temporo-spatiale, aphasie, apraxie, agnosie, hypertonie extrapyramidale, et crises épileptiques. La mort survient dans la cachexie en quelques années. La maladie d'A. semble en relation avec un déficit du cerveau en neurotransmetteurs surtout cholinergiques. Les anticholinestérasés en constituent le principal traitement pharmaceutique. (Garnier Delamare, 2004)

I- Découverte de la maladie



Illustration 1: Alois Alzheimer (jehre.fr 06/11)

Cette pathologie, aujourd'hui connue sous le nom de maladie d'Alzheimer a été découverte par le neuropsychiatre allemand Alois Alzheimer en 1906.

A. Alzheimer rencontre Auguste Deter femme de 51 ans en 1901 alors qu'il est directeur de l'asile de Francfort. Il s'intéressait alors aux cas de démences préséniles. Cette patiente présente des troubles de désorientation, des troubles de la mémoire ainsi que des difficultés pour lire et écrire. Ses symptômes s'aggravaient graduellement allant même jusqu'à des hallucinations et des pertes des fonctions mentales.

En 1902 Alzheimer quitte Francfort pour Heidelberg où il commence à travailler avec le Professeur en psychiatrie Emile Kraepelin; ils quittent ensemble Heidelberg pour la clinique psychiatrique universitaire de Munich en 1906 (Bick, 1994)

Il continuera à suivre le cas de Frau Deter jusqu'à la mort de celle-ci en 1906. Il réclame alors son dossier de même que son cerveau.

En analysant celui-ci, Alzheimer met en évidence les preuves histologiques aujourd'hui associées à la maladie: la perte massive de neurones, la présence de plaque amyloïde et de dégénérescences neurofibrillaires. Il exposa les résultats de ses recherches lors d'une conférence donnée lors du meeting de Tübingen en 1906 puis la publia l'année suivante sous le titre « Une grave maladie caractéristique du cortex cérébral » où il faisait une description histo-pathologique de la maladie d'Auguste D.(Cipriani et al., 2011)

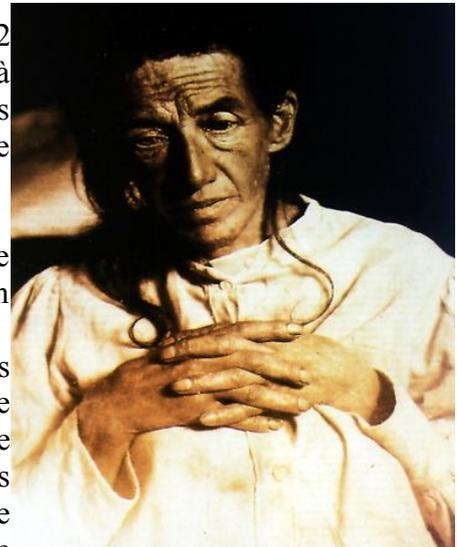


Illustration 2: Auguste Deter en 1902 (medgeriatria.blogspot.com 06/11)



« Au centre de ce qui est autrement une cellule pratiquement normale, on trouve une ou plusieurs fibrilles visibles à leur épaisseur caractéristique et leur caractère imprenable. De nombreux petits foyers miliaires se voient dans les couches supérieures. Ils sont déterminés par le stockage d'une substance particulière dans le cortex cérébral. En somme nous avons à faire à une maladie particulière. »(Alzheimer, 1907)

Alzheimer reconnut là les dégénérescences neurofibrillaires ainsi que les plaques séniles. (Cipriani et al., 2011)

Illustration 3: de gauche à droite: A. Alzheimer, E. Kraepelin, R. Gaupp, et F. Nissl (ajma.vendee.free.fr 06/11)

La présence de plaques amyloïdes dans le cerveau de patients déments avait été décrite auparavant.

Cependant Alzheimer fut le premier à introduire la notion de dégénérescence neurofibrillaire. Cette découverte se confirme chez un de ses patients ultérieurs: Johann F.

Le médecin voulait souligner que les plaques dites séniles se retrouvaient également chez des patients plus jeunes. Il n'avait pas l'intention d'introduire une nouvelle pathologie. En l'occurrence, Kraepelin, son directeur, fut le premier à parler de maladie d'Alzheimer pour distinguer les démences préséniles des démences séniles dans la 8ème édition de son manuel de psychiatrie. (Cipriani et al, 2011)(Verhey, 2009)

Aujourd'hui le terme de maladie d'Alzheimer regroupe ces deux cas de démences sans distinction d'âge.

II- Description

A) La Clinique

Les individus atteints de la maladie d'Alzheimer ne sont pas tous atteints de la même manière, mais l'expression la plus classique commence par une difficulté graduellement croissante à mémoriser les nouvelles informations. Ceci est dû à la localisation des lésions neuronales primaires. Plus ces lésions se répandent, plus les individus vont présenter d'autres difficultés.(Bondi et al., 1994)

Les symptômes suivants sont des signes d'alerte de la pathologie:

- Perte de mémoire perturbant la vie quotidienne
- Mise à mal de la planification et de la résolution des problèmes
- Difficulté à effectuer des tâches familières au domicile, au travail ou de loisir
- Confusion dans le temps ou l'espace
- Compréhension atténuée d'images visuelles et de relation dans l'espace
- Nouveau problème avec les mots à l'oral ou l'écrit
- Déplacement d'objets et perte de l'habileté à retrouver son chemin
- Déclin ou perte de jugement
- Retrait du monde social ou professionnel
- Changement d'humeur (anxiété, tension, irritabilité, apathie, tristesse, tension, perte d'énergie, plainte somatique, discours suicidaire, culpabilité, dépression majeure), de personnalité et de comportement (hyperactivité, répétition, agression verbale et physique, troubles du sommeil,

incontinence, résistance à l'aide, errance)(Alzheimer's Association, 2010)

– Illusions et hallucinations (paranoïa, identification incorrecte du soignant, de l'environnement, suspicion, hallucination visuelles, auditives, tactile...)(Folstein & Bylsma, 1994)

B) Diagnostic actuel

Les critères de diagnostic de la maladie d'Alzheimer ont été établis en 1984 par un groupe de travail réunissant le NINCDS (National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Strokes) et l'ARDRA (Alzheimer's Disease and Related Disorders Association). Ces critères ont été adoptés et utilisés mondialement pendant 27 ans. Depuis, des avancées technologiques dans le domaine médical ont été réalisées et doivent être intégrées dans le diagnostic de la pathologie.(Jack et al., 2011)

Les articles des critères originaux de diagnostic qui ont besoin d'être revus sont les suivants:

1- Le fait que les anomalies histologiques peuvent se retrouver dans d'autres diagnostics (incluant des individus sans troubles cognitifs, ceux souffrant de MCI (mild cognitive impairment) ou encore d'autres démences)

2- Le manque de connaissance des critères distinctifs des autres démences, que l'on retrouve dans la même tranche d'âge, mais n'étaient pas encore totalement reconnues à l'époque (par exemple: la démence à corps de Lewy, les démences vasculaires, les démences frontotemporales ainsi que l'aphasie primaire progressive).

3- La non inclusion dans les critères: des biomarqueurs, de l'imagerie par résonances magnétiques ou par tomographie par émission de positron, et des dosages du liquide cérébro-spinal.

4- Le fait que le déclin des capacités de mémorisation soit le premier déficit cognitif chez tous les patients souffrant de la MA. (Il a été montré qu'il existe plusieurs expressions non amnésique de la physiopathologie de la maladie comme le syndrome d'atrophie corticale postérieure ou le syndrome d'aphasie logo-phonique primaire progressive).

5- Le manque d'information sur l'étiologie génétique de la maladie

6- Les limites d'âge proposées pour le diagnostic.

7- l'extrême hétérogénéité de la démence « possible » due à la maladie d'Alzheimer qui inclut des groupes de patients que l'on diagnostiquerai aujourd'hui MCI.(McKhann et al. , 2011)

En 2009 il a été décidé de créer 3 groupes de travail se penchant sur les modifications à apporter au diagnostic:

– Le premier groupe fut assigné à la formulation des nouveaux critères de diagnostic du stade alzheimer de la maladie.

– Le deuxième à ceux du déclin cognitif moyen.

– Le dernier, aux critères pour la phase préclinique de la pathologie.(Jack et al., 2011)

Il est à noter que l'utilisation des biomarqueurs est limitée aux essais cliniques, aux études de recherche. En effet les tests ne sont pas envisagés dans le diagnostic de routine car les critères cliniques apportent une très bonne exactitude de diagnostic. De plus des études supplémentaires doivent être effectuées pour s'assurer que les critères incluant les biomarqueurs ont été clairement identifiés.

1- Le stade alzheimer

L'état de démence due à la maladie d' Alzheimer se divise en deux stades, les stades de démence alzheimer « probable » et de démence alzheimer « possible ». La première étape du diagnostic sera d'identifier l'état de démence. Suivront des diagnostics cliniques associées aux biomarqueurs, quand ils seront disponibles.

a- Le diagnostic de démence

Ce diagnostic permet d'inclure un large spectre de démences allant d'une légère à la plus sévère. Il repose sur les troubles cognitifs ou comportementaux suivants:

- 1- Interférence avec la capacité d'être efficace au travail ou lors des activités classiques
ET
- 2- Détérioration par rapport aux niveaux de fonctionnement et de performance précédents.
ET
- 3- Qui n'est pas expliqué par un trouble psychiatrique majeur ou un état délirant.
- 4- Le déclin cognitif est détecté et diagnostiqué grâce à l'association de deux facteurs:
 - Recueil de l'historique du patient par lui-même et un informateur compétent
 - Une évaluation cognitive objective soit par un examen du statut mental
 - Au chevet du patient soit par un test neuropsychologique (celui-ci devrait être effectué lorsque l'historique et l'évaluation mentale ne permettent pas un diagnostic certain)
- 5- Le déclin des capacités cognitives du comportement inclut deux au moins des critères suivants:
 - a) Dégradation de la capacité d'obtenir et de mémoriser de nouvelles informations (questions ou conversations répétitives, perte d'objets personnels, oubli d'événements ou de rendez-vous, se perdre sur un trajet connu)
 - b) Dégradation du raisonnement et de réalisation de tâches complexes, faible jugement (faible compréhension des risques de sécurité, incapacité de gérer les finances, faible capacité de prise de décision, incapacité de planifier des activités complexes ou séquentielles).
 - c) Dégradation des capacités visio-spatiale (non reconnaissance des visages ou objets communs, difficulté de trouver des objets en vue malgré une acuité visuelle satisfaisante, incapacité d'orienter les vêtements vers les parties du corps correspondantes).
 - d) Dégradation de fonctions du langage: parole, lecture, écriture (difficulté de penser à des mots communs en parlant, hésitations, erreurs de prononciation et d'orthographe)
 - e) Changement de personnalité, d'attitude, de comportement (changement d'humeur fluctuant et non caractéristique comme de l'agitation, perte de motivation, d'initiative, apathie, retrait social, diminution de l'intérêt porté à ses anciennes activités, perte de l'empathie, comportement compulsif ou obsessionnel, attitude socialement inacceptable)

La différence de diagnostic entre la démence et le MCI repose sur la détermination de l'importance de l'interférence avec l'efficacité au travail et dans les tâches quotidiennes, ce jugement clinique n'est fait que par un médecin averti.

b- La démence « probable » due à la maladie d'Alzheimer

Les critères cliniques fondamentaux.

A- Apparition insidieuse. Les symptômes apparaissent graduellement sur plusieurs mois ou années.

B- Historique clair d'une dégradation des fonctions cognitives grâce à un rapport ou une observation

ET

C- Le déficit cognitif initial et majeur est évident par rapport à l'histoire de la pathologie et à l'examen dans l'une des catégories suivantes:

1- Forme amnésique: la plus commune des formes symptomatiques de la maladie. Les déficits doivent inclure une dégradation de l'apprentissage et du rappel des informations récemment apprises.

2- Forme non amnésique:

Langage: le déficit majeur réside dans la difficulté à trouver le mot juste. Un autre déficit cognitif doit être présent

Visio-spatiale: le déficit majeur se retrouve dans la reconnaissance spatiale incluant l'agnosie des objets, déclin de la reconnaissance faciale, incapacité de percevoir plus d'un objet à la fois, alexie. Un autre déficit cognitif doit être présent.

Dysfonctionnement exécutif: majoritairement représenté par un déficit du raisonnement, du jugement et de la résolution des problèmes. Un déclin dans un autre domaine cognitif doit exister.

D-Le diagnostic de démence « probable » due à la maladie d'Alzheimer ne doit pas être fait lorsque qu'il y a des preuves:

1- D'une maladie cérébrale concomitante définie par un historique d'AVC temporairement relié à l'apparition ou à l'aggravation du déclin cognitif ; ou la présence de plusieurs infarctus ou une importante charge hyperintensive de la matière blanche. ou

2- Caractéristique fondamentale de démence à corps de Lewy autre que celle de la démence en soi. ou

3- Caractéristique majeure de démence fronto-temporale à comportement fluctuant. ou

4- Caractère majeur d'aphasie primaire progressive variante sémantique ou agrammaticale. ou

5- D'une autre pathologie neurologique concurrentielle et active ou d'une comorbidité non neurologique ou de médication pouvant jouer sur les capacités cognitives.(McKhann et al.,

2011)

Les critères physiopathologiques: les biomarqueurs

Présence d'A β .

1- Faible taux de dépôts de protéine A β 42 dans le liquide cébrospinal.

2- Imagerie par PET-scan révélant la présence de dépôts de A β 42.

Dégénérescence ou plaie neuronale.

1- Taux élevé de protéine Tau ou de protéine Tau phosphorylée dans le liquide cébrospinal.

2- Diminution de l'absorbance du 18fluorodeoxyglucose dans le cortex temporo-pariétal au PET-scan.

3- Atrophie disproportionnée du lobe temporal (moyen, basal et latéral) et du lobe pariétal moyen sur l'IRM

La présence de ces biomarqueurs chez un patient diagnostiqué cliniquement avec une démence « probable » due à la maladie d'Alzheimer augmente la certitude que la base de la démence liée à Alzheimer est le processus physiopathologique.(McKhann et al., 2011)

c- La démence « possible » due à la maladie d'Alzheimer

Les critères cliniques fondamentaux.

A- Terrain atypique:

On retrouve les critères cliniques portant sur le déficit cognitif de la démence due à la maladie d'Alzheimer vus au paragraphe précédent mais soit l'apparition du déclin cognitif est soudaine soit l'historique ou les renseignements du déclin progressif sont insuffisants.

OU

B- Forme étiologiquement mixte:

Elle présente tous les caractères cliniques de la démence de la maladie d'Alzheimer mais aussi des preuves:

- 1- D'une maladie cérébrale concomitante définie par un historique d'AVC temporairement relié à l'apparition ou à l'aggravation du déclin cognitif ; ou la présence de plusieurs infarctus ou une importante charge hyperintensive de la matière blanche. ou
- 2- Caractéristique fondamentale de démence à corps de Lewy autre que celles de la démence en soi. ou
- 3- D'une autre pathologie neurologique concurrentielle et active ou d'une comorbidité non neurologique ou de médication pouvant jouer sur les capacités cognitives.(McKhann et al.,

2011)

Les critères patho-physiologiques: les biomarqueurs

Les deux catégories de biomarqueurs doivent être positives pour un individu ne répondant pas aux critères cliniques (ou à ceux d'une démence non due à la maladie d'Alzheimer) afin d'être diagnostiqué « possible » maladie d'Alzheimer.

Cependant, cette approche peut évoluer en fonction des nouvelles informations sur lesquelles aboutissent les recherches en cours.(McKhann et al., 2011)

2- Le stade MCI

Les critères cliniques fondamentaux.

1-Préoccupation quant à des changements cognitifs.

Il doit y avoir des preuves de variation de l'état cognitif du patient par rapport à son niveau de base. Ces préoccupations doivent venir du patient lui même, d'un proche ou d'un médecin qualifié après observation du patient.

2- Dégradation d'un domaine cognitif au moins.

Des preuves d'une moindre performance, dans un domaine cognitif au minimum, par rapport à ce que l'on peut attendre d'une personne du même âge et de même éducation. Lorsque l'on peut répéter les évaluations, le déclin des performances doit être évident au long terme. Ce changement peut se produire dans un large panel de domaines cognitifs tels la mémoire, les fonctions motrices, la concentration, le langage ou les capacités visio-spatiales. Une dégradation de la mémoire épisodique est classiquement observée chez les patients MCI progressant vers une démence due à la maladie d'Alzheimer.

3- Maintien de l'autonomie dans les capacités fonctionnelles.

Les personnes souffrant de MCI ont couramment de légers problèmes lorsqu'elles doivent réaliser des tâches complexes qu'elles faisaient auparavant comme payer les factures, préparer un repas ou faire les courses. Elles prennent plus de temps, sont moins efficace et font plus d'erreurs qu'avant en les réalisant. Néanmoins, elles maintiennent généralement leur indépendance dans leurs activités de la vie quotidienne avec une assistance minimale.

Il est admis que la reconnaissance de ce critère est un challenge puisqu'il requière la connaissance du niveau fonctionnel habituel du patient. Cependant, il faut noter que ce type d'information est également nécessaire au diagnostic de démence.

4- La non-démence

Ces troubles cognitifs doivent être assez légers pour qu'il n'y ait pas de déclin social ou fonctionnel. Si un individu n'est évalué qu'à une seule reprise, ce changement doit découler de son historique et/ou des preuves que ce déclin est plus important que celui attendu. C'est pour cela que des évaluations répétées, lorsque ceci est possible, sont à avantager. (Albert et al., 2011)

Les critères patho-physiologiques:les biomarqueurs

1- Indiquant une forte probabilité que le syndrome soit du a la maladie d'Alzheimer

Une positivité d'un biomarqueur pour la protéine A β et d'un biomarqueur de lésion neuronale. Les individus ayant ces biomarqueurs sont plus enclin à progresser vers une démence due à la maladie d'Alzheimer dans des périodes relativement courtes.

2- Indiquant une probabilité moyenne que le syndrome soit du à la maladie d'Alzheimer

a) Positivité d'un biomarqueur pour la protéine A β lorsque les tests pour les lésions neuronales n'ont pas ou ne peuvent pas être réalisés

OU

b) Positivité d'un biomarqueur de lésion neuronale lorsque la positivité d'un biomarqueurs pour la protéine A β n'a pas ou ne peut pas être testée.

3- Indiquant la faible probabilité que le syndrome soit du à la maladie d'Alzheimer

Des tests négatifs pour la protéine A β et les lésions neuronales.

L'absence définitive de dépôts de protéine A β et de lésions neuronales suggère fortement que le syndrome de MCI n'est pas du à la maladie d'Alzheimer. Dans ce type de situation la recherche de biomarqueurs reflétant d'autres pathologies doit être considérée. Mais ces biomarqueurs ne sont pas

aussi bien déterminés que ceux de la maladie d'Alzheimer.

Ce type de MCI peut être du à :

- a) Dégénérescence du lobe frontotemporal
- b) Démence à corps de Lewy
- c) Maladie due à un prion
- d) Déclin cognitif vasculaire.(Albert et al., 2011)

3- Le stade préclinique

a- Stade 1: Stade asymptomatique d'amylose cérébrale

Ces individus ont des biomarqueurs montrant l'accumulation de peptide A β associé à une rétention élevée de traceur lors d'imagerie par PET amyloïd et/ou un taux bas de A β 42 lors de dosage dans le CSF. Aucune preuve d'altérations supplémentaires du cerveau suggérant une neurodégénération n'est détectable, ni aucun symptôme de déclin cognitif ou comportemental.(Sperling et al., 2011)

b- Stade 2: Positivité amyloïde et preuve de dysfonctionnement synaptique et/ou neurodégénérescence précoce

Ces individus présentent des marqueurs de positivité amyloïde et d'un marqueur de lésions neuronales associées « en aval » à la physiopathologie de la maladie. Les meilleurs marqueurs actuels de lésions neuronales sont: 1) le taux élevé de protéine Tau ou Phospho-Tau dans le CSF 2) l'hypométabolisme de la forme Alzheimer-like (gyrus du cingulum postérieur, précuneus et/ou le cortex temporo-pariétal) lors d'une FDG-PET 3) amincissement cortical/perte de matière grise localisée (cortex pariétal latéral et moyen, gyrus de cingulum postérieur, cortex temporal latéral) et/ou atrophie de l'hippocampe sur une MRI volumétrique.(Sperling et al., 2011)

c- Stade 3: Positivité amyloïde, neurodégénérescence et déclin cognitif léger

Ce stade, où s'associent des biomarqueurs d'accumulation de protéine A β , de neurodégénérescence précoce et des preuves de déclin cognitif léger, est le dernier stade préclinique où le patient se rapproche de la zone frontière avec le MCI.

Le déclin cognitif de chaque patient s'observe en comparaison avec son propre niveau cognitif de base même si, avec les échelles de mesures des troubles cognitifs, la fonction cognitive du patient est supérieure à la norme.(Sperling et al, 2011)

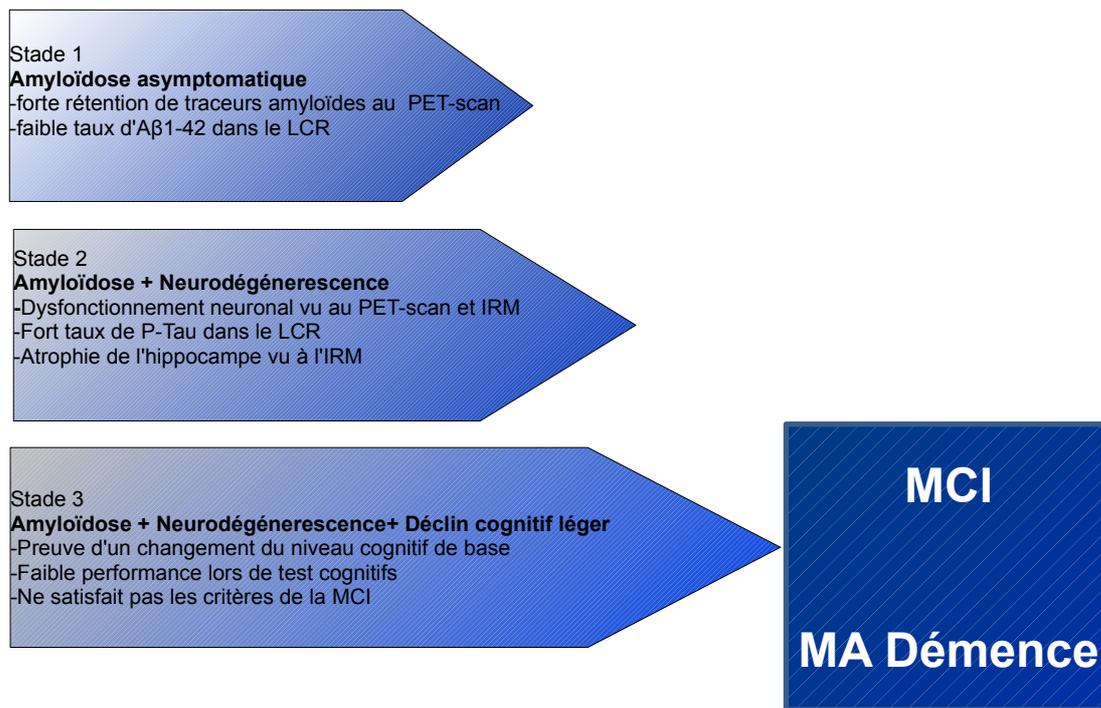


Figure 1: Proposition d'évolution entre les différents stades précliniques. (Sperling et al., 2011)

4- Diagnostic de routine

Habituellement, la méthode de diagnostic utilisée se base sur des tests rapides. Une consultation est faite souvent quand l'entourage commence à se rendre compte des déficits de leur proche. Il est nécessaire d'écarter toutes les autres causes de déclin cognitifs lors du diagnostic (par analyses, imagerie et observation médicale, vu précédemment) et de déceler les symptômes réels. Pour cela plusieurs tests sont effectués.

Évaluation cognitive:

Le premier test utilisé est le mini-mental state (MMS) permettant d'évaluer les troubles cognitifs du patient dans cinq domaines: orientation, mémoire directe, attention et calcul, mémoire à long terme et parole. Le score obtenu est entre 0 (sévère déclin) et 30 (normal) (Folstein 1975). (annexe 3)

Il est ensuite effectué le test qu'on appelle de l'horloge où il est demandé au patient de dessiner un cadran, de le remplir avec les heures puis d'y insérer les aiguilles à une certaine heure.(annexe 4 et 5)

Activité de la vie quotidienne:

Il existe deux tests couramment utilisés, le questionnaire ADL (activities of daily living) et le questionnaire IADL (instrumental activities of daily living) qui permettent d'évaluer la capacité de la personne à se prendre en charge quotidiennement. (annexe 6 et 7)

Il ne faut pas oublier que le diagnostic de certitude de la MA n'est fait que par autopsie lors du décès du patient.

5- Diagnostic différentiel

La maladie d'Alzheimer n'est pas la seule pathologie se manifestant par des démences et des troubles cognitifs ou de comportement. Nous allons ici voir en revue les conditions qui peuvent être confondues s'il n'y a pas d'approfondissement du diagnostic.

a- Les démences vasculaires

Les démences vasculaires se manifestent par le syndrome clinique de déclin intellectuel résultant d'une lésion cérébrale due à des désordres cérébro-vasculaires tant ischémiques qu'hémorragiques.

L'évolution de la maladie se fait par à-coups, et elle apparaît brutalement. L'historique du patient montre l'association de la démence à des pathologies vasculaires comme une hypertension artérielle, des signes d'artériosclérose ou encore des antécédents d'accident vasculaire cérébral.

Les tests neurologiques confirment la détérioration et mettent en évidence des anomalies prédominant sur les fonctions motrices, le langage, l'écriture et la lecture ; par opposition les patients souffrant de la maladie d'Alzheimer ont plus de troubles de l'attention, de la mémoire verbale et visuelle, du calcul ainsi qu'une apraxie constructive.(Billé-Turc, 1992)

b- Démences associées aux noyaux gris centraux et autres

1- Les démences associées à la maladie de Parkinson

La démence due à la maladie de Parkinson se caractérise le plus souvent par un tableau de « démence sous-corticale » avec troubles de la mémoire, lenteur de la pensée, apathie, mais sans syndrome aphaso-apraxo-agnosique.(Michel et al., 1992)

Les patients atteints de démence due à la maladie de Parkinson ont souvent une moins bonne mémoire verbale et un déclin plus marqué dans les capacités visio-spatiales que des patients atteint de démence (à un stade équivalent) due à la maladie d'Alzheimer.(Tatemichi et al., 1994)

2- La démence à corps de Lewy

Les corps de Lewy sont des inclusions cytoplasmiques éosinophiles entourées d'un pâle halo décrites en 1912 par Lewy. La présence de ces corps dans le cerveau de patients âgés peut entraîner des symptômes de démence.

Les individus atteints de démence à corps de Lewy montrent une association de détérioration corticale et sous-corticale avec un dysfonctionnement fonctionnel et visuo-spatial. Au début de cette démence il peut y avoir une conservation relative de la mémoire contrairement à la démence due à la maladie d'Alzheimer.

Les critères cliniques fondamentaux de cette pathologie incluent des variations des fonctions cognitives pouvant durer de 30 minutes à plusieurs jours (troubles de l'attention, dialogue désorganisé...), des hallucinations visuelles récurrentes ainsi que des symptômes parkinsoniens spontanés (bradykinésie, rigidité faciale).(Grand et al., 2011)(Tatemichi et al., 1994)

3- La paralysie supra-nucléaire progressive

La paralysie supra-nucléaire progressive est une affection comportant une ophtalmoplégie (essentiellement des mouvements oculaires de verticalité vers le bas, avec paralysie de la convergence et trouble de fixation du regard). Cette paralysie ne concerne que les mouvements volontaires. La démence due à cette pathologie se reflète plus par des troubles de l'attention, de fluence verbale et de troubles du comportement, que par une diminution des capacités de mémorisation.(Tatemichi et al., 1994)

4- La maladie de Huntington

C'est une affection héréditaire autosomale dominante se manifestant par des troubles moteurs, des manifestations psychiatriques et une démence progressive.

Les patients atteints de démence due à cette pathologie ont un déclin des capacités verbales et visio-spatiales comparable à ceux atteints de la maladie d'Alzheimer, mais ils font moins d'erreurs de reconnaissance des tâches.(Michel et al., 1992)(Tatemichi et al., 1994)

5- Démence frontotemporale

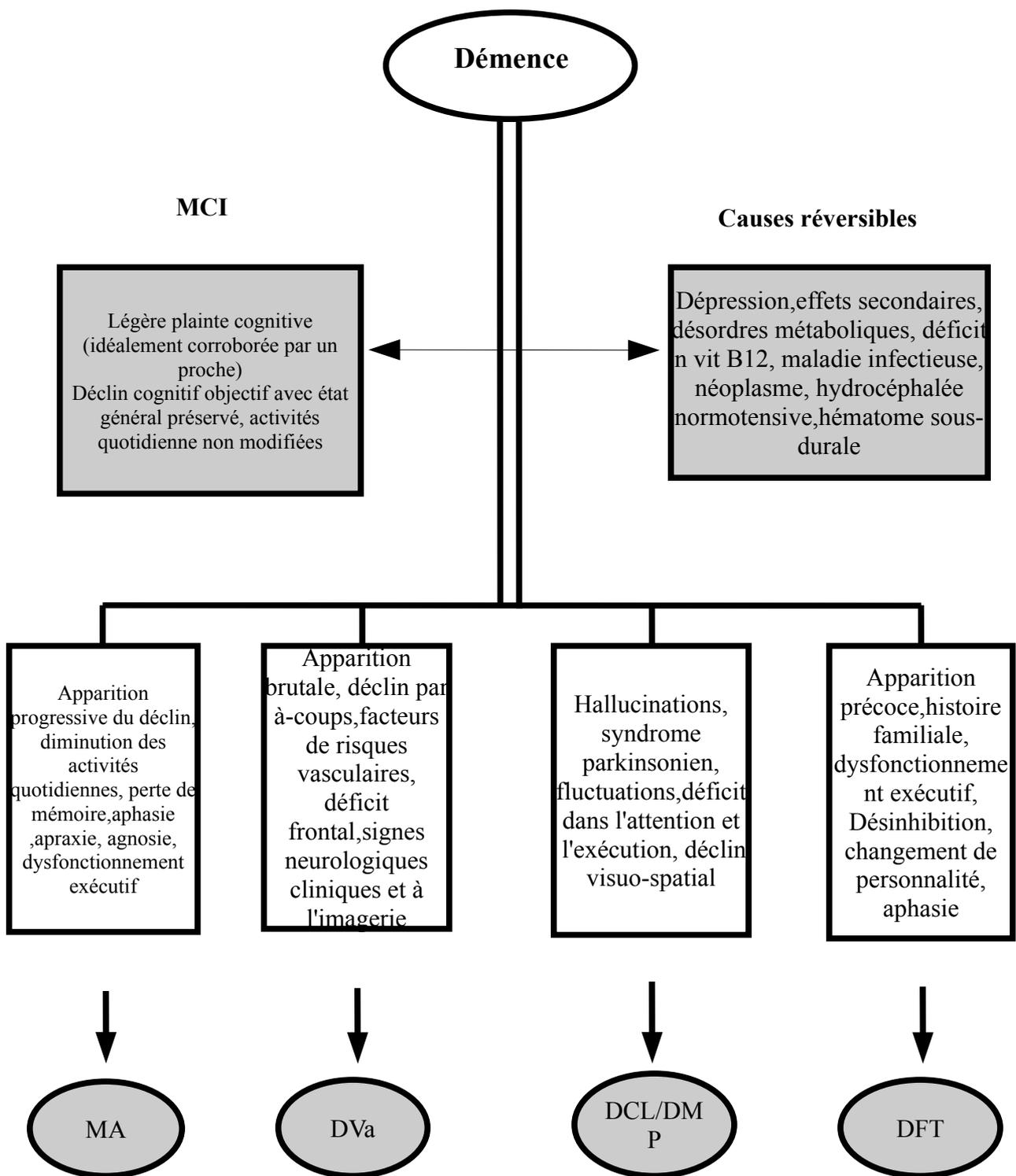
Le syndrome de démence frontotemporale se caractérise par de profondes altérations de la personnalité et du comportement de l'individu et est associé à une atrophie bilatérale des lobes frontaux et temporaux antérieurs. C'est une pathologie se manifestant précocement par rapport aux autres démences.

Deux formes coexistent:

a) La plus commune: elle se manifeste par un profond changement de personnalité. On observe une apathie, perte d'initiative, désinhibition (verbale, physique, sexuelle), un manque de tact et de manières. Ces individus se détachent puis semblent ignorer les conséquences de leur changement comportemental. Le déclin cognitif apparaît dans les domaines de l'attention, de la planification et de la résolution des problèmes.

b) La plus rare: elle présente des troubles du langage progressifs et relativement isolés. Ils peuvent se manifester par des difficultés d'expression ou à désigner (aphasie primaire progressive) ou une difficulté de compréhension des mots (démence sémantique). Les autres fonctions cognitives sont souvent épargnées(mémoire, répétition des mots, lecture et calcul) et ces individus peuvent rester socialement actifs.(Grand et al., 2011)

Ci-dessous l'on retrouve un diagramme montrant les principaux diagnostic différentiel:



MA: Maladie d'Alzheimer; DVa: démence vasculaires; DCL: Démence à corps de Lewy; DMP: Démence due à la maladie de Parkinson; DFT: Démence frontotemporale. (Grand et al., 2011)

C) Histologie

La maladie d'Alzheimer est caractérisée histologiquement par des plaques séniles et des dégénérescences neurofibrillaires.

1- Les plaques séniles

Les plaques séniles sont constituées d'agrégats de peptides A β entourés de lésions neurofibrillaires. Le peptide A β est présent dans le cerveau à faible concentration, il provient d'un précurseur protéique transmembranaire, l'APP (Amyloid Precursor Protein) clivé par deux protéases (β - et γ -protéase).

Chez les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer, le peptide A β s'accumule anormalement et forme des dépôts extracellulaires.

Initialement, ces peptides se déposent de façon inorganisée formant ce qu'on appelle des plaques diffuses. Ces plaques n'interagissent pas encore avec les neurones, astrocytes et microglies les entourant.

Au fur et à mesure de la pathologie, les plaques se condensent, s'organisent et commencent à interagir avec les cellules neuronales environnantes.

Ces plaques dites primitives continuent leur évolution et constituent éventuellement les plaques séniles constituées d'un cœur de peptide A β entouré d'un enlacement de peptide et neurones dystrophiques.

A l'état final, il ne reste plus qu'une plaque atrophiée et extrêmement dense. Ces plaques « burned-out » sont peu nombreuses et vierge d'éléments cellulaires.(Cotman & Pike, 1994)

2- Les dégénérescences neurofibrillaires

Les dégénérescences neurofibrillaires résultent de l'agrégation intraneuronale de protéines Tau hyperphosphorylées.

La protéine Tau est présente abondamment dans les neurones, principalement les axones. Elle permet la régulation et la stabilité du réseau de microtubules en s'y liant permettant le transport neuronal des vésicules vers les synapses. La seule modification post-transcriptionnelle de cette protéine est la phosphorylation.

Lorsque le peptide Tau est hyperphosphorylé, il est emprisonné dans les microtubules et perturbe le transport des vésicules. Peu à peu il diminue la fonctionnalité des axones et des dendrites. De plus le peptide hyperphosphorylé s'auto-aggrège formant des agrégats intermédiaires, des paires de filaments hélicoïdaux et enfin de dégénérescences neurofibrillaires.

La phosphorylation de ce peptide est régulée par des kinases et des phosphatases. Il est décrit que le peptide A β induit la cascade d'hyperphosphorylation du peptide Tau par les kinases.(Fan & Chiu, 2010)

D) Les neuromédiateurs

Les multiples déficiences en neuromédiateurs observées chez les patients souffrant de la MA sont du à la localisation des axones en cause (cortex) et non à la vulnérabilité cytochimique des cellules productrices de neuromédiateurs. Il est concevable, vu la complexité et la diversité des symptômes comportementaux, que plus d'un neurotransmetteur soit mis en cause pour un type de comportement particulier. L'équilibre entre les différents neurotransmetteurs doit être important pour ne pas modifier les fonctions.

Noradrénaline:

La quantité de Noradrénaline se trouve réduite au niveau sous-cortical (hypothalamus) contrairement au niveau cortical où elle ne se voit pas modifiée par rapport à un sujet sain. Le locus ceruleus est le nucleus majeur d'origine noradrénergique, les neurones dorsaux innervent les structures corticales tandis que les neurones caudaux et ventraux se projettent vers le cerebellum et l'épine dorsale. Les propriétés anatomiques et physiologiques des neurones noradrénergiques ont amené à dire que ce nucleus du tronc cérébral est impliqué dans les phénomènes de sommeil, attention, mémoire et vigilance. Mais le rôle exact de la noradrénaline dans les symptômes comportementaux dus à la maladie est flou malgré le fait que plusieurs études montrent une perte plus importante des neurones du locus ceruleus chez les patients souffrant de la MA dépressifs. De plus, le maintien des fibres nerveuses noradrénergique et l'augmentation des récepteurs α_2 dans le cerebellum correspondent au comportement agressif chez les patients souffrant de la MA.

La quantité de récepteurs α_1 ne se trouve pas modifiée en comparaison au cerveau âgé sain contrairement aux récepteurs α_2 qui se voient augmentés dans le cerebellum comme vu précédemment mais diminués dans les neurones allant du locus ceruleus au tronc cérébral. (Lanari et al., 2006)(Young & Penney, 1994)(Francis et al., 1994)

Dopamine:

La dopamine provient de cellules nerveuses localisées dans le mésencéphale. Elle est présente dans le tronc cérébral, particulièrement dans les ganglions basaux. Elle est impliquée dans le contrôle moteur et dans la modulation de l'activité des centres limbiques. Il est généralement accepté que l'association des ganglions basaux avec le cortex cérébral contribue à la coordination des différents aspects comportementaux.

Bien que le noyau caudal ne soit pas plus atrophié chez les patients souffrant de la MA que chez les individus âgés sains, le taux de dopamine est inférieur. Au niveau cortical les taux ne sont pas affectés de manière flagrante. Il s'en suit une attitude agressive, comme des psychoses.

Les neurones dopaminergiques présents dans la substance noire sont diminués. En fait, un cinquième à un tiers des patients atteints de la maladie d'Alzheimer présentent également des syndromes parkinsoniens. La quantité totale de récepteurs dopaminergiques de type D1 ne se voit pas modifiée dans cette pathologie, mais le ratio entre les récepteurs de haute affinité par rapport à ceux de basse affinité est anormale avec une diminution du taux de récepteur de haute affinité. Cette diminution se retrouve essentiellement au niveau de l'hippocampe. (Lanari et al., 2006)(Young & Penney, 1994)(Francis et al., 1994)

Sérotonine:

Les concentrations de sérotonine sont diminuées au niveau sous cortical. En revanche il est plus difficile d'affirmer une modification du taux de sérotonine au niveau cortical chez les patients souffrant de la MA. Les différences dans le système sérotoninergique ont été spécifiquement impliquées dans certaines modifications du comportement comme la dépression, l'anxiété, l'agitation, l'agressivité. Des taux de sérotonine inférieurs à la normale ont été retrouvés chez des patients souffrant de la MA souffrant de troubles psychotiques.

La quantité de récepteurs sérotoninergique se voit également modifiée. Les récepteurs 5HT1A sont moins présents dans le cortex pariétal, les 5HT2 sont toujours aussi présents mais les liaisons se font différemment dans toutes les couches corticales. Il n'y a par contre pas de modification pour le récepteur 5HT3. Cependant, de nombreuses études se contredisent dans leur résultats, il est nécessaire d'approfondir l'étude des récepteurs 5HT chez les patients souffrant de la MA.

Acétylcholine:

Il a été postulé que la maladie d'Alzheimer était une maladie du système cholinergique de la même façon que la maladie de parkinson est une pathologie du système dopaminergique. Il était alors

suggéré que les plaques résultaient d'une dégénérescence des fibres cholinergiques. Mais cette hypothèse fut rapidement mise en doute au motif qu'une pathologie aussi complexe ne pouvait pas être causée par une défaillance d'un seul neurotransmetteur. La perte de neurones cholinergiques n'est pas la première étape de la pathologie mais en est une composante majeure.

Les concentrations d'acétylcholine sont diminuées majoritairement dans le lobe temporal (-75%) mais également dans le reste du cortex et du système limbique. Les enzymes cholinergiques se trouvent également diminuées dans les structures corticales.

Les études portant sur les récepteurs cholinergiques montrent que la quantité de récepteurs nicotiques se voit diminuée surtout dans les lobes temporaux. Par contre, pour les récepteurs muscariniques, la diminution de leur nombre est soit légère soit inexistante. (Geula & Mesulam, 1994)

L'importance du système cholinergique dans les émotions et la mémoire est cohérente avec la concentration normalement importante des axones cholinergiques dans les régions limbiques du cerveau. Le déclin de la mémorisation est donc en corrélation avec la diminution du nombre de neurones cholinergiques dans ces régions.

Des études portant sur la neurobiologie des symptômes neuropsychiatriques et plus précisément du rôle de l'acétylcholine suggèrent que:

a) Le déficit cholinergique contribue à plusieurs des manifestations neuropsychiatriques les plus importantes de la pathologie;

b) Les agents cholinergiques ont des propriétés psychotropiques et réduisent les perturbations comportementales des patients souffrant de la MA;

c) Les agents cholinergiques ont des bénéfices psychotropiques par leurs effets sur les structures frontales et temporales impliquées dans la médiation des comportements émotionnels.

Les observations pharmacologiques, biochimiques et structurales suggèrent le rôle du déficit cholinergique dans le développement des psychoses lors de maladie d'Alzheimer. La diminution du taux d'acétylcholine est plus marquée dans les lobes temporaux. Les régions fronto-temporales sont impliquées dans la pathogénie de psychoses de plusieurs pathologies. L'occurrence de psychoses est en corrélation avec le déficit cholinergique de ces régions mais moins avec les changements histopathologiques qui sont plus marqués dans le cortex pariétal. (Lanari et al., 2006)

GABA:

La quantité d'acide γ -aminobutyrique, neuromédiateur inhibiteur, ne se voit pas modifiée chez les patients souffrant de la MA, quelle que soit la localisation.

Les patients atteints d'Alzheimer présentent une liaison aux récepteurs GABA diminuée, ce qui est relié à la dégénérescence neuronale. Au niveau de l'hippocampe la diminution est encore remarquable et est corrélée au nombre de dégénérescences neurofibrillaires. Les récepteurs GABA_B ont peu été étudiés mais la diminution de leur nombre dans les couches II, III et V du cortex est visible. Certains récepteurs GABA_B présynaptiques se trouvent sur des synapses glutamatergiques, il est possible que leur diminution reflète la perte de ces synapses. (Young & Penney, 1994) (Francis et al., 1994)

Glutamate:

Le glutamate est utilisé comme médiateur excitant dans de nombreuses voies de transmission, il permet la libération d'autres neurotransmetteurs.

Sa concentration est diminuée chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer au niveau de l'hippocampe, du cortex temporal surtout dans la couche III du cortex où se font les connexions cortico-corticales.

Le nombre de récepteurs se voit diminué dans les aires les plus pathologiques et les récepteurs NMDA liés à l'adényl-cyclase sont surtout atténués au niveau du cortex et de l'hippocampe, suggérant que ces récepteurs soient localisés préférentiellement sur les dendrites distales des

neurones les plus vulnérables.(Francis et al., 1994)(Young & Penney, 1994)

E) Anatomie

La maladie d'Alzheimer se caractérise anatomiquement par une atrophie de l'écorce cérébrale localisée surtout aux régions pariéto-temporo-occipitales, des lésions de l'hippocampe et une dilatation des ventricules cérébraux.

1- L'écorce cérébrale

Le cortex ou écorce est la partie superficielle du cerveau, une coquille de substance grise, enveloppant la substance blanche. Il est constitué chez l'homme de six couches et renferme les neurones, interneurones et cellules gliales.

De la surface au cœur:

I. La couche moléculaire contient des axones et des dendrites: les neurones des couches internes y envoient des dendrites courts perpendiculaires à la surface et des axones longs parallèles à la surface.

II. La couche granulaire externe contient des neurones granulaires qui reçoivent les afférences d'autres aires. Il s'agit des connexions cortico-corticales afférentes.

III. La couche pyramidale externe constituée de cellules pyramidales qui émettent des connexions vers d'autres aires, des connexions cortico-corticales efférentes.

IV. La couche granulaire interne contient des neurones étoilés et pyramidaux qui permettent de recevoir les informations provenant de l'extérieur du cortex ainsi que les afférences de l'autre hémisphère cérébral.

V. La couche pyramidale interne qui permet d'envoyer des connexions efférentes sortant du cortex, par exemple vers les motoneurones.

VI. La couche polymorphe qui envoie des prolongements axonaux vers le thalamus pour avoir une rétroaction à partir des données que le cortex cérébral reçoit.(Ramon y Cajal, 1899)

2- Le lobe pariétal

Le lobe pariétal est situé à l'arrière du lobe frontal (séparé par le sillon central), et au dessus des lobes occipitaux (séparé par la circonvolution pariéto-occipital) et temporal (séparé par le sillon latéral). Les aires localisées dans le lobe pariétal intègrent les stimuli somatosensitifs pour la reconnaissance et le rappel des formes, textures et poids, la relation visio-spatiale, en intégrant ces perceptions aux autres sensations afin de créer la conscience des trajectoires des objets en mouvement. Ces aires participent au phénomène de proprioception. Certaines sont impliquées dans des capacités telles le calcul, l'écriture, l'orientation droite-gauche.(Auchus, 2011)

3- Le lobe temporal

Le lobe temporal est situé à l'arrière des lobes frontaux et sous le lobe pariétal. Il s'en sépare par le sillon latéral (anciennement scissure de Sylvius).

Les lobes temporaux font partie intégrante de la perception auditive, la composante sensorielle du langage, la mémoire visuelle, la mémoire déclarative et les émotions.(Auchus, 2011)

Le lobe temporal médian est impliqué dans la mémorisation (surtout l'hippocampe qui est essentiel à la mémoire déclarative et spatiale) et les émotions (l'amygdale a un rôle dans le côté affectif et émotionnel de la mémoire), les traitements visuels impliquant des stimuli complexes comme la reconnaissance des visages, l'analyse des scènes visuelles complexes ainsi que la perception et la reconnaissance des objets s'effectuent dans le cortex inférotemporal.(wikipédia 2011)

4- Le lobe occipital

Le lobe occipital se situe en arrière, au dessous du lobe pariétal (séparé par la circonvolution pariéto-occipitale) et derrière le lobe temporal (séparé par la circonvolution préoccipitale).

Le lobe occipital renferme l'aire visuelle primaire, entourée par l'aire visuelle associative, où sont intégrés les stimuli visuels.(Sherwood, 2000)

5- L'aire associative pariéto-temporo-occipitale

Elle est située au croisement de ces trois lobes. Là, le cortex accumule et intègre les informations d'origine visuelle, auditive et somatique et les fait évoluer vers une perception complexe. Cela permet de connaître la situation des diverses parties du corps dans son environnement. Cette aire est liée à l'aire de Wernicke (à la jonction de trois lobes dans l'hémisphère gauche) qui est le siège de la compréhension du langage parlé et écrit.(Sherwood, 2000)

6- L'hippocampe

L'hippocampe, qui fait partie du système limbique, est situé dans la face interne du lobe temporal. Il est essentiel à l'intégration des nouvelles données consolidant la mémoire à long terme en permettant de les stocker temporairement avant leur transfert dans d'autres régions du cortex.

Il est également impliqué dans la mémoire déclarative, mémoire des faits enregistrés après une seule expérience.(Sherwood, 2000)

Les lésions que l'on retrouve sont des plaques séniles qui se forment sur l'hippocampe.

7- Les ventricules cérébraux

Les ventricules cérébraux sont des cavités situées dans l'encéphale. Ils sont tapissés de cellules de l'épendyme qui contribuent à la formation du liquide céphalo-rachidien dans lequel est baigné l'encéphale. (Sherwood, 2000)(Garnier Delamare, 2004)

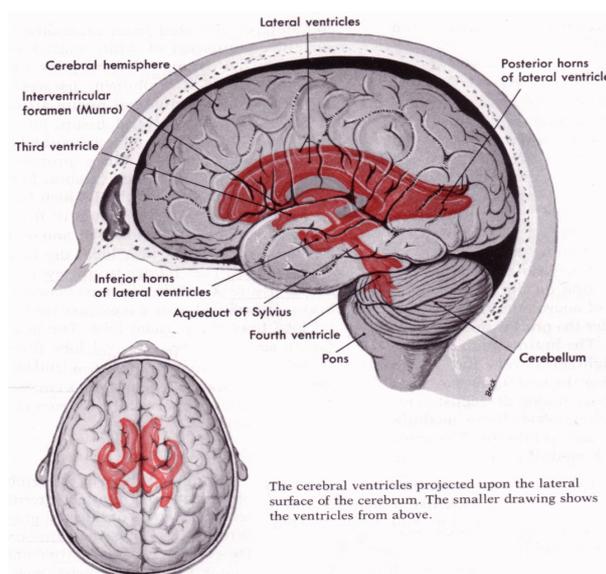


Illustration 4: Emplacement des ventricules cérébraux

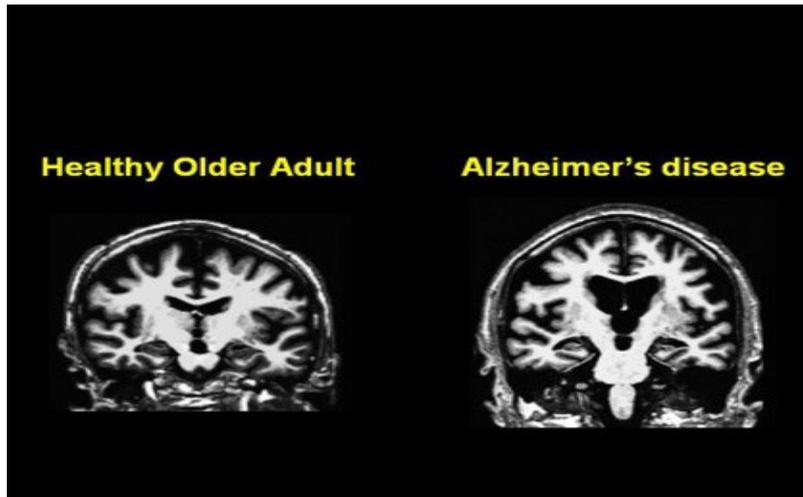


Illustration 5: Comparaison entre les ventricules cérébraux d'un témoin sain (gauche) et d'un patient souffrant de MA (droite).

F) Facteurs de risques

La maladie d'Alzheimer est une pathologie récente dans notre histoire. Les premières découvertes majeures sur son développement physiopathologique ne datent que d'une vingtaine d'années et aujourd'hui la compréhension des différents mécanismes impliqués progresse à grands pas même si l'origine de cette maladie reste encore peu comprise.

1- Facteurs de risque vasculaires:

Des études épidémiologiques suggèrent un lien entre les formes tardives de la maladie d'Alzheimer et les maladies vasculaires. Un facteur central est le risque de développement des perturbations hémodynamiques sévères de la vascularisation cérébrale allant jusqu'à une hypoperfusion. Un flux sanguin insuffisant peut contribuer à une augmentation du stress oxydatif provoquant des dommages cellulaires et une altération des fonctions neuronales. L'augmentation du stress oxydatif est un des changements pathologiques les plus précoces dans les cas tardifs. L'hypoperfusion contribue également à la formation des plaques de peptides A β et des neurofibrilles. Les cas tardifs de maladie d'Alzheimer peuvent être vus non pas comme une seule entité pathologique mais comme un assemblage de plusieurs maladies ayant une issue commune. Pour cela, une compréhension importante de la façon dont ces différents facteurs contribuent à l'expression de la maladie est nécessaire. Des liens entre les différents facteurs de risques sont le stress oxydatif ainsi que la neuroinflammation. Nous explorerons dans les parties ultérieures cette facette du mécanisme pathologique (McNaull et al., 2010)

De nombreuses pathologies traitables peuvent entraîner une augmentation du risque d'apparition de la pathologie. On retrouve les accidents vasculaires, le diabète, l'hypertension et l'hypercholestérolémie (tous deux à un âge moyen), c'est pourquoi l'inactivité physique, l'obésité, la prise d'alcool et le tabac sont des facteurs de risques importants également pour les démences séniles.

a- Cholestérol

La concentration de cholestérol dans les membranes des cellules impliquées a une importance dans le maintien de l'équilibre entre les activités des α - et β -sécrétases et leurs conséquences sur le taux de génération du peptide amyloïde. L'APP comme l'A β sont en partie associée à des domaines riches en cholestérol, ce qui se traduit par une augmentation de la production d'A β lors d'une augmentation de la concentration de cholestérol. Inversement, les plaques amyloïdes affectent la synthèse de cholestérol ou son efflux et sa concentration dans les membranes. Il est possible qu'il y ait un cycle de feedback négatif dans lequel l'élévation du cholestérol augmente la production d'A β qui inhibe ensuite la synthèse de cholestérol. Le taux de phosphorylation de Tau est également affecté par le niveau de cholestérol, en effet elle est stimulée par un taux bas de cholestérol.

Des taux augmentés de cholestérol vers la quarantaine ont été liés à des formes de MA lors d'autopsies. Le traitement de lapins et de souris avec des alimentations riches en cholestérol montrent une accumulation cérébrale de dépôts amyloïdes. (Björkhem et al., 2010)

b- Hypertension

La relation entre une haute pression sanguine, les fonctions cognitives et les démences a été sujette à beaucoup d'études cliniques et épidémiologiques. L'hypertension (pression systolique >140 mm Hg et/ou pression diastolique <90 mm Hg) est un facteur de risque pour beaucoup de pathologies telles que les accidents vasculaires, l'athérosclérose, les infarctus du myocarde, les pathologies

cardiovasculaires et également la MA. Le pourcentage d'individus atteints est estimé à 25% et monte à 50% chez les personnes de plus de 70 ans. Epidémiologiquement, il a été observé que l'apparition d'une hypertension devançait l'apparition de la MA d'environ 30 ans, cependant la relation est complexe et ne suit pas une progression linéaire. C'est surtout quand l'hypertension se manifeste à un âge jeune (quarantaine) que le risque de développer cette maladie est augmenté. Ce facteur de risque ne cause pas indépendamment la pathologie mais lorsqu'il est associé à des maladies cardiovasculaires ou des accidents vasculaires, le risque d'apparition s'en voit augmenté.

De nombreuses études ont confirmé que l'hypertension ou une pression artérielle élevée vers la quarantaine et après, a un rôle important dans le dysfonctionnement cognitif et est associé à une augmentation d'apparition de maladie d'Alzheimer et de démences.

Un lien entre la physiopathologie d'Alzheimer et l'hypertension a également été observé. L'imagerie médicale a été utilisée comme outil pour montrer la corrélation entre une forte pression systolique et l'atrophie des lobes temporaux, de l'hippocampe, une diminution du poids cervical ainsi qu'une abondance de plaques amyloïdes au niveau de l'hippocampe et du cortex.

De plus, des patients avec une pression diastolique élevée présentent un plus grand nombre de neurodégénérescences dans l'hippocampe. L'hypothèse actuelle est que l'apparition de ces pathologies précède le début des démences puisque les plaques et les neurodégénérescences sont présentes chez des individus non déments hypertendus dans leur quarantaine.

Plusieurs théories sur l'implication de l'hypertension coexistent comme le fait que l'hypertension crée des altérations vasculaires menant à des infarctus lacunaires ou corticaux puis un déclin cognitif, ou bien qu'elle mène vers des maladies cardiovasculaires précédant l'apparition de la maladie d'Alzheimer, ou encore que l'hypertension a des effets secondaires sur la santé neuronale et augmente la production d'A β ce qui entraîne un dysfonctionnement neuronal, une perte de synapses et neurones puis une démence.(Dickstein et al., 2010)

c- Diabète

Le diabète de type 1 est caractérisé par un déficit de production d'insuline par les cellules β pancréatiques. Un rapport de 33 études longitudinales suggère que ces individus ont un dysfonctionnement cognitif augmenté et un processus mental moins rapide. Le diabète de type 2 est caractérisé par une résistance aux effets de l'insuline, un lien entre cette pathologie et un déclin accéléré de la cognition a été observé dans de nombreuses études. Trois mécanismes pathologiques ont été proposés pour expliquer ce lien.

1) Les individus diabétiques ont un risque accru de développer des démences par des accidents ischémiques cérébraux-vasculaires. Le dt2, qui est plus répandu chez la population âgée, peut engendrer plusieurs facteurs de risque de démence tels la résistance à l'insuline, l'obésité, l'hypertension qui peuvent constituer un syndrome métabolique. Cette association a été établie comme prédictive de maladie cérébrovasculaire et de démence.

2) L'hyperglycémie a des effets toxiques sur les neurones ce qui peut entraîner un déficit fonctionnel ou cellulaire dans le cerveau par l'intermédiaire du stress oxydatif et de l'accumulation de produits finaux de glycations (AGEs). Ces derniers sont des substances dérivées des sucres formées lors de réaction non enzymatique entre les sucres et les acides -aminés libres des protéines de l'ADN et des lipides. Ils sont produits normalement par l'organisme mais leur formation est augmentée chez des individus diabétiques à cause de la disponibilité accrue du glucose. Les données suggèrent que le premier événement initiant les produits finaux de glycation intra- et extra-cellulaire est l'hyperglycémie intracellulaire. Ces produits peuvent provenir de l'auto-oxydation intracellulaire qui forme des réactifs bicarbonylés. Il existe 3 mécanismes différents par lesquels les cellules cibles peuvent être endommagées par les AGEs intracellulaires. Les protéines intracellulaires sont

modifiés par les dérivés carbonyles, ce qui altère plusieurs fonctions cellulaires. Les protéines plasmatiques modifiées par les précurseurs des AGEs produisent des ligands se liant aux récepteurs, aux AGE présents sur les cellules endothéliales, ce qui augmente l'activation de la transcription de certains facteurs causant des variations pathologiques dans l'expression de certains gènes tel ceux des molécules pro-inflammatoires des cellules endothéliales. De plus ces liaisons peuvent amener à l'hyperperméabilité des capillaires causée par le diabète.

3) La résistance à l'insuline est associée à l'hyperinsulinémie ce qui est un facteur de risque de démence. L'insuline est activement transportée à travers la barrière hémato-encéphalique et peut être également produite localement au niveau du cerveau. Ses récepteurs sont largement présents dans de nombreuses parties du cerveau comme le cortex et l'hippocampe. L'insuline agit au niveau du cerveau comme un modulateur de l'homéostasie énergétique et de la prise alimentaire. Les patients souffrant de la MA ont une activation augmentée des récepteurs à l'insuline dans le cerveau ce qui suggère qu'ils possèdent donc un cerveau résistant à l'insuline. Le métabolisme et le catabolisme du peptide A β sont directement affectés par l'insuline. Celle-ci stimule les trajets intracellulaires de l'A β dans les cellules neuronales donc augmente la sécrétion du peptide et diminue son taux intracellulaire.(Dickstein et al., 2010)

d- Inflammation

Les troubles dans la régulation des cytokines peuvent mener à des lésions neuronales par l'intermédiaire de nombreux mécanismes comme une neurotransmission altérée, l'apoptose et l'activation des microglies et astrocytes qui eux même provoquent une production de radicaux libres, des facteurs du complément, du glutamate et de l'oxyde nitrique. Des études postmortem de cerveaux de patients souffrant de la MA démontrent la présence de marqueurs de phase aiguë de l'inflammation (CRP, cytokines pro-inflammatoires, protéines de la cascade du complément) dans les plaques séniles et les neurodégénérescences à des concentrations élevées. A ce jour il a été remarqué que les cytokines sont impliquées dans l'expression et l'évolution de l'APP. L'inflammation semble amplifier plusieurs étapes de la cascade amyloïde. Il a également été observé que l'IL-1 augmentait la phosphorylation neuronale de Tau.(Tan & Seshadri, 2010)

Des études récentes sur des souris transgéniques (P301S Tau humain muté) ont établi que la pathologie synaptique au niveau de l'hippocampe et les microglies pourraient être des manifestations précoces des neurodégénérescences dues aux taupathies. Une activation importante des microglies précède la formation de fibrilles et une immunosuppression chez ces souris diminue la taupathie en augmentant leur durée de vie. Il a donc été conclu que la neuroinflammation est liée à la progression précoce des taupathies.

La toxicité neuronale associée à l'inflammation peut être un facteur de risque potentiel dans la pathogénie des neurodégénérescences chroniques comme la MA.(Metcalf & Figueiredo-Pereira, 2010)

2- Facteurs de risque sociaux

Des méta-analyses ainsi que des rapports d'études apportent des preuves solides que la réserve cognitive peut influencer l'apparition de la pathologie. En effet, un niveau d'éducation bas, une occupation de l'esprit et des activités mentales peu développées sont des facteurs de risque de troubles cognitifs. Plus la personne est instruite et entretient ses capacités cognitives, moins elle est sujette à la maladie d'Alzheimer. D'après une étude suédoise, de meilleurs liens et activités sociales semblent être associés à une incidence réduite de la pathologie mais ceci doit encore être étudié dans de plus larges cohortes.

3- Les gènes responsables

a- APP (Amyloid Precursor Protein)

Le gène de l'APP est localisé sur le chromosome 21q21 et est alternativement transcrit en plusieurs produits, nommés en fonction du nombre d'acides aminés qu'ils possèdent, puis exprimés différemment en fonction du tissu. Dans la maladie d'Alzheimer, 3 isoformes sont les plus importantes l'APP695 présente uniquement dans le SNC ainsi que l'APP751 et l'APP770 présents dans le SNC et le système périphérique.

La protéolyse de l'APP par l' α -sécrétase ou la β -sécrétase mène à la sécrétion d'un fragment soluble de peptide α - ou β -amyloïde. Cette protéolyse génère des fragments C-terminaux de 10 et 12 Kda. Ces fragments peuvent être coupés par les γ -sécrétase dans la membrane des cellules afin de libérer au niveau intracellulaire un fragment cytoplasmique, le domaine intracellulaire de l'APP et extracellulairement le peptide A β . Dans la majorité des formes familiales, des mutations génomiques ont lieu pour que le niveau de peptide A β 42 augmente par rapport aux autres peptides A β . La première mutation caractérisée est localisée dans le domaine transmembranaire près du site de clivage de l' γ -sécrétase, localisation majoritaire parmi les autres mutations et associée à la variation des niveaux de peptides A β . (Bekris et al., 2010)

b- Préséniline 1 (PSEN1)

Les défauts dans ce gène causent les formes les plus sévères de cette pathologie débutant aux âges les plus jeunes (à partir de 30 ans). La maladie d'Alzheimer associée à ce gène est un désordre neurodégénératif autosomal dominant caractérisé par une démence progressive, un syndrome parkinsonien, une modulation du signal ainsi qu'une génération de domaine A β intracellulaire.

Le gène est localisé sur le chromosome 14q24,2 et possède 12 exons. Il se traduit par une protéine membranaire formant le cœur catalytique de la γ -sécrétase.

La majorité des mutations recensées sont des mutations faux-sens qui causent une substitution d'acide-aminés dans la protéine de PSEN1 résultant en une augmentation du ratio d'A β 42 par rapport à l'A β 40. (Bekris et al., 2010)

c- Préséniline 2 (PSEN2)

Contrairement aux mutations faux sens de la PSEN1, les mutations faux-sens de la PSEN2 sont une cause plutôt rare de maladie d'Alzheimer familiale. Les personnes atteintes ne voient la pathologie apparaître que vers 50 ans au minimum. De plus cet âge varie d'un membre à l'autre de la famille contrairement à la PSEN1.

Le gène, localisé sur le chromosome 1q42,13, comprend 12 exons dont 10 sont transcrits dans une multitude de cellules parmi lesquelles on retrouve les neurones. Il se traduit par une protéine faisant également partie de la γ -sécrétase.

14 mutations du gène de la PSEN2 ont à ce jour été découvertes. Comme pour la PSEN1 il s'agit de mutations faux-sens qui se manifestent par une augmentation du ratio des peptides A β en faveur du 42. (Bekris et al., 2010)

En plus d'augmenter le ratio, les présénilines ont un rôle dans l'inflammation des cellules neuronales. L'activité enzymatique de la γ -sécrétase participe à la réponse pro-inflammatoire des microglies et l'inhibition de ce complexe enzymatique mène à un état pro-inflammatoire anormalement élevé dans les microglies.

Dans les microglies, les deux présénilines sont complémentaires l'une de l'autre, lorsque l'expression de l'une est diminuée, une augmentation de l'expression de l'autre a lieu.

Malgré cet équilibre entre ces deux composants de la γ -sécrétase il est noté une différence par rapport à l'activité enzymatique. En effet une baisse de PSEN1 amène à une importante

augmentation de l'activité alors qu'une diminution de la PSEN2 apporte une inhibition marquée du clivage de l'APP même si leur microglies expriment plus de PSEN1 que les sujets sains. Le clivage de l'APP dans les microglies est majoritairement contrôlé par la PSEN2.

Il a été observé chez des souris transgéniques, qu'une expression diminuée de la protéine PSEN2 contribuait à une augmentation de la libération de cytokines pro-inflammatoires au niveau des microglies. De plus, des signaux pro inflammatoires lors de neurodégénérescences contribuent à la neurotoxicité mais induisent également l'expression de la PSEN2 tel un mécanisme régulateur. (Bekris et al., 2010)

d- APOE

Il n'y a pas de mutation génétique responsable directement du développement de la pathologie. Il a été montré que la présence de l'allèle $\epsilon 4$ sur le gène de l'apolipoprotéine E augmentait le risque de développer les symptômes, mais elle n'est ni nécessaire ni suffisante pour causer des cas sporadiques de la maladie. Cela se traduit plutôt par un chaperon moléculaire facilitant l'agrégation des peptides $A\beta$.(McNaull et al., 2010)

Ce gène a été associé dans de nombreuses études à des cas familiaux ainsi que sporadiques de la MA. Il est situé sur le chromosome 19q13.2 et possède 4 exons. 3 allèles coexistent, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ et $\epsilon 4$ qui codent 3 protéines différentes APOE2, APOE3 et APOE4. L'isoforme la plus fréquente est l'APOE3 qui possède une cystéine et une arginine aux positions 112 et 158 alors que l'APOE2 ne possèdent que des cystéines et l'APOE4 des arginines. Ceci confère aux trois isoformes des structures tridimensionnelles différentes, donc un site de liaison aux lipides particulier pour chacune.

Alors que les protéines APOE2 et 3 se lient préférentiellement aux HDL (lipoprotéine de haute densité), l'APOE4 se lie aux VLDL (lipoprotéines de très faible affinité). Cette variation affecte la capacité de l'APOE à participer à la prolifération, la synaptogénèse et la myélinisation des axones. Les personnes possédant une ou deux allèles $\epsilon 4$ ont plus de risques d'être atteints de la pathologie, en comparaison avec les autres isoformes, et celle-ci apparaît plus précocement.

Un grand nombre d'études démontre que la présence de l'APOE4 affecte la majorité des événements pathologiques apparaissant pendant la maladie (génération et dépôts de peptides $A\beta$, formation de neurofibrilles, survie neuronale, homéostasie lipidique, transmission intracellulaire). En ce qui concerne la génération de peptide $A\beta$, l'APOE4 stimule le recyclage de l'APP par endocytose donc une augmentation net de sa production. Au contraire les APOE2 et 3 ont un rôle protecteur en inhibant l'agrégation du peptide et/ou son élimination.

Des études in vitro montre que l'APOE3 et non la 4 forme des complexes stables avec la protéine Tau non phosphorylée. Il a donc été suggéré que la présence de l'APOE3 chez un individu peut prévenir l'hyperphosphorylation anormale de la protéine Tau observée lors de la maladie d'Alzheimer et donc la déstabilisation du cytosquelette neuronal. De plus la forme tronquée de l'APOE4 est neurotoxique et stimule la phosphorylation de Tau.

La capture du cholestérol par les cellules neuronales est plus faible quand les lipides sont liés à l'APOE4. Celle-ci est moins efficace pour stimuler le flux sortant des astrocytes et des cellules neuronales.(Bekris et al., 2010)

e- Autres gènes impliqués

De nombreux gènes sont actuellement étudiés afin de voir leur implication dans l'expression de la MA. Ces gènes sont impliqués dans la forme sporadique de la pathologie et sont souvent associés à l'APOE $\epsilon 4$ ainsi qu'entre eux.

Aussi allons-nous voir succinctement les principaux gènes secondaires.

CLU:

Le gène de la clusterine ou de l'apolipoprotéine J a été le premier gène découvert après celui de l'APOE ayant une implication dans la pathologie. Plusieurs propriétés de CLU, une apolipoprotéine abondamment exprimée dans le cerveau, sont directement connectées au peptide A β . Présente dans les dépôts, son expression est augmentée dans plusieurs régions cervicales. Elle agit comme un chaperon du peptide en bloquant l'agrégation du peptide A β 42. Cependant, cela dépend du ratio entre le peptide et CLU, celle-ci peut accroître ou prévenir la formation de fibrilles amyloïdes et la cytotoxicité. Elle sert également d'intermédiaire pour l'élimination du peptide au niveau de la barrière hémato-encéphalée en augmentant l'endocytose dans les cellules gliales.(Bettens et al., 2010)

PICALM:

Ce gène code la protéine de liaison entre la clathrine et le phosphatidylinositol. Son rôle précis dans la pathologie est peu clair, il serait en lien avec l'APP (endocytose), la fusion synaptique et la mémorisation (protéine de membrane associée aux vésicules)(Bettens et al, 2010)

CR1:

Le gène du récepteur à la protéine C3b du complément. Ce gène est lié à la pathologie par l'activation de la cascade du complément C3 induite par les dépôts d'A β fibrillaires. Les peptides A β 42 circulants sont éliminés grâce à l'adhérence au récepteur CR1 (liée au peptide 3b) présent sur la surface de l'érythrocyte. Ce processus est diminué chez les patients souffrant de la MA par rapport aux individus sains. Chez les souris transgéniques, une inhibition du complément C3 amène à une augmentation des dépôts A β et des neurodégénérescences, ce qui suggère un rôle protecteur du système du complément chez les patients souffrant de la MA.(Bettens et al., 2010)

SORL1:

Le gène du récepteur neuronal lié à la sortiline est un gène de susceptibilité d'Alzheimer sporadique. Il est localisé sur le chromosome 11q23.2-q24.2 et code une protéine membranaire exprimée dans les neurones des systèmes nerveux centraux et périphériques. Cette protéine appartient à une famille de récepteurs aux VPS (vacuolar protein-sorting: des vacuoles spécifiques à une protéine) qui permettent le trajet de l'APP de la surface cellulaire au complexe réticulum-endoplasmique de l'appareil de Golgi. Ces domaines sont importants pour la génération de peptide A β , l'un des coupables de la pathologie.

Chez les patients souffrant de la MA l'expression de cette protéine est diminuée au niveau neuronal. Des études ont montré que cette diminution modulait la voie de l'APP et amenait à une surproduction d'A β .(Reitz et al., 2011a)(Reitz et al., 2011b)

La forme sporadique de la maladie étant une forme hétérogène, elle met en jeu de nombreux gènes qui sont actuellement encore à l'étude. Plusieurs GWAS(genome-wide association studies) sont en cours, elle permettent une approche puissante pour l'identification de ces gènes impliqués dans les désordres complexes comme les formes sporadiques.(Belbin et al., 2011)

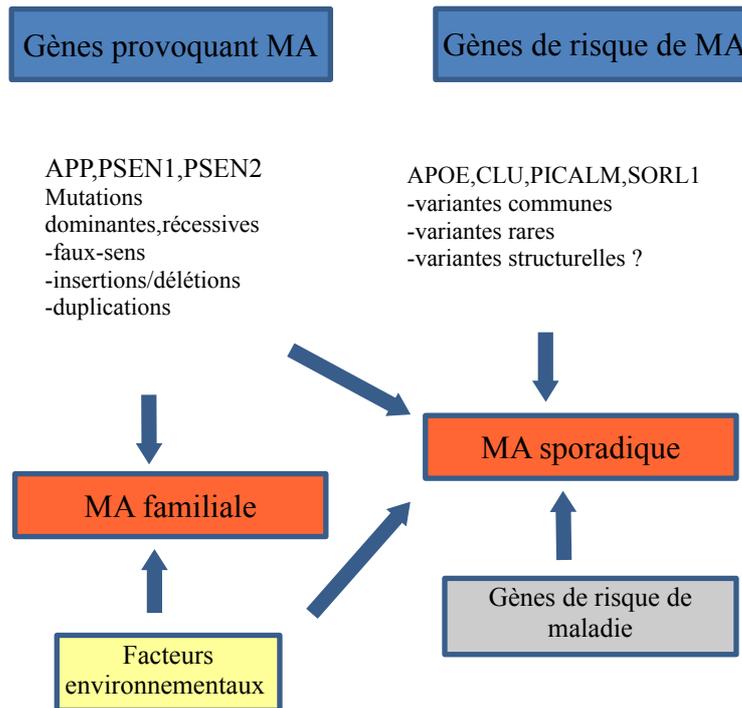


Schéma 1: Récapitulatif des gènes impliqués dans la MA. (Bettens et al., 2010)

3- Le stress oxydatif

On trouve dans la littérature beaucoup de données montrant le rôle des dommages oxydatifs dans la pathogénie de cette maladie et les dommages oxydatifs contribuent probablement à la pathologie liée la MA. Les dommages oxydatifs ont lieu précocement dans le cerveau des patients souffrant de MA avant l'apparition des plaques significatives. Les dommages oxydatifs précèdent également les dépôts d'A β dans les souris transgéniques ainsi qu'une augmentation de la traduction des gènes liés au métabolisme mitochondrial et de l'apoptose cellulaire.

Dans des souris transgéniques présentant une mutation de l'APP, une déficience de Mn-SOD marquait une augmentation des taux d'A β et de plaques.

Le stress oxydatif peut activer des voies de signalisation qui altèrent les processus d'APP et de protéine Tau. Par exemple, il augmente l'expression des β -sécrétases par l'activation de kinases et augmente les phosphorylations aberrantes de la protéine Tau.

L'inactivation de certaines molécules critiques peut également être importante. (Wu et al., 2010)

Les cerveaux des patients souffrant de MA ont des marques importantes de dommages oxydatifs associées à des amas d'A β et des neurofibrilles. La version originale de l'hypothèse amyloïde soutient que la forme fibrillaire de l'A β est le composant majoritaire des plaques séniles. Cependant depuis, de nombreux aspects de la MA n'ont pu être expliqués par les formes fibrillaires d'A β , la cascade amyloïdogénique a donc été modifiée afin de dire que la forme oligomérique de l'A β joue le rôle clé dans la pathogénie de la MA.

Certains chercheurs ont reporté que l'effet différentiel de l'A β dépendait du stade d'agrégation. Plus spécifiquement il a été démontré que les formes oligomériques d'A β , alors qu'elles augmentent les taux de HNE et de peroxyde d'hydrogène plus que les formes fibrillaires, n'ont aucun effet sur l'expression de BACE-1 et son activité, contrairement aux formes fibrillaires. En se basant sur ces

données, il a été proposé que l'A β agissait via un mécanisme neurotoxique biphasique, c'est à dire dépendant de la conformation, la forme oligomérique ayant des effets toxiques en induisant du stress oxydatif menant à la formation de formes fibrillaires d'A β qui augmente l'accumulation d'A β en induisant l'augmentation de l'expression et de l'activité de la BACE-1.

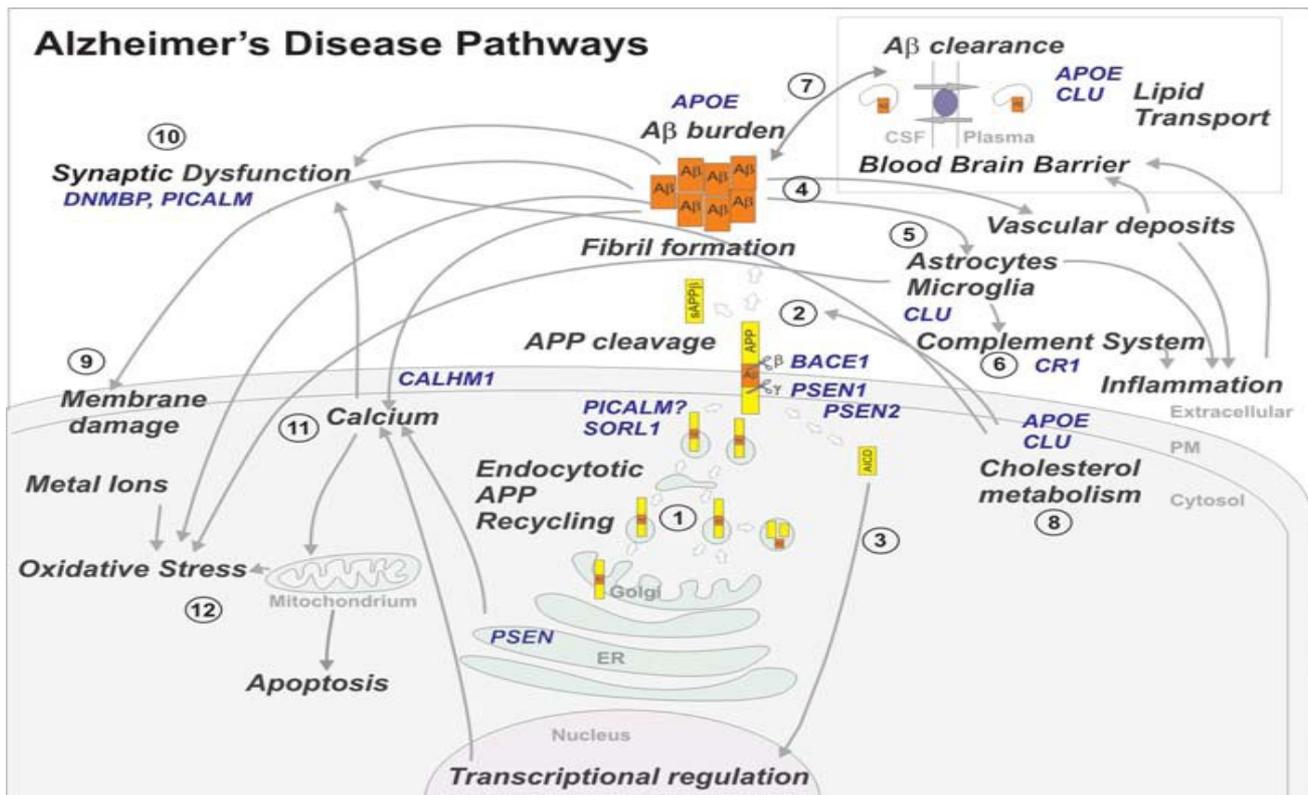


Schéma 2: Récapitulatif des voies pathologiques liées à la maladie d'Alzheimer. Les gènes de risque et causaux de la maladie d'Alzheimer sont en bleu. L'APP est synthétisée dans le réticulum endoplasmique(ER) et l'appareil de Golgi(1).En suivant la voie amyloïdogénique dans les neurones, l'APP est clivée par les β -sécrétases (BACE1) et les γ -sécrétases (PSEN) pour générer le peptide A β et le domaine amyloïde intracellulaire (AICD)(2)ce qui influence la transcription de plusieurs gènes (3).Dans la voie de recyclage de l'APP dans le retromer(1) l'APP est redirigé dans l'endosome par le SORL1.PICALM a un rôle présumé dans le recyclage endocytosolique. Les monomères d'A β s'agrègent en fibrilles d'A β en formant des plaques dans le parenchymes et les vaisseaux du cerveau(4). Le peptide A β active les microglies et les astrocytes stimulant le système du complément,une réponse inflammatoire locale et un stress oxydatif (5).CR1 est le récepteur de la protéine C3b du complément et participe à l'élimination du peptide A β de la circulation(6).En plus d'augmenter l'endocytose d'A β dans les cellules gliales,CLU participe à l'élimination d'A β au niveau de la barrière hémato-encéphalique(7)APOE augmente la formation de plaque amyloïde en changeant la conformation d'A β . La clusterine(APOJ) et l'APOE sont les principales protéines escortant l'A β dans le cerveau(7). Les deux sont également importantes pour le métabolisme du cholestérol au niveau des membranes neuronales (8)et un taux élevé de cholestérol intracellulaire peut augmenter le processus amyloïdogénique de l'APP(2) ce qui mène à des lésions membranaires(9).De plus un métabolisme du cholestérol augmenté peut influencer le dysfonctionnement synaptique(10).PICALM et DNMBP sont liés à la synapse(10). L'interaction des oligomères A β avec la membrane est également connectée à l'hypothèse calcique de la maladie d'Alzheimer(11). Le polymorphisme des canaux calciques lié au CALHM1 augmente la perméabilité de la membrane plasmatique (11).De plus les fonctions de la PSEN comme canal calcique font que des mutations d'apparition précoce augmente l'ouverture du canal et résulte en une accumulation de calcium dans le cytosol corrigée par les mitochondries tout en menant à une apoptose et du stress oxydatif (12)(Bettens et al., 2010)

III- Le lien entre stress oxydatif et MA

A) Définition

Le stress oxydatif est un état qui résulte d'un déséquilibre au sein d'un individu entre la production d'éléments oxydants et de mécanisme de défense antioxydante. Ce déséquilibre provient soit d'une surproduction d'agents oxydants soit d'une altération des mécanismes de défense dans une cellule, un compartiment cellulaire ou un organisme. (Barouki, 2006)(Morena et al., 2002)

1- L'oxygène

La molécule d'oxygène présente la particularité d'avoir la structure d'un biradical libre, en raison de ses deux électrons célibataires (de spin parallèle) situés sur les deux orbitales de plus grand énergie, à l'état fondamental.



Wigner en 1929
(prix Nobel 1963)

1. Les **singulets** (molécules à électrons uniformément appariés) **réagissent aisément¹ avec les doublets** (ou radicaux libres, caractérisés par la présence d' 1 électron non apparié), **mais leur réaction avec les triplets** (présence de 2 électrons non appariés) **est interdite.**
2. Les **doublets réagissent généralement plus lentement entre eux.**
3. Les **doublets réagissent lentement avec les triplets.**

¹ Sauf interdiction thermodynamique

Illustration 6: Règles de restriction de spin énoncées par Wigner.

Mais l'oxygène à l'état fondamental, état triplet, est inerte. En effet d'après les règles de restriction de spin, énoncées en 1929 par le physicien hongrois Wigner, une molécule à l'état triplet ne peut réagir avec une molécule à l'état singulet (électrons uniformément appariés) comme sont la plupart des molécules organiques.

Il existe des voies de contournement de cette restriction décrite dans la figure ci-dessous:

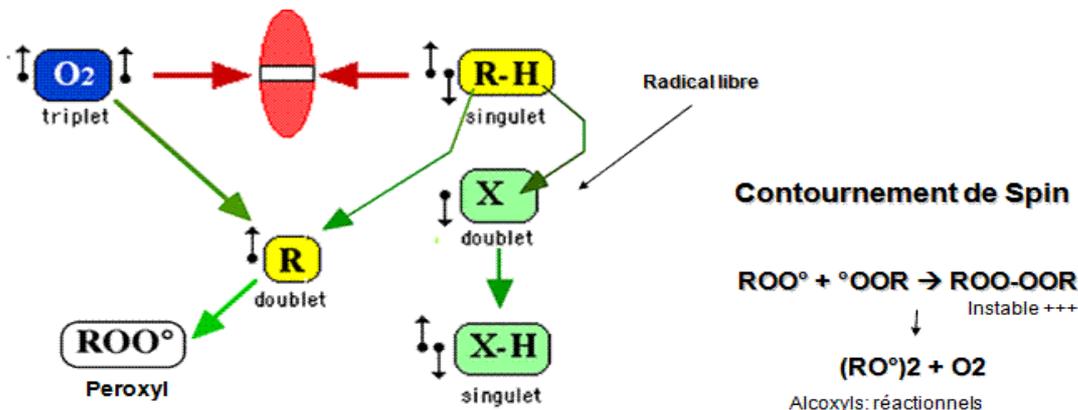


Schéma 3: Contournement de spins.

En haut, la réaction directe entre l'oxygène triplet (2 électrons célibataires symbolisés par deux flèches parallèles) et un singulet organique RH (tous ses électrons sont appariés) est empêchée par l'interdiction. Mais l'intervention d'un radical libre (doublet) X• peut enlever un hydrogène H• à RH, lequel devient à son tour un doublet R•, tandis que se forme le singulet X-H. Dès lors, la réaction est possible entre O₂ et R• qui forment un peroxyde.

2- Les espèces réactives de l'oxygène

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) dérivent du métabolisme de l'oxygène moléculaire. Le terme ERO regroupe l'ensemble des espèces radicalaires de l'oxygène mais également les composés non radicalaires. Les effets délétères de ces espèces dérivent de sa réduction métabolique qui produit ces espèces toxiques et hyper-réactives.

Les espèces radicalaires sont des espèces chimiques possédant un électron célibataire qui leur confère une réactivité vis-à-vis d'autres molécules. Il peut, soit arracher un électron (se comportant comme un oxydant), soit en céder un (agissant alors comme un réducteur). Cette première réaction conduit généralement à la formation en chaîne de nouveaux radicaux; ceci explique que la production d'un premier radical libre puisse causer d'importantes lésions dans une cellule.

Les EROs existent naturellement dans toutes les cellules aérobies en équilibre avec les antioxydants biochimiques où ils sont essentiels au bon fonctionnement cellulaire, ils pourraient être impliqués dans la prolifération cellulaire, la mort cellulaire programmée, et agiraient comme second messagers. Ceux-ci sont les radicaux libres primaires que l'on distingue des radicaux libres secondaires provenant des réactions des radicaux libres primaires avec les différentes cellules de l'organisme. (Waris & Ahsan, 2006)

a- Les espèces radicalaires

Ces espèces possèdent un électron célibataire et sont extrêmement réactives.

•Le radical Hydroxyle HO•

C'est le plus réactif des radicaux mais sa durée de vie et sa portée sont très courtes. Il diffuse donc très peu et agit uniquement sur son site de production entraînant ainsi de multiples dommages cellulaires. L'OH• apparaît comme l'espèce radicalaire ayant un rôle majeur dans la cytotoxicité des EROs.

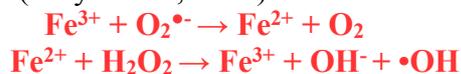
Il peut se former par réaction de Fenton, réaction d'Haber-Weiss ou sous l'effet de radiations ionisantes (rayons H ou γ)

Réaction de Fenton:



Le peroxyde d'hydrogène réagit avec des ions ferreux ou cuivreux en formant des radicaux hydroxyle et un ion hydroxyde. (Lloyd et al., 1997)

Réaction d'Haber-Weiss:



Ici la présence d'anion superoxyde qui régénère l'ion ferrique en ion ferreux permet de continuer la réaction de Fenton lors d'épuisement de ce dernier.

•L'anion superoxyde O₂^{•-}

L'anion superoxyde(O₂^{•-}) est un radical chargé négativement provenant de la réduction monovalente de l'oxygène moléculaire qui capte un électron. Cet électron provient généralement d'une fuite au niveau de la chaîne respiratoire mitochondriale. Nous approfondirons ultérieurement ce mécanisme en étudiant le rôle de la mitochondrie dans la production de EROs.

L'anion superoxyde peut également provenir de la réaction avec la NADPH:



Le radical superoxyde est moins réactif que le radical hydroxyle, mais sa durée de vie est plus longue et il peut diffuser loin de son lieu de production. De plus, il peut, comme nous l'avons vu, produire des espèces plus réactives. (Gardès-Albert & Jore, 2005)

•Le radical Hydroperoxyde HO_2^{\bullet}

C'est la forme protonée de l'anion superoxyde. L'anion superoxyde est en équilibre constant avec le radical perhydroxyle (HO_2^{\bullet}) qui est beaucoup plus oxydant que lui [$\text{pKa}(\text{HO}_2^{\bullet}/\text{O}_2^{\bullet-}) = 4,8$]. L'anion superoxyde peut être alors transformé soit spontanément, soit par la superoxyde dismutase en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2).

•Le monoxyde d'azote NO^{\bullet}

La production de NO^{\bullet} est la transformation enzymatique de la L-Arginine en L-citrulline grâce à une famille d'enzymes: Les NO synthases (NOS), des métalloenzymes possédant un groupement héminique.



Il existe trois isoformes de ces enzymes.

Deux d'entre elles sont des NOS constitutives produisant de faibles quantités de NO^{\bullet} en mode intermittent. Ce sont les NOS endothéliales et neuronales.

Le troisième isoforme est inductible, la iNOS génère en réponse à un stimulus inflammatoire, de grandes quantités de NO^{\bullet} selon un mode continu.

Dans des situations de forte concentration de NO^{\bullet} , ce dernier interagit avec le radical superoxyde pour former le peroxyde nitrite.

L'exposition moléculaire à de faibles concentrations de NO^{\bullet} est responsable de stress nitrosant. La présence de ce radical conduit à la S-nitrosylation du glutathion réduit intracellulaire. La cellule perd donc une grande partie de sa capacité de défense contre les EROs et ERN (espèces réactives de l'azote) (Blanc et al., 2005)

Le monoxyde d'azote dans la MA

Les niveaux de nitrates et nitrites sont diminués dans le cortex frontal des patients souffrant de la MA mais reste normaux dans le LCR et plasma en comparaison avec des personnes de même âge et sexe. Dans les neurofibrilles des patients souffrant de la MA, il a été détecté de la nitrotyrosine non trouvée dans les cerveaux sains, ce qui implique que le NO^{\bullet} et la formation du radical peroxyde nitrite font partie du lien entre la maladie et le stress oxydatif. La nitrotyrosine a été détectée dans les neurones et les vaisseaux sanguins des patients souffrant de la MA et se localise là où a lieu l'expression anormale des NOS neuronales dans les cellules corticales pyramidales. Les AGEs sont localisés au même endroit que les iNOs des patients souffrant de la MA chez qui il a été décrit une augmentation des taux cérébraux de 5-nitro- γ -tocopherol. Les taux de diméthyl-argininase qui intervient dans la régulation de l'activité de la NOS, augmentent dans les neurones des patients souffrant de la MA sujets à du stress oxydatif et sont diminués ou normaux dans leur LCR. La

production de NO par les macrophages humains semble stimulée tant par l'ApoE que par l'amyloïde β , ce qui augmente également la production de NO par les astrocytes. (Jiménez-Jiménez et al., 2006)

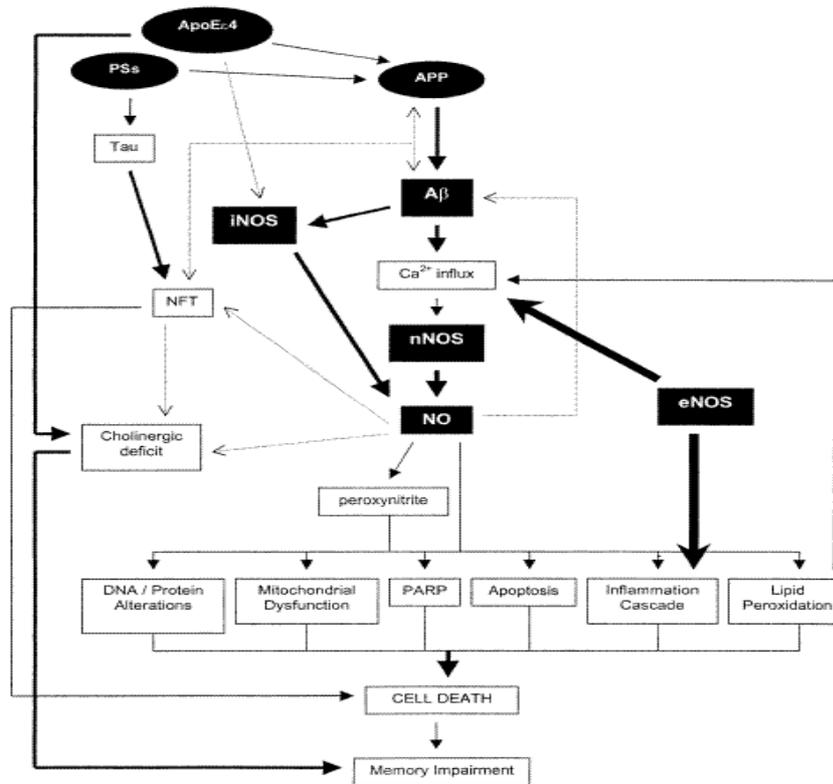


Schéma 4: La neurotoxicité et neuroprotection du monoxyde d'azote en lien avec la MA. Les mutations des PSEN et de l'APP sont associées à l'augmentation de la production du peptide $A\beta$. La formation des neurofibrilles est le résultat de l'hyperphosphorylation de tau, qui mène à la mort cellulaire. Les PSEN sont impliquées également dans le processus d'hyperphosphorylation de tau. L'APOE4 est un facteur de risque de la MA, il affecte la production d' $A\beta$ et un lien a été établi avec le déficit cholinergique. Ce dernier est impliqué dans le déclin de la mémoire observé. La production élevée d' $A\beta$ induit une production de NO soit en perturbant l'homéostasie calcique et donc en augmentant le taux de calcium intracellulaire soit en réagissant avec les cellules gliales. NO est un radical libre qui peut produire du peroxynitrite, celui-ci induit des mécanismes neurotoxiques tels des altérations ADN/Protéine, dysfonctionnement mitochondrial, hyperactivation de la poly ADP-ribose polymérase (PARP), apoptose, neuro-inflammation, et peroxydation lipidique. Ces mécanismes sont impliqués dans la mort cellulaire et les déficits cognitifs observés dans la MA. Plusieurs relations potentielles existent entre les différents marqueurs de la MA (pointillés). L'APOE4 active l'iNOS. La formation des neurofibrilles est influencée par l'accumulation d' $A\beta$ et vice versa, et le métabolisme de l'APP joue un rôle dans la phosphorylation de tau. NO, en activant des molécules de signal, induit la formation de neurofibrilles et d' $A\beta$. (Law et al., 2001)

b- Les espèces non radicalaires

•Le peroxyde d'hydrogène

C'est une molécule car tous ses électrons sont appariés mais il peut générer des radicaux hydroxyle par la réaction de Fenton en présence d'ion ferreux ou cuivreux ou d'Haber-Weiss en présence d'anion superoxyde.

Il se forme par dismutation de l'anion superoxyde sous l'action d'une enzyme, la superoxyde-dismutase (SOD):



C'est une molécule beaucoup plus stable que l'anion superoxyde et contrairement à ce dernier, il peut passer les membranes biologiques. Il peut donc se trouver éloigné de son site de production et produire des espèces réactives à ce nouvel emplacement.(Garait, 2006)(Belkheiri, 2010)(Servais, 2004)

•L'acide hypochloreux

Il est produit par les myéloperoxydases leucocytaires à partir de peroxyde d'hydrogène et d'ion chlorure:



•L'oxygène singulet

L'oxygène singulet est une forme excitée de la molécule d'oxygène. En effet la molécule d'oxygène existe sous deux formes: la forme triplet et la forme singulet obtenue après activation photochimique.

L'oxygène moléculaire dans sa forme fondamentale a une structure biradicalaire. Ses deux électrons non appariés sont chacun dans une orbitale antiliante $\pi\pi^*$ et ont le même nombre quantique de spin,c'est la forme la plus stable de la molécule.

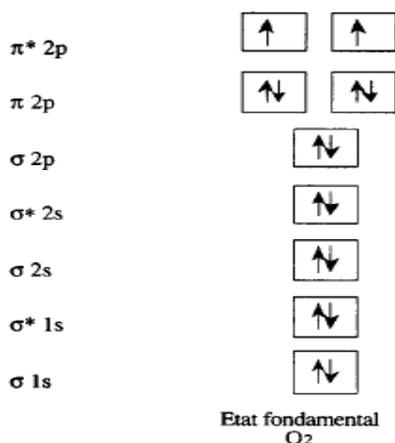


Figure 2: Répartition électronique de l'oxygène à l'état fondamental.

Sous l'effet d'un apport d'énergie, comme une augmentation de température ou des rayons lumineux, une inversion de spin de l'un des électrons non appariés peut s'effectuer pour former l'oxygène singulet.

Dans l'état de faible énergie, de durée de vie plus longue que celui de forte énergie, les deux électrons occupent la même orbitale. L'orbitale libre est donc disponible pour une addition sur les régions riches en électrons.

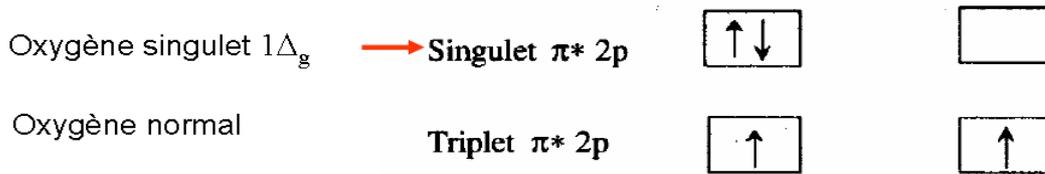


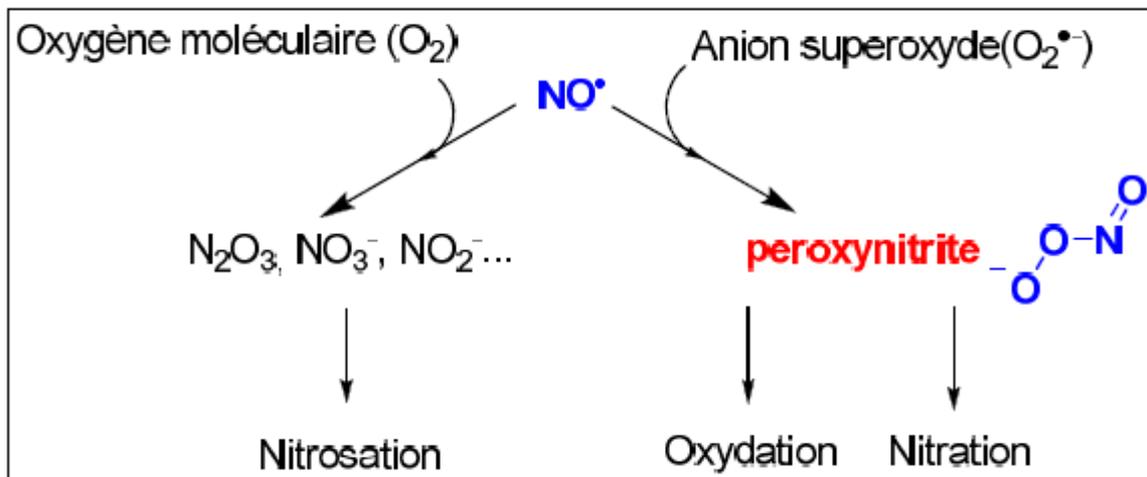
Figure 3: Différences de répartition des électrons des deux formes d'oxygène sur la couche antiliante.

1O_2 est très instable. Il peut apparaître durant les cycles de peroxydation lipidique, amplifiant ainsi les processus d'auto-oxydation. Il se forme probablement au cours de l'attaque de l'eau oxygénée par la myéloperoxydase qui est une enzyme hémique présente en concentrations importantes ($\pm 5\%$ en poids) dans les granules primaires des cellules polymorphonucléaires neutrophiles, durant la phagocytose. (par réaction du peroxyde d'hydrogène avec l'acide hypochloreux HOCl) :



• Le peroxyneutre $ONOO^-$

En présence de dioxygène, NO^\bullet donne des oxydes d'azote ($ONOO^\bullet$, N_2O_3) qui sont généralement des agents nitrosants conduisant à la formation de nitrites et de nitrosothiols dans les milieux biologiques. Par contre en présence de l'anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), le couplage avec NO^\bullet produit l'anion oxoperoxonitrate appelé couramment peroxyneutre ($ONOO^-$).



Quel radical libre est impliqué dans la MA?

Beaucoup de radicaux libres peuvent être impliqués. Le radical hydroxyle est considéré comme facteur de MA de part sa toxicité et son rôle dans des réactions chimiques variées, telle la réaction de Fenton. D'autres suspects incluent le radical superoxyde, le peroxyde d'hydrogène qui est impliqué dans la neurotoxicité de la protéine β -amyloïde, et le peroxyneutre qui peut être formé en combinant l'anion superoxyde et l'oxyde nitrique. Le peroxyneutre peut réagir avec le dioxyde de carbone et former des composés de transition instables qui agissent comme des radicaux hydroxyles libres. Plusieurs études récentes ont confirmé la toxicité du peroxyneutre sur les neurones et l'implication de l'oxyde nitrique dans les pathologies neurologiques. Smith et al. observèrent des

traces de modifications oxydatives causées par le peroxy-nitrite dans le cerveau des patients souffrant de la MA, et la nitration de ces protéines incluent, entre autres, les neurofibrilles. Cela n'a pas été observé dans les cerveaux non affectés par la MA.[51](Zawia et al., 2009)(Smith et al., 1997)

3- Les sources endogènes

De nombreuses sources de EROs coexistent dans l'organisme, en plus de la réaction de Fenton qui se passe dans la cellule, il y a des phénomènes enzymatiques ou non qui produisent des espèces réactives. (Beaudeau & Vasson, 2005)

a) L'auto-oxydation

L'adrénaline, la dopamine, les flavines ou encore les hydroquinones sont des sources importantes de EROs cellulaires en s'auto-oxydant. Il est généralement produit des anions superoxydes.

b) La xanthine oxydase

La xanthine oxydase catalyse la dégradation de l'hypoxanthine en acide urique en condition de forte demande d'ATP et de déficit en oxygène. Cette enzyme cytoplasmique se retrouve dans le sang, les cellules endothéliales des capillaires et de façon très importante dans le foie et les intestins. La production de EROs par la xanthine oxydase est faible dans les conditions physiologiques mais serait augmentée en cas d'hypoxie ou ischémie-reperfusion. (Garait, 2006)(Belkheiri, 2010)(Servais, 2004)



c) NADPH Oxydase

Il s'agit d'une oxydase liée à la membrane plasmique. Elle a d'abord été décrite dans les cellules phagocytaires où elle catalyse la formation d'anion superoxyde lors de la réponse immunitaire principalement contre les micro-organismes. Il a ensuite été montré qu'elle était également présente dans les cellules non phagocytaires afin de réguler la croissance cellulaire. (Garait, 2006)(Belkheiri, 2010)(Servais, 2004)



d) Le peroxyosome

C'est une des sources principales de peroxyde d'hydrogène cellulaire car il contient de nombreuses enzymes productrices. Cependant le peroxyde d'hydrogène produit est utilisé comme substrat de la catalase peroxydomale dans le but de réaliser des réactions de peroxydation d'autres substrats. Elles montrent leur importance dans le processus de détoxification hépatique et rénal. La quantité de peroxyde d'hydrogène, produit au niveau du peroxyosome, échappant à cette catalase semblerait très faible.

e) Le réticulum endoplasmique lisse

Il contient des enzymes catalysant des réactions qui détoxiquent les molécules liposolubles et certains métabolites toxiques. On retrouve principalement le cytochrome P450 qui oxyde les acides gras insaturés et les xénobiotiques produisant alors de EROs. Cette production radicalaire permet la régulation des fonctions du réticulum tel que la sécrétion de protéines.

f) La lipo-oxygénase et l'acide arachidonique

L'acide arachidonique, provenant de l'hydrolyse des phospholipides par la phospholipase A2, est le substrat de la lipo-oxygénase pour synthétiser des leucotriènes. Cette synthèse résulte en une chaîne d'oxydations impliquant la production d'EROs.

g) La mitochondrie

La mitochondrie est un organite intracellulaire produisant la majorité de l'énergie cellulaire sous forme d'ATP. Elle est responsable de 90% des EROs cellulaires par l'intermédiaire de sa chaîne respiratoire.

Elle possède un système de double membrane délimitant un espace inter-membranaire et un compartiment matriciel dans lequel on retrouve les enzymes des voies métaboliques du cycle de Krebs et de la β -oxydation.

La membrane interne de la mitochondrie est le siège de la respiration qui correspond à un transfert d'électrons à travers la chaîne respiratoire jusqu'à un accepteur final: l'oxygène.

Nous allons voir ici comment fonctionne cette chaîne respiratoire et pourquoi des EROs sont produits.

La chaîne respiratoire est composée de 4 complexes indépendants dont 3 sont des pompes à protons

•Complexe I: NADH-Ubiquinone oxydoréductase

C'est le plus gros composant protéique de la membrane interne mitochondriale. Il possède 46 sous-unités dont 7 sont codées par l'ADN mitochondriaux et 39 par l'ADN nucléaire. Sa masse moléculaire est d'environ 750 kDa.

Le transfert initial d'électrons nécessite comme cofacteur le NADH. Celui-ci est oxydé par la NADH-deshydrogénase. Le complexe I catalyse le transfert de 2 électrons du NADH à l'ubiquinone en expulsant des protons de la matrice vers l'espace inter-membranaire.

•Complexe II: Succinate-Ubiquinone oxydoréductase

Ce complexe catalyse la ré-oxydation du succinate en fumarate qui permet le transfert de 2 électrons au complexe III par l'intermédiaire de l'oxydation du FADH₂ et de la réduction d'ubiquinone. Ce transfert n'est pas couplé à une expulsion de protons.

•Complexe III: Complexe b-c1 (Ubiquinol-cytochrome c réductase)

Les ubiquinones transportent librement des électrons des complexes I et II vers le complexe III. Celui-ci permet un transfert d'électrons vers un autre transporteur mobile: le cytochrome c qui le relie au dernier complexe. Ce transfert d'électrons est associé à l'afflux de protons, il s'agit donc de la deuxième pompe à protons de la chaîne respiratoire.

•Complexe IV: Cytochrome c oxydase

Ce complexe catalyse la dernière réaction d'oxydoréduction réduisant l'O₂ en H₂O₂ par 4 électrons. Contrairement à celui des complexes I et III, le transfert d'électrons est ici irréversible. Ce transfert est par ailleurs associé à un efflux de protons.

•L'ATP synthase

L'ATP synthase associe la diffusion des protons à la synthèse d'ATP (Adénosine TriPhosphate) à partir d'ADP (Adénosine DiPhosphate) et de Pi (Phosphate Inorganique) et permet donc de transformer réversiblement la différence de potentiel électrochimique de protons en énergie chimique. (Richter & Schweizer, 1997)

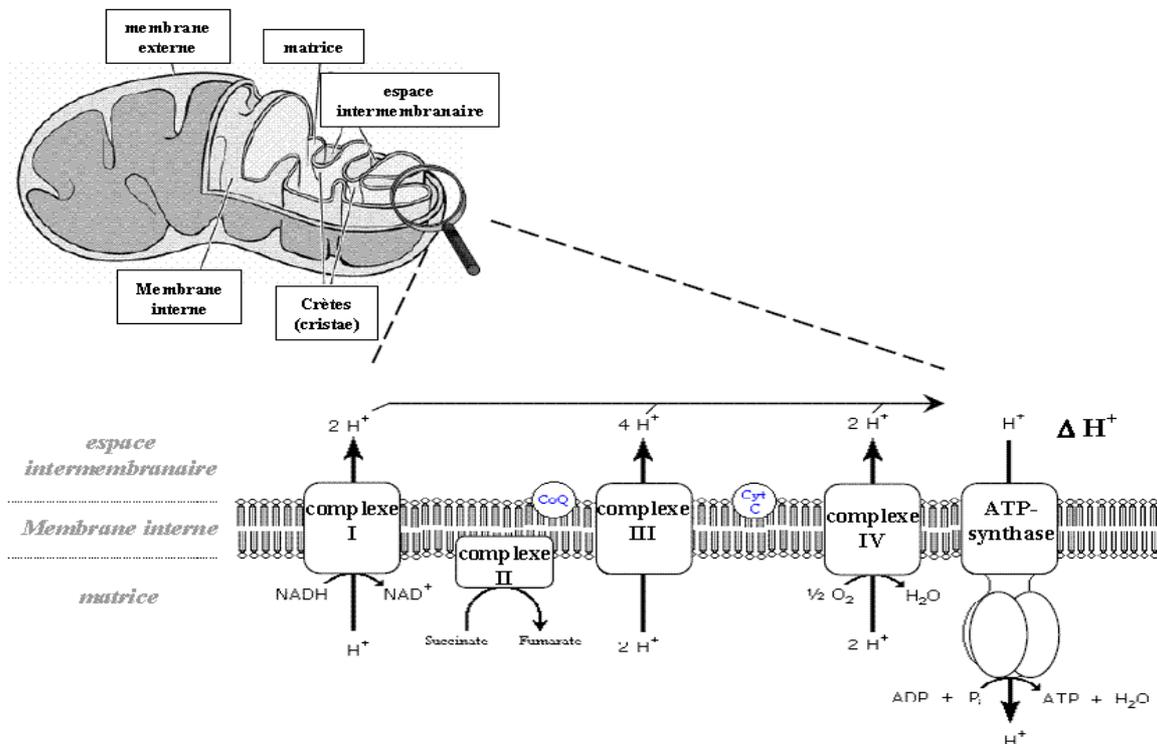


Illustration 7: La chaîne respiratoire mitochondriale et sa localisation.

La chaîne respiratoire mitochondriale produit des EROs que ce soit à l'état physiologique ou pathologique. Certains auteurs ont conclu que 1 à 4% de l'oxygène entrant dans la mitochondrie donne des EROs. Mais ces estimations ont été réalisées *in vitro* sur des mitochondries isolées en présence d'une pression partielle en oxygène non physiologique et de concentration saturante en substrats. Ce pourcentage a été revu à la baisse de 0,2 à 0,4% lorsque les études ont été réalisées *in vivo*.

Les EROs sont produits par les complexes I et III de la chaîne respiratoire, ceux qui possèdent des quinones. Dans la littérature actuelle on ne peut pas affirmer que l'un ou l'autre de ces complexes et la source mitochondriale principale de EROs.

• Complexe I

Au niveau du complexe I on ne connaît pas encore exactement le lieu de production des EROs

Trois hypothèses sont aujourd'hui considérées:

- Au niveau des quinones (Q)
- Au niveau des Flavines mononucléotides (FMN)
- Au niveau du groupe Fer-Soufre [Fe/S]

Au niveau de ce premier complexe, les EROs ne sont produits que sur la face matricielle de la mitochondrie.

• Complexe III

Ici la production de EROs résulte de la réduction partielle de l'ubiquinone. L'électron libre provenant du transfert à travers la chaîne respiratoire s'apparie avec l'ubiquinone formant le radical semi-ubiquinone qui est instable. Un deuxième électron est donc nécessaire pour le stabiliser et

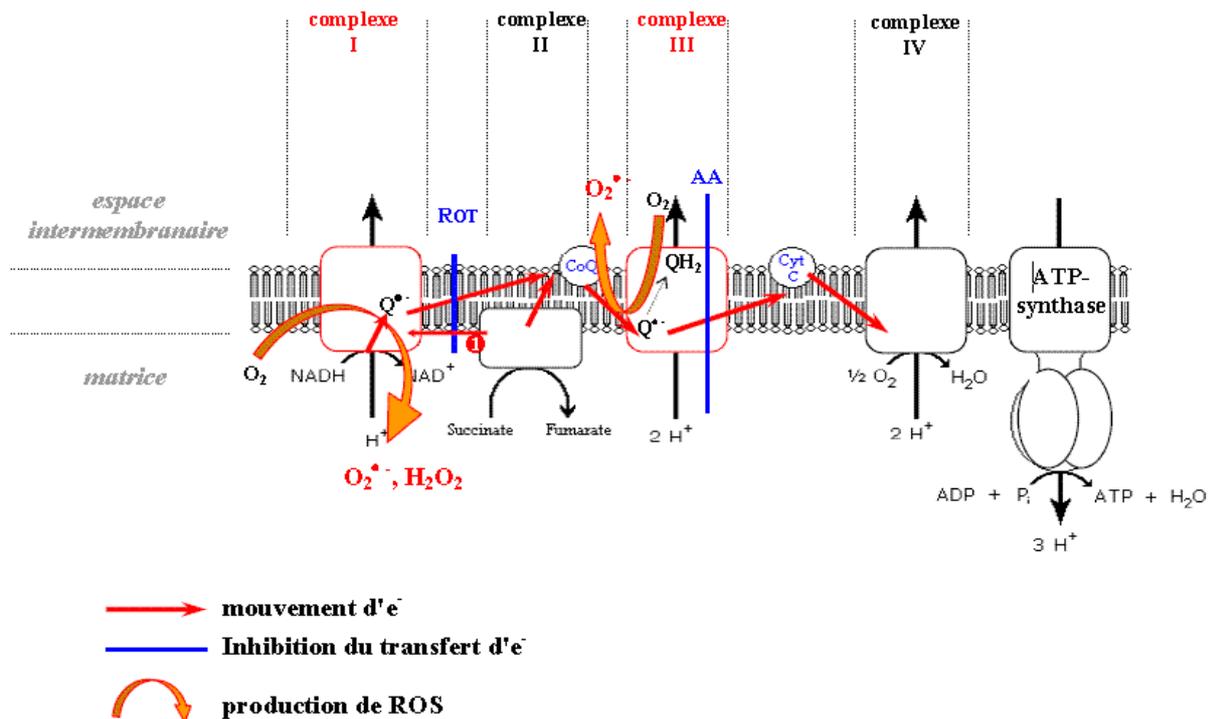


Illustration 8: Fonctionnement des quatre complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale. permettre le transfert de protons grâce à l'intermédiaire ubiquinol. Il existe une probabilité pour que le radical semi-ubiquinone rencontre une molécule d'oxygène avant d'être stabilisé par le deuxième électron. La molécule d'oxygène va alors capter l'électron libre générant ainsi un anion superoxyde. Cette production de EROs se fait tant au niveau matricielle qu'inter-membranaire. (Garait, 2006)(Belkheiri, 2010)(Servais, 2004)

Les anomalies mitochondriales dans la MA

Certains auteurs ont décrit une diminution de l'activité du complexe IV dans le cerveau et dans les plaquettes chez les patients souffrant de la MA. D'autres ne trouvent aucune différence significative dans l'activité de la COX au niveau du cerveau, des plaquettes ou lymphocytes des patients souffrant de la MA. L'expression de l'ARNm qui code certaines sous-unités de la COX a diminué et l'inhibition pharmacologique sélective de la COX dans un modèle animal est capable de causer certaines altérations cognitives semblables à celles observée dans la MA. (Jiménez-Jiménez et al., 2006)

Les défauts dans la chaîne de transport des électrons dans la mitochondrie sont des facteurs majeurs contribuant à la production de radicaux libres. Plusieurs études ont montré un niveau bas d'oxydation phosphorylante dans la MA, s'exprimant par un déficit énergétique et une production potentiellement toxique de radicaux libres.

Mutisaya et al. ont montré que l'activité cytochrome-c oxydase postmortem était 25 à 30% plus faible que la normale dans le cortex cérébral et les plaquettes des patients souffrant de la MA. Un déclin de l'activité de la cytochrome-c oxydase est associé à une diminution de l'expression d'ARN messenger, qui est plus faible dans les régions temporales du cerveau des patients souffrant de la MA. En fait, on trouve des quantités normales de cytochrome-c oxydase dans les cerveau des patients souffrant de la MA. C'est seulement l'activité enzymatique qui est affectée. (Mutisaya et al., 1994)

Récemment, l'hypothèse d'un lien entre les fonctions mitochondriales et la cytochrome-c oxydase s'est vue confortée par la découverte de mutations dans les gènes de la cytochrome-c oxydase liées à la forme tardive de la MA.

Comment les défauts mitochondriaux peuvent-ils avoir une influence sur le développement de la MA? En théorie, ils peuvent déclencher deux phénomènes dangereux: la production de radicaux libres destructeurs et la réduction des ressources d'énergie. Une réduction jusqu'à 50% de l'activité normale de l'oxoglutarate déshydrogénase a été observée dans des cultures de fibroblastes de patients souffrant de la MA. (Christen, 2000)

4- Les sources exogènes

Deux facteurs entrent en jeu: notre mode de vie, et l'environnement dans lequel nous vivons.

a- Mode de vie

Nous avons plus de risques de faire pencher la balance vers un surplus d'oxydants si nous:

- Sommes fumeurs (toxiques)
- Consommons peu de fruits et légumes (moins d'apports d'antioxydants)
- Buvons de l'alcool (toxique)
- Consommons des médicaments (toxiques)
- Prenons la pilule contraceptive (toxique)
- Nous exposons au soleil (UV)
- Faisons trop ou pas assez d'exercice physique (métabolisme trop ou pas assez sollicité)

b- Environnement

En plus de contrôler notre façon de vivre (possible), il faudrait modifier notre environnement (plus utopique). En effet, on y retrouve des sources d'EROs dans:

- La pollution (partout)
- L'ozone (on ne pourrait vivre sans)
- L'amiante (anciens bâtiments...)
- Les radiations (centrale, radiographies...)
- Les substances cancérigènes avec lesquelles on entre en contact (de plus en plus selon la littérature)

B) Action des EROs sur le métabolisme

1- Les lipides

a- Définitions

Lipide: Nom générique des esters d'acides gras à haut poids moléculaire rencontrés dans les tissus vivants. Les acides gras sont le plus souvent des acides en C₁₆ et C₁₈ (palmitique, stéarique, oléique, linoléique). Les alcools, le glycérol ou des alcools azotés. On distingue : - les *l.simples*, eux mêmes divisés en fonction de l'alcool en stérides (stérols) et sérides (alcools aliphatiques); les *l.phosphorés*, glycérophospholipides (lécithines et céphalines) et sphingophospholipides; les *l.azotés*, cérébrosides et gangliosides; les *l.soufrés* ou sulfatides. Comme les acides gras, les *l.* possèdent un pôle hydrophile (-COOH) et un pôle hydrophobe (-CH₂-CH₃). Cette polarité se retrouve dans la constitution des couches lipidiques de la membrane cellulaire. Les *l.* constituent

une réserve d'énergie, participent à la structure des membranes et jouent un rôle d'isolant thermique et contre les chocs.(Garnier Delamare, 2004)

Acide gras: Acide organique que l'on rencontre dans les lipides sous forme d'esters du glycérol ou triglycérides. Les *a.g.* Sont des molécules linéaires dont l'unique groupement acide est situé en bout de chaîne. Certains sont *saturés* et ont pour formule générale $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_{n-2} - \text{COOH}$, avec n (pair) compris entre 4 et 30 (si $n=12$, *a. Laurique*; $n=16$, *a. palmitique*; $n=18$, *a. stéarique*). D'autres sont *insaturés* ($n=18$, *a. oléique*) voire ramifiés. Les ***a.g. essentiels*** ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent donc être apportés par l'alimentation: les *a. arachidonique*, *linoléique* et *linoléique* en sont des exemples. Parmi les ***a.g. polyinsaturés*** (qui possèdent donc au moins deux doubles liaisons), on distingue notamment les $\omega 6$ (ω désignant l'extrémité méthyle $-\text{CH}_3-$ de la molécule et 6 la position de la double liaison comptée à partir de ce carbone) dont font partie les *a. Linoléique* et *arachidonique* lesquels sont les précurseurs des icosanoïdes (substances phospholipidiques dérivés de l'acide arachidonique. Leur groupe comprend les prostaglandines et les leucotriènes. Ils interviennent pour régler le tonus vasculaire, l'agrégation des plaquettes, l'élimination urinaire du sodium et les réactions inflammatoires; ils jouent probablement un rôle important dans le mouvement des ions à travers les membranes cellulaires) et les $\omega 3$ (*a.eicosapentoiïque* [EPA] et *docosahexanoïque* [DHA]), présents tout particulièrement dans les huiles de poisson et auxquels on attribue des propriétés antithrombotiques, anti-athéromateuses et anti-inflammatoires.(Garnier Delamare, 2004)

Les lipides représentent en masse 30 à 80% des membranes biologiques, le reste étant composé de protéines (20 à 60%) et quelquefois des carbohydrates (0 à 10%). D'après le modèle de mosaïque fluide, une membrane biologique est constituée d'un fluide à deux dimensions de protéines et lipides orientés. La bicouche lipidique est la structure de base des membranes de toutes les cellules et organelles. Les membranes cellulaires sont des structures dynamiques et fluides et la plupart de leurs molécules sont capables de bouger dans le plan de la membrane. La fluidité est la qualité de la facilité de mouvement et représente la valeur réciproque de la viscosité membranaire. Les propriétés fluides des membranes biologiques sont indispensables à des nombreuses fonctions cellulaires. Des changements minimes de fluidité membranaires peuvent causer un fonctionnement anormal et entraîner un processus pathologique.(Catalá, 2009)

b- La peroxydation des lipides

La peroxydation des acides gras polyinsaturés peut être enzymatique ou non. C'est le mécanisme majeur de lésions cellulaires dues au stress oxydatif dans les organismes aérobies.

Le taux maximal de peroxydation lipidique est observé lorsque le ratio entre les ions ferreux et ferrique est de 1. Bacon et al ont observé que la prise orale de fer chez les rats se manifeste par une augmentation de la peroxydation lipidique mitochondriale. Des expériences ont également montré que celle-ci était accompagnée d'une détérioration du métabolisme mitochondrial. Les acides gras polyinsaturés mitochondriaux sont les cibles préférentielles de la peroxydation emmenée par le fer.

1- La peroxydation enzymatique

Les lipoxigénases comprennent une famille d'enzymes de peroxydation lipidique qui oxydent les acides gras polyinsaturés libres et estérifiés en dérivés hydroperoxyl correspondants. Il existe trois isoformes de lipoxigénases nommées en fonction de la position spécifique de l'oxydation de l'acide arachidonique: la 5-lipoxigénase, la 12-lipoxigénase et la 15-lipoxigénase.

Cette réaction ne dépend que de la présence de NADPH et d'oxygène. Des études ont montré le rôle du cytochrome P450 dans la transformation de l'acide arachidonique en un mélange de dérivés hydroxy-acides. Cette réaction se fait comme une réaction de monoxigénase, c'est à dire qu'une mole de NADPH est oxydée par mole d'oxygène.(Catalá, 2006)

2- La peroxydation non-enzymatique

La peroxydation lipidique non enzymatique est une réaction en chaîne menée par des radicaux libres dans laquelle un radical peut induire l'oxydation d'un grand nombre de molécules lipidiques (LH), principalement des phospholipides contenant des acides gras polyinsaturés. Les acides gras saturés ou mono-insaturés sont beaucoup moins réactifs et ne participent généralement pas à la peroxydation lipidique.

a) L'initiation

Elle est généralement réalisée par un radical (R[•]) de réactivité suffisante sur le groupement méthylène de l'acide gras:



Les espèces radicalaires pouvant entraîner cette réaction sont le radical hydroxyle (OH[•]), le radical alkoxy (RO[•]), le radical peroxy (ROO[•]) et peut-être HO₂[•] mais pas H₂O₂ ni O₂^{•-}. (Gutteridge, 1995)

L'oxygène moléculaire s'additionne rapidement au radical lipidique centré sur un carbone (L) alors formé, faisant apparaître le radical peroxy lipidique (LOO[•]):



b) La propagation

Cette molécule peut alors capter un hydrogène d'un autre acide gras polyinsaturé :



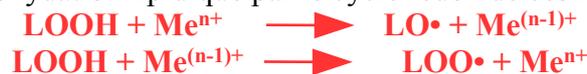
Cette réaction implique qu'une initiation touchant une molécule d'acide gras insaturé peut entraîner la conversion de plusieurs acides gras polyinsaturés en radicaux peroxy lipidiques.

c) La terminaison

L'hydroxyperoxyde lipidique est le premier produit, relativement stable, de la peroxydation lipidique. Sous certaines conditions où la peroxydation lipidique est continuellement initiée, une réaction de terminaison limite l'extension de ce processus menant à des produits non-radicalaires (PNR) et détruisant deux radicaux à la fois:



En présence d'ions métalliques de transition, LOOH peut entraîner la génération de radicaux capables de réinitier la peroxydation lipidique par le cycle redox de ces ions métalliques:



Les hydroxyperoxydes lipidiques en présence ou non d'ions métalliques catalyseurs, peuvent entraîner l'apparition de nombreux produits tels que des aldéhydes et phospholipides à courtes ou longues chaînes, ainsi que des aldéhydes d'esters de cholestérol. (Valko et al., 2006)

3- L'oxygène singulet

Une autre voie pour générer des peroxydes lipidiques est celle passant directement par la réaction entre les acides gras polyinsaturés ou leur chaînes latérales et l'oxygène singulet sans enlever d'hydrogène pour débiter l'initiation. Lors de la peroxydation lipidique, n'importe quel radical peroxy peut entrer en collision avec un autre radical peroxy et ainsi former une petite quantité d'oxygène singulet qui entraîne alors la production d'autre peroxydes.

L'oxygène singulet peut également être formé quand certains composés sont exposés à la lumière en présence d'oxygène. Ils absorbent la lumière, entrent dans un état électronique excité puis transfèrent cette énergie aux molécules d'oxygène le transformant alors en oxygène singulet. (Halliwell & Chirico, 1993)

c- Les produits

1- Isoprostanes

Il s'agit de composés ressemblant aux prostaglandines, produits *in vivo* indépendamment des cycloxygénases, principalement par la peroxydation de l'acide arachidonique par l'intermédiaire des radicaux libres.

D'autres produits provenant de cette voie sont les intermédiaires labiles des isoprostanes incluant les E(2)-, D(2)-Isoprostanes, cyclopenténone-A(2)-, J(2)-Isoprostanes et des céto-aldéhydes acycliques de haute réactivité.

Il a été décrit récemment la formation d'isoprostanes cyclopenténone (A(3)-, J(3)-Isoprostanes) par la peroxydation de l'acide eicosapentaénoïque. Au niveau du système nerveux central, l'oxydation de l'acide docosahexaénoïque, un acide gras abondant de ce système, se traduit par la formation de composés proches des isoprostanes nommés les neuroprostanes.(Catalá, 2009)

Les radicaux 8-,9- et 12-peroxyl, dérivés de l'acide arachidonique suivent deux cyclisations intramoléculaires consécutives:

1- Addition d'oxygène

2- Retrait d'hydrogène

afin de former des composés proches des prostaglandines. Ceux-ci sont réduits par la suite par une cétoréductase pour obtenir les isoprostanes F2 au nombre de 64 isomères. La différence structurale majeure entre les isoprostanes et les prostaglandines est l'orientation des chaînes latérales. Dans les isoprostanes, elles sont majoritairement en *cis*, alors que celles des prostaglandines sont orientées exclusivement en *trans*.

Les isoprostanes D2 et E2, obtenus par l'intermédiaire d'endoperoxide bicyclique, sont instables et se déshydratent spontanément en formant les isoprostanes J2 et A2 qui sont des cyclopenténones chimiquement réactives. L'oxydation de l'EPA et de la DHA forme par un mécanisme similaire les isoprostanes F3 et les neuroprostanes F4. En plus de ces isoprostanes, des isofuranes substitués avec un noyau tetrahydrofurane circulaire ont été observés lorsque la concentration en oxygène était augmentée.(Niki, 2009)(Roberts & Milne, 2009)

2- Phospholipides oxydés

Les membranes biologiques sont composées de plusieurs classes de phospholipides (hétérogénéité de groupe principal), de sous-classes (chaînes acyles, alkyles) et espèces (longueur de chaînes et degrés d'insaturation). La phosphatidylcholine (PC) est le phospholipide majoritaire dans toutes les cellules de mammifères (40-50%) et ainsi les phospholipides oxydés détectés dans les tissus des mammifères sont constitués de choline.

Les différences de structures chimiques des différents types de phospholipides déterminent les propriétés physiques des membranes.

Les produits de l'oxydation des phospholipides sont fortement supposés modifier les propriétés biologiques membranaires puisque leur polarité et leur forme peuvent différer significativement de la structure de leur molécule mère. Ils peuvent altérer les interactions lipide-lipide, lipide-protéine et par conséquent les fonctions des protéines membranaires.

Lorsque les acides gras ω 2 des phospholipides sont oxydés par des radicaux, plusieurs types de produits différents sont formés. On retrouve des phospholipides contenant des produits de l'oxydation des acides gras (communément appelé phospholipides oxydés), des lysophospholipides et des produits de la fragmentation de acides gras oxydés. Certains produits de l'oxydation des phospholipides ont une activité sur les cellules des membranes vasculaires, sur les leucocytes ainsi que sur les plaquettes.(Catalá, 2009)

niveau physiologique:

Les hydroperoxydes sont les produits primaires principaux de la peroxydation lipidique induite par les radicaux libres des acides gras polyinsaturés et leur taux sanguin chez l'homme a été mesuré dans plusieurs études. Les taux d'hydroperoxydes lipidiques observés dans des états pathologiques comme de l'hyperlipidémie, athérosclérose, diabète, hémodialysés, arrêt cardiaque, sclérose multiple, hémorragie sous-durale et chez les patients alcooliques sont plus élevés que dans les états physiologiques.(Niki, 2009)

3- Hydroxy-alcanes

Les lipides possédant des acides gras polyinsaturés sont susceptibles de subir une oxydation initiée par les radicaux libres et peuvent contribuer à une réaction en chaîne qui amplifie les lésions sur les biomolécules. La peroxydation lipidique a souvent lieu en réponse au stress oxydatif et une grande diversité d'aldéhydes est formée lorsque les hydroperoxydes lipidiques se retrouvent en masse dans les systèmes biologiques. Quelques uns des ces aldéhydes sont fortement réactifs et peuvent être considérés comme seconds messagers toxiques qui disséminent et augmentent les réactions initiales dues aux radicaux libres. Les aldéhydes les plus étudiés à l'heure actuelle sont le 4-hydroxy-2-nonenal (HNE), le 4-hydroxy-2-hexenal (HHE) et le malondialdéhyde (MDA). Le HNE est connu pour être l'aldéhyde principal formé pendant la peroxydation lipidique des acides gras $\omega 6$ tel que l'acide linoléique et l'acide arachidonique. La peroxydation lipidique des acide gras $\omega 3$ polyinsaturés tel l'acide linoléique et l'acide docosahexanoïque génère le HHE qui est un médiateur potentiel de perméabilité mitochondriale.(Catalá, 2009)

Les aldéhydes α, β insaturés sont très réactifs et réagissent directement avec les protéines, l'ADN et les phospholipides en causant des effets délétères. La modification des acides aminés des protéines et peptides par ces aldéhydes se fait principalement sur les cystéines, les lysines et plus faiblement sur les histidines afin de former une liaison covalente stable avec des adduits. Les groupements carbonyles des aldéhydes peuvent alternativement réagir avec les groupement aminés pour former une base de Schiff.(Roberts & Milne, 2009)

Niveau physiologique

Le taux de HNE a été mesuré par diverses méthodes dans les formes libres et les adduits. Il a été mesuré comme un éther trimethylsilyl de pentafluorobenzyl oxime par chromatographie gazeuse utilisant un ion sélectionné chez 194 hommes et femmes sains et le taux trouvé de 74nM, un taux augmentant avec l'âge. Les taux trouvés chez des patients atteints de la MA (plasma et fluide cérébrospinal) et patients dépressifs (plasma) sont plus élevés.

Les taux de MDA trouvés dans le plasma humain de patients sains sont supérieurs à 1 μ M.(Niki, 2009)

4- Prostaglandines

Le 15-Deoxy-delta-12,14-prostaglandine J2 (15d-PGJ2) est un autre métabolite de la peroxydation lipidique. Il est formé par une déshydratation non enzymatique se déroulant en deux étapes à partir de PGD2. Ce composé a été observé dans les lésions d'athérosclérose humaine et chez les patients ALS.(Niki, 2009)

5- Acides gras nitrés

Les acides gras nitrés sont une autre classe de produits intéressants même s'ils ne sont pas des produits directs de la peroxydation lipidique. Les nitroalcanes réagissent avec une grande variété de molécules biologiques. De multiples réponses biologiques comme la régulation enzymatique, la modulation de l'inflammation et l'activation de la réponse au stress. Deux dérivés nitro-allyliques de l'acide linoléique ont été trouvés dans les érythrocytes humains et le plasma dans des formes libres et estérifiées. Ils ont été identifiés comme l'acide 10-nitro-9-cis,12-cis-octadecadiénoïque et l'acide 12-nitro-9-cis,12-cis-octadecadiénoïque. On pense que les acides gras nitrés sont formés par l'addition initiale du radical dioxyde d'azote et/ou de l'ion nitronium sur la double liaison. Le peroxy-nitrite et l'acide peroxy-nitreux semblent également être impliqués. (Niki, 2009)

Niveau physiologique

Les taux basaux plasmatiques des acides 9- et 10- nitro-oléique chez des patients sains sont de 619 nM (formes libres) et 302 nM (formes estérifiées) et dans les érythrocytes sont de 50 et 199 nM respectivement. Les niveaux d'acide nitro-linoléique sont plus faibles que les acides nitro-oléiques. (Niki, 2009)

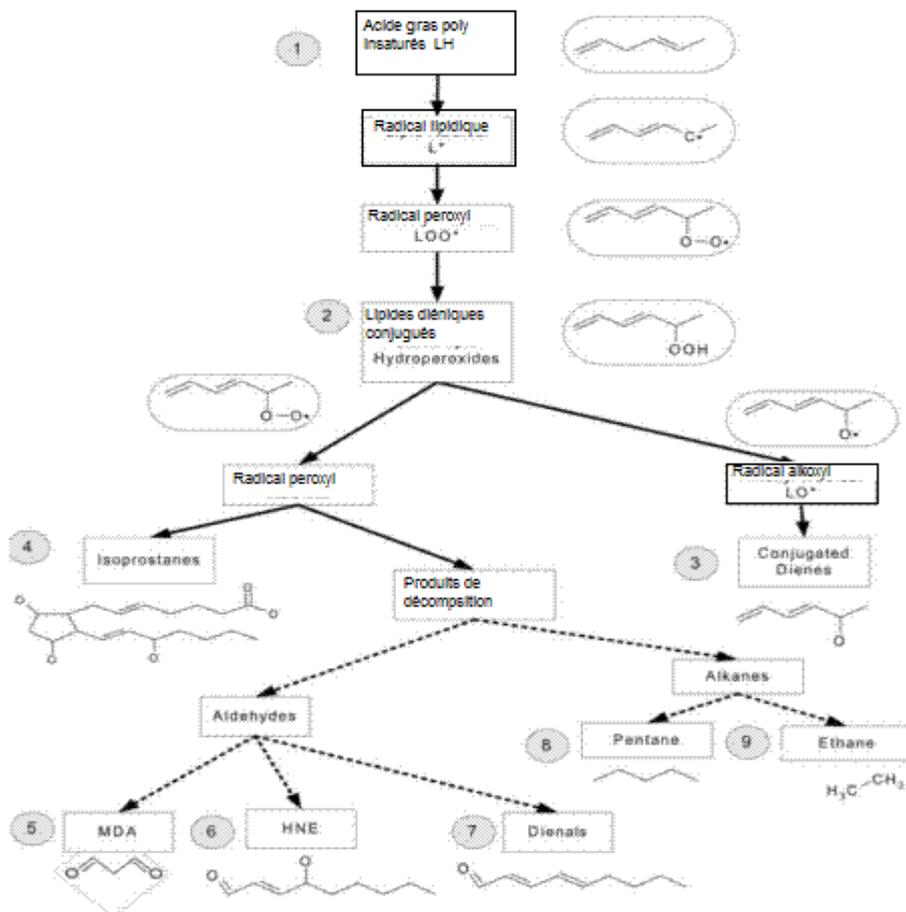


Schéma 5: Produits et voies liés à la peroxydation lipidique. (1) acides gras polyinsaturés. (2) Hydroperoxydes lipidiques. (3) Diènes conjugués. (4) Isoprostanes créés grâce à la cyclisation de l'acide arachidonique. (5) Diènes. (6) MDA. (7) HNE. (8-9) Alcanes. (Dotan et al., 2004)

d) La peroxydation lipidique dans la MA

Oxydation lipidique

Le peptide A β induit une peroxydation des lipides des membranes et des produits de la peroxydation lipidique. Les lipides sont modifiés par les EROs et il existe une forte corrélation entre les peroxydes lipidiques, les enzymes antioxydantes, les plaques amyloïdes et les neurofibrilles dans les cerveaux des patients atteints de la MA. Plusieurs produits résultant du stress oxydatif, comme le HNE, l'acroléine, le MDA et les F2-isoprostanes sont augmentés dans les cerveaux atteints de MA en comparaison à des cerveaux d'âge équivalent non atteints.

L'HNE est capable de modifier les protéines ce qui résulte en une multitude d'effets comme l'inhibition des transporteurs neuronaux de glucose et de glutamate, l'inhibition des NA-K ATPases, l'activation des kinases et le dérèglement du transport intracellulaire de calcium, qui induit alors une cascade d'apoptose.

Les neurofibrilles portent les marques des dommages oxydatifs sur la membrane car ils contiennent des adduits de MDA et HNE, les plus réactifs des produits de la peroxydation lipidique. De plus le neurones dystrophiques des plaques séniles contenant les filaments de neurofibrilles montrent des dommages membranaires plus importants que ceux ne possédant pas ces neurofibrilles.

Suite à la peroxydation lipidique, la modification de la 2-pentylpyrrole sur les lysines est le seul adduit avancé connu à ce jour, formé à partir des protéines par l'HNE, chez les patients souffrant de la MA. Ces éléments, et le fait que l'HNE soit cytotoxique dans les neurones et dérègle les fonctions des protéines membranaires, indique que le HNE est un marqueur caractéristique ainsi qu'une toxine menant à la neurodégénérescence observée dans la MA. (Gella & Durany, 2009)

Les membranes plasmiques des neurones dystrophiques séniles semblent être plus sensibles aux dépôts d'amyloïde et aux processus de peroxydation lipidique que les membranes des neurones normales ou des autres cellules des plaques séniles.

La fluidité de la membrane mitochondriale est diminuée dans le cortex cérébral des patients MA, donnée qui semble être due à une augmentation des processus de peroxydation lipidique. Les phospholipides des membranes dérivant de phosphatidyléthanolamine et phosphatidylinositol diminuent dans l'hippocampe et les premiers également dans le cortex pariétal.

Chez des souris transgéniques il a été observé que la peroxydation lipidique précédait la formation des plaques amyloïdes. Les concentrations de HNE dans le LCR ventriculaire des patients souffrant de la MA sont augmentées. Les taux de marqueurs sont généralement normaux ou augmentés. (Jiménez-Jiménez et al., 2006)

Le marqueur majeur de métabolisme cholinergique est l'acétylcholinestérase, qui permet un contrôle précis de l'activité synaptique temporelle en hydrolysant l'acétylcholine en acétate et choline. L'activité de l'AChE diminue avec l'âge dans diverses aires cérébrales se manifestant par des signes cholinergiques sévères causés par une concentration élevée d'acétylcholine dans les synapses cholinergiques. L'activité de l'AChE au niveau érythrocytaire diminue avec l'âge des sujets.

La membrane érythrocytaire est une cible directe de la peroxydation lipidique lors de stress oxydatif, ce qui implique un clivage des acides gras polyinsaturés sur leur double liaison formant alors le MDA. La mobilité moléculaire des lipides, le nombre de groupements -SH et la résistance à la dénaturation thermique diminuent.

La diminution des taux d'AChE entre en corrélation avec l'augmentation de la peroxydation lipidique lors du vieillissement. On sait que son activité est modulée par l'environnement hydrophobe des membranes et dépend de la fluidité membranaire et de la charge de surface. La

fluidité membranaire, qui est une propriété clé de la bicouche lipidique membranaire, diminue avec l'âge. Ces changements peuvent causer des altérations des propriétés physiques des membranes résultant en des modifications de l'activité enzymatique des protéines liées à la membrane et des interactions lipidoprotéiques.

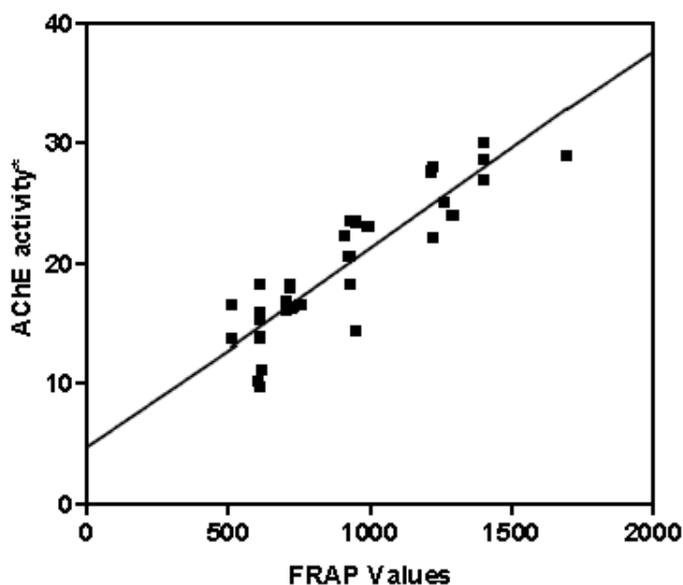


Fig. Correlation plot between AChE activity and total antioxidant capacity of plasma (measured as FRAP). AChE activity expressed as μmol acetylcholine iodide hydrolysed/min per gm haemoglobin at 37 °C. FRAP values expressed as μmol Fe (II) per l of plasma. $P < 0.001$; $r = -0.8837$.

Figure 4: Corrélation entre l'activité de l'AChE et la capacité totale anti-oxydante. L'activité de l'AChE est exprimée en μmol d'acétylcholine hydrolysée /min /g d'hémoglobine. La capacité antioxydante (FRAP) exprimée en μmol d'ions ferreux/litre de plasma. (Jha & Rizvi, 2009)

Le déclin de l'activité de l'AChE avec l'âge semble corrélérer avec l'augmentation du stress oxydatif extra-cellulaire, puisqu'il a été décrit un lien entre l'altération de l'AChE lié à l'âge avec la diminution dépendante de l'âge de la capacité anti-oxydante dans le plasma et avec l'augmentation de la peroxydation lipidique lors du vieillissement. La diminution des défenses antioxydantes et l'altération des membranes lors du vieillissement contribue au déclin de l'activité de l'AChE dans les membranes érythrocytaires. (Jha & Rizvi, 2009)

Beaucoup d'études montrent une augmentation de la peroxydation lipidique dans les cerveaux des patients souffrant de MA surtout dans le lobe temporal où les altérations histopathologiques sont très remarquables.

Selon Ramassamy et al., les résultats inconsistants sont liés à la présence ou non du génotype ApoE. Les personnes présentant l'allèle E4 semblent être plus sensibles à la peroxydation. Les produits finaux de la peroxydation lipidique ont été retrouvés dans le cerveau des patients malades, surtout dans les neurofibrilles. On y retrouve le MDA, le peroxy-nitrite, les carbonyles, les AGEs, la SOD et hème oxygénase-1. Cette dernière est une enzyme cellulaire qui est « up-regulated » dans le cerveau

et autres tissus en réponse à un stimuli oxydatif.(Ramassamy et al., 1998)

L'effet des EROs sur les phospholipides membranaires est important puisque certaines altérations sont spécifiques de la MA. Markesbery montra que la peroxydation lipidique est une cause majeure de déplétion en phospholipides membranaires chez les patients souffrant de la MA.(Markesbery, 1997)

Un des produits de la peroxydation lipidique, le HNE a été trouvé en grandes quantité chez les patients souffrant de la MA, prouvant être toxique pour les cellules de l'hippocampe. Cet aldéhyde hautement réactif provoque une mort neuronale en altérant les ATPases impliquées dans les transferts ioniques et l'homéostasie du calcium.

La concentration augmentée de calcium peut elle-même causer une cascade intracellulaire d'évènements, résultant en une augmentation des EROs et de mort cellulaire. Des preuves du lien entre l'homéostasie et les radicaux libres dérivent des données montrant que le flux de calcium glutamate-dépendant est associé à la production de radicaux libres par la mitochondrie. L'acide nitrique et le peroxy-nitrite semblent jouer un rôle crucial dans l'excito-toxicité reliée à l'activation du récepteur NMDA au glutamate. Plus récemment, Montine et al. ont trouvé que les concentrations en F2-isoprostanes sont plus élevées dans le liquide cébrospinal des patients souffrant de la MA. Ces composés sont produits par la peroxydation de l'acide arachidonique catalysée par les radicaux libres, indépendamment de la cox.(Montine et al., 1998)

L'apolipoprotéine E et le stress oxydatif

Dans le cerveau, l'ApoE est un porteur de cholestérol crucial, ce qui explique son rôle dans le phénomène de neuroplasticité car il nécessite des changements des lipides membranaires, une fonction dépendante du cholestérol.

L'ApoE réduit la mort neuronale causée par l'activité anti-oxydante du peroxyde d'hydrogène et de la β -amyloïde. Cet effet est clairement perceptible avec les isoformes E2 mais bien moins avec les E3 et presque néant avec les E4.

L'isoforme E4 est plus sensible aux attaques des radicaux libres que l'isoforme E3, elle même plus sensible que l'E2. Ramassamy et al. ont établi qu'une autre relation existait entre le génotype de L'ApoE 4 et la peroxydation lipidique dans la MA. Ils ont montré que le niveau de peroxydation dans les cerveaux des patients souffrant de la MA dépendait du génotype de l'ApoE et était plus élevé lorsque l'allèle E4 était présente. Le niveau de peroxydation dans le cerveau des patients souffrant de la MA est inversement proportionnel à la concentration de l'ApoE, ce qui confirme l'hypothèse que l'ApoE a un effet bénéfique contre la peroxydation lipidique et que cet effet est plus prononcé lorsque l'allèle E4 n'est pas présente. (Ramassamy et al., 1998)(Zawia et al., 2009)

Les domaines membranaires riches en cholestérol jouent un rôle important dans plusieurs voies de signalisation cellulaire. La sphingomyéline est une source majeure de céramides, des médiateurs lipidiques générés lorsque la sphingomyéline est clivée par les sphingomyélinases, des enzymes activées par les cytokines inflammatoires et le stress oxydatif. Les céramides tiennent un rôle important dans la régulation des processus physiologiques, y compris la prolifération et différenciation cellulaire et dans l'apoptose.

Il a été observé une augmentation des taux de stress oxydatif liés au membrane, de céramides à longues chaînes et de cholestérol libre chez des patients souffrant de la MA et des neurones exposés à l'A β .

L'accumulation intracellulaire des céramides et cholestérol, et la neurotoxicité d'A β peut être bloquée par l' α -tocophérol suggérant un bénéfice thérapeutique potentiel des agents ciblant le métabolisme des sphingolipides dans la MA.

Accumulation de céramides et cholestérol dans les cellules du cerveau et lien avec le stress oxydatif lors du vieillissement normal.

Les dommages oxydatifs sur les cellules du cerveau augmenteraient lors du vieillissement et l'exposition des cellules du cerveau au stress oxydatif entraînerait l'accumulation de cholestérol dans les membranes. Les taux d'adduits d'HNE sont plus élevés dans les tissus corticaux de souris âgées suggérant une association entre l'augmentation du stress oxydatif lié à l'âge et l'augmentation des taux de céramides et de cholestérol.

Les taux de céramides et de cholestérol ne sont augmentés que dans les régions vulnérables du cerveau des patients souffrant de la MA. Des études ont montré que les taux de céramides et de cholestérol libre dans le cortex frontal des patients atteints de MA (zones riche en plaques amyloïdes et neurofibrilles) étaient bien supérieurs à ceux révélés chez des patients témoins, ce qui n'était pas le cas dans le cerebellum (région plus pauvre en plaques et neurofibrilles)(fig. 5a). Le cortex frontal des patients souffrant de MA est également plus riche en adduits d'HNE.(fig. 5b). Ces résultats indiquent que les changements spécifiques dans le cholestérol cellulaire et le métabolisme des sphingolipides sont associés au stress oxydatif membranaire et à la vulnérabilité sélective des neurones dans la MA.

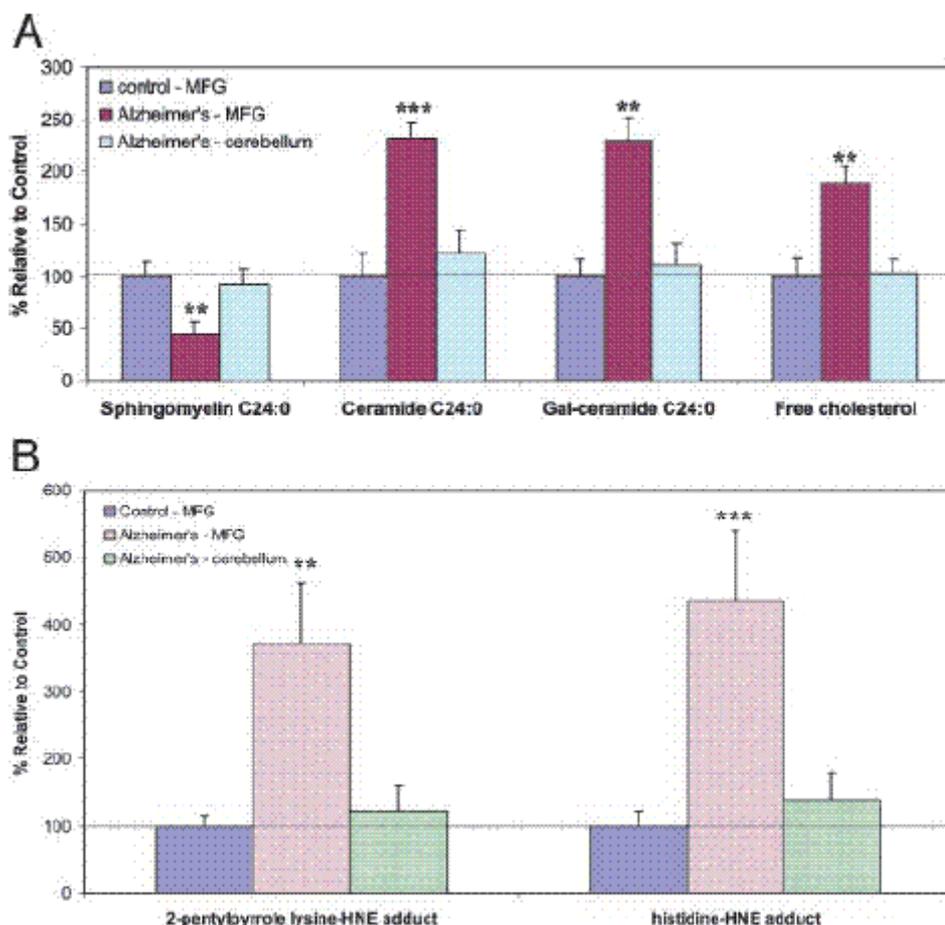


Figure 5: Taux de céramides et de cholestérol dans le cerveau liés au stress oxydatif. A: taux de sphingomyéline, céramide et cholestérol libre dans le gyrus frontal et le cerebellum des patients atteints de la MA et chez les contrôles. B: Taux d'adduits d'HNE chez les patients souffrant de MA et les contrôles.(Cutler et al., 2004)

Les taux de céramides à longues chaînes sont supérieurs dans les membranes des patients souffrant de la MA et l'augmentation est proportionnelle à la sévérité de l'atteinte.(fig.6 b) Les taux de cholestérol libre sont bien plus élevés dans les membranes cellulaires de patients malades et l'augmentation est proportionnelle à la sévérité de l'atteinte, de même pour l'HNE.

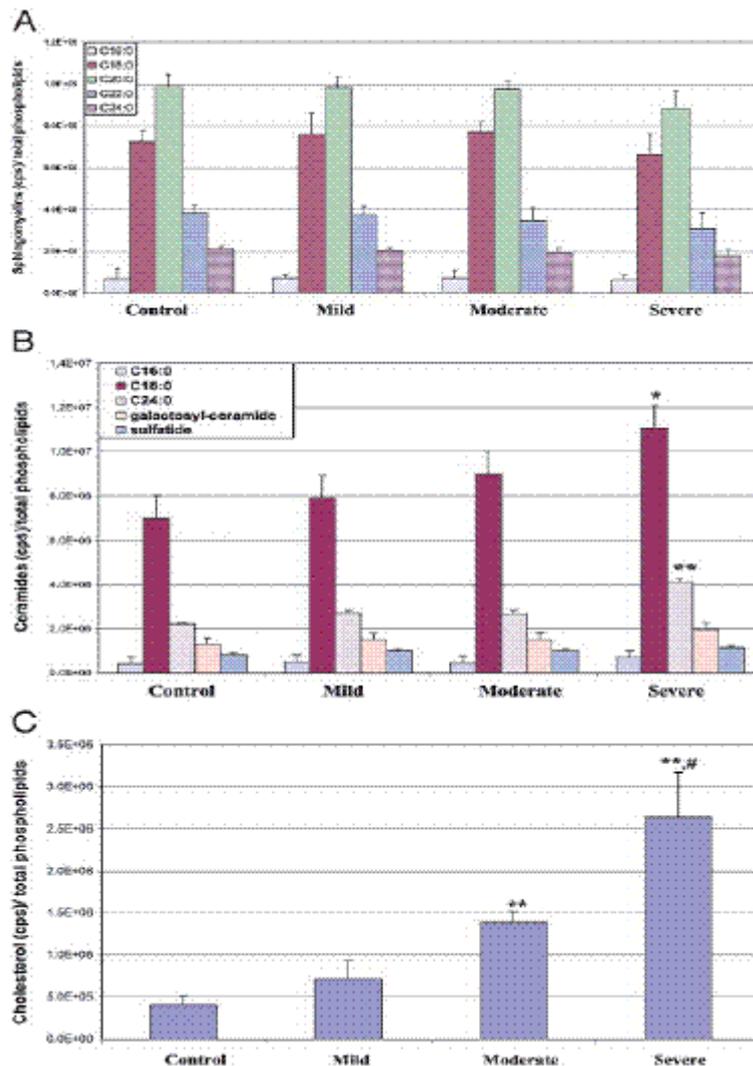


Figure 6: Taux de céramides associées aux membranes et du cholestérol libre sont augmentés avec la sévérité de la MA. (Cutler et al., 2004)

La protéine A β et la peroxydation des lipides membranaires induit l'accumulation de céramides et cholestérol dans les neurones.

Le stress oxydatif associé aux membranes et la production de céramides sont nécessaires à la mort neuronale induite par la protéine A β .

Lors d'exposition de neurones à l'A β , il a été remarqué que ce peptide neurotoxique pourrait être responsable des anomalies des lipides membranaires dans la MA, et que ces altérations lipidiques seraient un événement pivot des effets neurotoxiques de l'A β .

Lorsqu'on assemble les données sur l'implication du stress oxydatif dans le vieillissement du cerveau et la MA, la séquence suivante d'événements dans la pathogénie de la MA se construit (schéma 4).

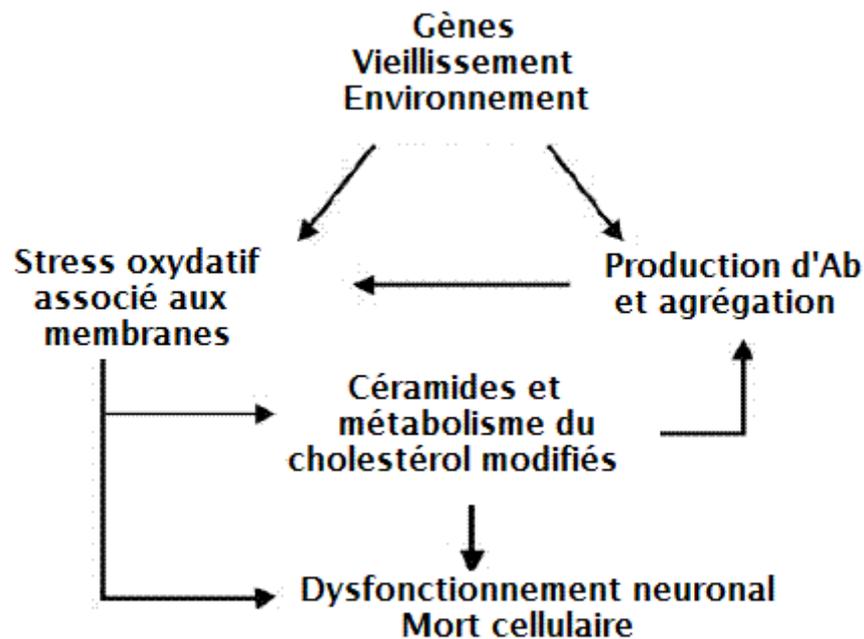


Schéma 6: Modélisation du rôle du métabolisme des lipides membranaires modifiés dans la pathogénie de la MA. Les facteurs génétiques et /ou environnementaux associés au vieillissement résultent au processus protéolytique altéré de l'APP et une augmentation de la production de l'Aβ et son agrégation. Cette dernière induit un stress oxydatif associé aux membranes, ce qui altère le métabolisme lipidique des membranes, et une augmentation des taux de céramides et cholestérol. Les variations du métabolisme des sphingolipides et cholestérol combinées au stress oxydatif causent un dysfonctionnement synaptique et des dégénérescences neuronales. Le métabolisme perturbé du cholestérol et des sphingolipides peut par la suite, augmenter la production d'Aβ en facilitant le clivage par l'α-sécrétase de l'APP.(Cutler et al., 2004)

Puisque l'augmentation des taux de céramides et de cholestérol membranaire est visible dans les régions sensibles lors de MA, et les céramides et cholestérol sont augmentés chez les patients présentant des symptômes modérés de MA, il est possible que les anomalies du métabolisme lipidique aient lieu précocement dans l'apparition de la MA.(Cutler et al., 2004)

Dans l'hippocampe on retrouve un taux élevé d'adduits de Michael HNE-histidine par rapport aux contrôles. Lui et al. ont montré que l'HNE pouvait également modifier de façon covalente les histidines des chaînes latérales du peptide Aβ, provoquant une agrégation plus importante de ce peptide.

Des taux plus élevés d'adduits de Michael GSH-HNE ont été observés dans l'hippocampe des patients atteints de MA et dans les cortex frontaux et temporaux. Dans des cellules normales, ces adduits sont éliminés par des protéines résistantes (MRP-1) alors que lors de MA, la glutathion S-transférase et la MRP1 sont modifiées par l'HNE ce qui peut induire une perte d'activité de la glutathion transférase et contribuer à l'augmentation des taux d'HNE et l'accumulation des adduits HNE-protéine.

L'expression et l'activité de l'aldéhyde déshydrogénase, qui transforme l'HNE en acide, est diminuée dans le cerveau MA. L'HNE modifie également les protéasomes, ce qui provoque une augmentation des molécules cytotoxiques.(Lui et al., 2008)

Les taux de F(2)-Isoprostanes, F(4)-neuroprostanes et isoprostanes sont également augmentés chez les sujets atteints de MA. Le taux de MDA est augmenté et se concentre dans les neurofibrilles et plaques amyloïdes chez les patients atteints de MA. Le taux de MDA est d'ailleurs en corrélation avec la diminution de l'activité de la SOD.

Une étude sur le liquide cébrospinal montre des taux élevés d'isoprostanes chez les patients souffrant de MA et serait réduit lors des traitements par α -tocophérol et vitamine C chez les patients malades.

Les membranes neuronales sont riches en acides gras polyinsaturés, source de peroxydation lipidique, et leur capacité anti-oxydante est limitée. Le cortex des individus souffrant de la MA présente un taux supérieur d'oxydation des acides gras polyinsaturés, des défenses altérées, des taux élevés de consommation d'oxygène avec des variations régionales. Les dommages oxydatifs de l'ADN dans le cerveau des patients atteints de la MA sont significativement élevés dans les mitochondries des lobes frontaux pariétaux et temporaux. (Butterfield et al., 2010)

2- Les glucides

Glucide: terme sous lequel on désigne les hydrates de carbone *oses* (ou sucres simples) et *osides* : holosides, polyosides et hétérosides. Les g. constituent une source et une réserve d'énergie; ils entrent dans la composition des acides nucléiques et des parois des cellules végétales et bactériennes. Ils se lient volontiers aux lipides et protéines. (Garnier Delamare, 2004)

a- Voie des polyols

Les deux voies de métabolisme du glucose en condition normoglycémiques, la glycolyse et la voie des pentoses-phosphates, fonctionnent moins bien lorsque la concentration en glucose est augmentée. L'hexokinase, qui permet la phosphorylation du glucose puis son utilisation dans ces deux voies, est saturée à de fortes concentrations de glucose. L'accumulation du glucose dans des tissus insulino-dépendants active la voie des polyols qui fait intervenir deux enzymes: l'aldose réductase et la sorbitol déshydrogénase.

L'aldose réductase réduit le glucose en sorbitol en utilisant comme cofacteur la NADPH,H⁺ provenant de la voie des pentose-phosphates. Puis la sorbitol déshydrogénase l'oxyde en fructose en utilisant cette fois comme cofacteur la NAD⁺.

La principale conséquence de l'activation de la voie des polyols est la modification du statut redox intracellulaire résultant de la baisse des coenzymes réduits. De nombreuses enzymes antioxydantes comme la glutathion réductase utilise la NADPH,H⁺ comme cofacteur. Or, cette enzyme permet la régénération du glutathion réduit qui est un facteur prépondérant dans la défense contre le stress oxydant. La baisse du coenzyme réduit entraîne des anomalies de la formation du monoxyde d'azote puisque la NO-synthase l'utilise comme cofacteur.

La voie des pentose-phosphates produit du NADH,H⁺ et dégrade le peroxyde d'hydrogène. Lors d'hyperglycémie, cette voie étant moins efficace, le peroxyde d'hydrogène s'accumule, et la glycolyse est inhibée puisque le peroxyde d'hydrogène diminue l'activité de la glyceraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase.

L'inhibition de la voie des polyols semble réduire le stress oxydatif induit par l'hyperglycémie, elle évite également le cumul de fructose qui participe activement à la glycation des protéines, responsable de la production de EROs. (Karasu, 2010)

b- Glycation des protéines

Une des conséquences de l'hyperglycémie est la glycosylation non enzymatique ou glycation des protéines. Elle résulte de la formation d'une liaison covalente entre la fonction aldéhydique du glucose et les groupements amines libres des protéines (fonction N-terminale ou fonction ϵ -aminée des résidus lysine). Cette liaison après réarrangements, donne naissance à des produits dits d'Amadori qui présentent la particularité de posséder un groupement céto. Celle-ci peut en présence de métaux de transition (situés au niveau des résidus lysine et histidine), céder un électron à l'oxygène moléculaire, conduisant à la formation d'anions superoxydes. Ces produits d'Amadori peuvent être dégradés en composés α -dicarbonylés et en désoxyglucosones. Ces derniers sont plus réactifs que le glucose lui-même et forment des produits avancés de la glycation (AGE). Leur formation est dépendante des EROs et est augmentée par le dialdéhyde malonique ou par la déplétion en GSH. (Faure & Bonnefont-Rouselot, 2005)

De façon spontanée et comme tous les α -hydroxyaldéhydes, le glucose est capable de s'auto-oxyder en présence de métaux de transition et via son énediol. Il génère ainsi du peroxyde d'hydrogène et des intermédiaires réactifs tels que le radical hydroxyle et des cétoaldéhydes (produisant alors des anions superoxydes). Ces cétoaldéhydes contribuent aux liaisons covalentes du glucose avec les protéines.

Des études suggèrent un rôle de l'oxydation de l'enediol catalysée par les métaux de transition dans les dommages tissulaires associés à l'âge et au diabète. Ceci mène à penser au rôle des radicaux libres et du peroxyde d'hydrogène, produit par l'auto-oxydation du glucose, dans les altérations structurales induites par l'exposition des protéines au glucose.

Les adduits cétoaldéhyde-protéine peuvent également s'auto-oxyder par un mécanisme semblable et ce processus contribue à la fragmentation des composés qui n'est pas inhibé par les anti-oxydants. (Hunt et al., 1988)

Il est important de noter que les α - cétoaldéhydes ainsi que les produits d'Amadori peuvent également s'oxyder en présence de métaux de transition et générer des EROs. Ce mécanisme amplifiant l'attaque radicalaire aboutit à la formation de complexes multimoléculaires, à la modification de la conformation des protéines ou à la fragmentation des protéines en peptides.

La glycation est un médiateur du processus de vieillissement et des troubles variés. Des études *in vitro* et *in vivo* ont révélé que le fructose a une capacité réductrice plus importante que le glucose et que la réaction de glycation est plus facilement induite par le fructose. L'auto-oxydation du fructose produit de plus grandes quantités de composés α -dicarbonylés et de radicaux hydroxyles que le glucose. Des mécanismes possibles de la génération de ces composés sont présentés sur la figure ci-dessous (Semchyshyn et al., 2011):

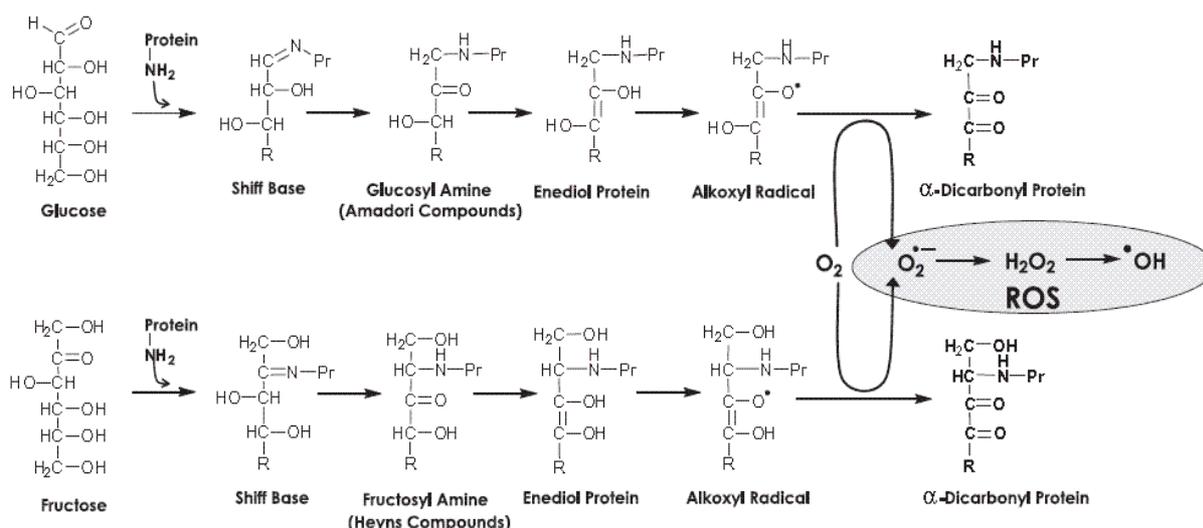


Schéma 7: La première étape, la réaction non-enzymatique entre les groupes amines de la protéine et le monosaccharide réduit, résulte en la formation des bases de Schiff. Elles se réarrangent ensuite en formant les produits d'Amadori ou de Heyns. Chacun de ces composés peut être transformés en protéine énediol puis en radicaux alkoxy. Ces derniers réagissent directement avec de l'oxygène moléculaire et génère l'anion superoxyde et les composés α -dicarbonyls. Puis, l'anion superoxyde peut être converti en peroxyde d'hydrogène qui produit des radicaux hydroxyles hautement réactifs. Les composés α -dicarbonyls et les EROs sont des facteurs majeurs associés au stress oxydatif/cabonyl. (Semchyshyn et al., 2011)

c- Glycoxydation et MA

Les AGEs, qui sont formés lors de réaction non-enzymatiques des sucres avec des dépôts protéiques anciens, sont également de puissantes neurotoxines et des molécules pro-inflammatoires.

La glycation des protéines débute comme un processus non-enzymatique avec la condensation spontanée des groupements cétones ou aldéhydes des sucres avec un groupe d'acides aminés libres des protéines pour former des bases de Schiff, ce qui correspond à la réaction classique décrite par Maillard en 1912. S'ensuit une cascade de réactions résultant en la formation des AGEs, qui sont composés d'agrégats hétérogènes de protéines liés irréversiblement. L'insolubilité des plaques amyloïdes est causée par les cross-link protéiques covalents.

L'accumulation des AGEs extracellulaires a été observée dans les plaques séniles situées dans diverses aires corticales. Des études immunohistochimiques montrent que les AGEs se retrouvent fortement là où est présente l'ApoE. L'accumulation extra-cellulaire des AGEs chez les patients souffrant de la MA est causée par l'oxydation accélérée des protéines glyquées. Les dépôts protéiques intracellulaires incluent les neurofibrilles, les corps de Lewy des patients parkinson, et les corps d'hirano qui subissent également des cross-link par les AGEs, ce qui peut expliquer leur insolubilité et leur résistance aux protéases. Le composant majeur des neurofibrilles, la protéine Tau, est sujette aux formations intracellulaire d'AGEs. Cette protéine peut être glyquée *in vitro*, inhibant alors sa capacité de se fixer aux microtubules. De plus, la protéine Tau isolée des cerveaux des patients atteints de la MA est glyquée dans les régions tubulin-binding, formant des fibrilles de couches β . Des études montrent la présence d'AGEs en association avec deux des protéines majeures de la pathologie A β 66 et Tau. Cette observation soutient l'argument que les AGEs sont impliqués dans la pathogénie de la MA. Les radicaux libres sont impliqués dans des processus de glycation et peuvent clairement provoquer la formation des cross-link d'A β .

Le métabolisme glucidique

Grâce à l'imagerie *in vivo* des patients souffrant de la MA, on a pu démontrer la réduction progressive du métabolisme glucidique du cerveau et du flux sanguin lors de démences sévères. Le métabolisme glucidique dans le cerveau limite la synthèse d'acétylcholine, glutamate, aspartate, acide γ -aminobutyrique, glycine et la production d'ATP. L'hypothèse que les facteurs génétiques et environnementaux mènent à un hypométabolisme glucidique intracellulaire qui peut prédisposer à une MA ou un diabète de type 2 est largement supportée par des études épidémiologiques. Ces études démontrent que le dt2 augmente significativement le risque de développer une MA. Il a été suggéré que cet effet est causé par la conjugaison de l'HNE, produit par la peroxydation lipidique, à la protéine de transport glucidique GLUT 3. La peroxydation lipidique causée par d'autres sources de stress oxydatif comme les microglies activées ou le fer libre extra-cellulaire, peut contribuer à la diminution de l'apport de glucose et de la dégénérescence neuronale. Cela corrobore les données histopathologique de la MA où la diminution de la fluidité membranaire dans la mitochondrie et des taux élevés de 8OHdG dans l'ADN mitochondrial peuvent être observés, ce qui suggère un lien entre le stress oxydatif et l'utilisation du glucose. Les neurofibrilles, qui sont largement composées de protéine Tau, et les plaques séniles, contenant des agrégats de $A\beta$, sont liés aux perturbations de l'équilibre entre la phosphorylation protéique et la déphosphorylation. (Gella & Durany, 2009)

d- Glycoxydation et AGEs

La réaction de Maillard réduisant les sucres avec les groupements aminés des résidus lysine ou arginine des protéines, puis le réarrangement d'Amadori et les glycoxydations médiées par les EROs, apportent un mélange de produits complexes appelés les AGEs. Ces produits peuvent se traduire par des cross-link protéiques ou encore des modifications des chaînes latérales d'une protéine unique, et altèrent significativement la conformation protéique menant à l'inactivation protéique.

Il est important de noter que la glycoxydation et le stress oxydatif sont mutuellement dépendant et se renforcent l'un l'autre. Alors que les sources de stress oxydatif diffèrent entre le diabète et la MA, certains AGEs se retrouvent dans les 2 pathologies.

On ne sait pas encore si les AGEs sont la cause ou la conséquence de la pathologie, mais il semblerait que le stress oxydatif ait un rôle primaire dans la MA. Cependant leur interaction avec les RAGEs entraînerait un signal de transduction délétère résultant en une dégénérescence cellulaire voire une apoptose ou la génération d'autres composés inflammatoires.

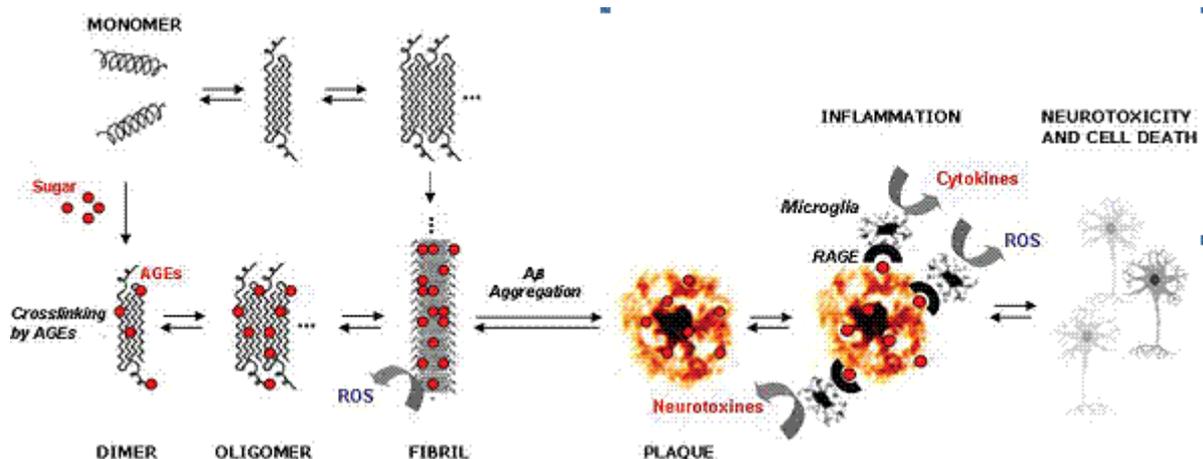


Illustration 9: Effets directs et indirectes des AGEs lors de la formation des agrégats de peptide amyloïde. (Gella & Durany, 2009)

Le glutathion est capable d'atténuer les dommages causés par l'HNE et le 4-OHNE car les groupements sulfhydryles du glutathion sont en compétition avec ceux des protéines. Cependant les taux de glutathion sont diminués lors de pathologies chroniques telles le diabète ou la MA. De la même façon d'autres mécanismes cellulaires anti-oxydants, comme ceux impliquant la superoxyde dismutase, sont également diminués lors de MA. Alternativement, des concentrations augmentées de HNE sont engendrées par l'expression cellulaire de protéines antioxydantes (hème-oxygénase 1 ou thioredoxine réductase 1) en cas de néphropathie diabétique et MA. Le stress oxydatif induit par l'A β peut être dû en partie à l'HNE et les molécules pro-oxydante, et il a été démontré que l'activation des protéines kinases, par l'intermédiaire de l'HNE augmentée lors de MA, était un événement précédant l'apoptose neuronale induite par l'A β . Les mitochondries sont également impliquées dans le dommage oxydatif lors de MA et peut-être dans les complications diabétiques.

Le stress oxydatif est un des événements les plus précoces lors des changements neurologiques et pathologiques de la MA, alors que les effets du stress oxydatif se manifestent par une accumulation lente d'AGEs et de produits de la peroxydation lipidique lors de diabète.

Le stress oxydatif mène à une agrégation protéique irréversible et donc une dégénérescence neuronale lors de MA. Les produits de la peroxydation lipidique comme l'HNE, se lient à la protéine Tau phosphorylée et forment des filaments appariés accélérant alors la formation de neurofibrilles. C'est pourquoi des thérapies antioxydantes combinées à une thérapie inhibitrice des AGEs pourraient être une approche efficace dans le cas de MA et des complications liées au diabète. Le stress oxydatif résulte également en des liaisons covalentes entre les filaments de protéines Tau afin de former de grands agrégats résistants au clivage protéolytique.

On retrouve dans les plaques amyloïdes et les neurofibrilles des ions ferriques et cuivreux. Des chélateurs d'ions métalliques tels la desferrioxamine (chélateur d'ion ferrique) tetrathiomolybdate (chélateur d'ion cuivreux) et mercaptopropanol (chélateur de plomb et mercure) atténuent l'expression de l'APP, et diminuent donc la sécrétion d'APP et la toxicité de l'A β . Ils seraient donc des thérapies utiles dans la MA.

Les modifications oxydatives des protéines, lipides et acides nucléiques par l'intermédiaire de glycoxydations et de peroxydations lipidiques génèrent un complexe d'AGEs et de produits de la peroxydation lipidique de plus en plus montré comme prévalent dans la MA et neuropathies et néphropathies diabétiques. Les AGEs par leur réaction avec leur récepteur, génèrent des cytokines inflammatoires et induisent un signal de transduction qui peut résulter en apoptose cellulaire. (Reddy et al., 2009)

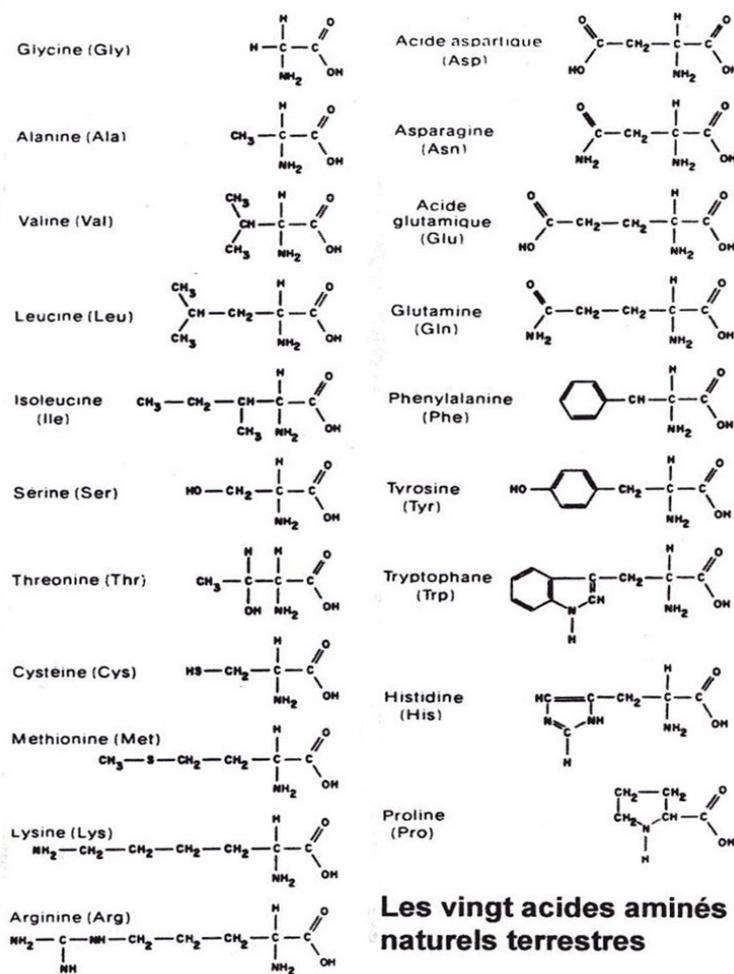
Au cours de la maladie d'Alzheimer, des études épidémiologiques et immunohistochimiques attirent l'attention sur la contribution des glucides à la physiopathologie de la maladie d'Alzheimer; le diabète en augmente le risque. La concentration de carboxyméthyl-lysine (CML), AGE de très haute affinité pour le récepteur aux AGE (RAGE), est augmentée dans le liquide céphalorachidien des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Les AGE sont détectés dans les plaques séniles extracellulaires qui contiennent les agrégats amyloïdes et dans les enchevêtrements neurofibrillaires à l'intérieur du cytoplasme des neurones. Les dépôts d'AGE sont inversement proportionnels à la formation du tissu neurofibrillaire, spécialement au niveau de l'hippocampe. (Boulanger et al., 2007)

3- Les protéines

a- Définition

Protéine: Composé organique polymère formé à partir d'acides aminés comme monomères. Les chaînes formées comprennent de 50 à 1000 molécules de monomères. Sur les 200 acides aminés connus, vingt seulement entrent dans la composition des *p.* des mammifères. Celles-ci jouent un rôle capital, cumulant des fonctions biologiques (enzymes, hormones, chromosomes, virus), de transport (hémoglobine, sérum-albumine, protéines membranaires), de défense (immunoglobulines) et de matériaux de structure (muscles, cartilages, peau, cheveux). On les divise en *holoprotéines* [groupe de protéines dont l'hydrolyse produit presque uniquement des acides aminés. On les divise notamment en protamines, histones, albumines, globulines et scléroprotéines] (ou protéines) et *hétéroprotéines* [groupe de protéines complexes, dont l'hydrolyse produit des acides aminés et des substances non protidiques (groupement prosthétique)]. On les divise en glucoprotéines, lipoprotéines, nucléoprotéines, chromoprotéines et phosphoprotéines]. Sous sa forme de simple enchaînement d'acides aminés, la structure des *p.* est dite *primaire*. La présence répétée de groupes polaires -CO-NH-, voire d'atomes de soufre, offre de multiples possibilités de liaisons chimiques rendant la structure plus stable. La formation de liaisons entre groupements polaires -CO et -NH non voisins donne des structures dites *secondaires* monodimensionnelles (hélice droite, structure α) ou bidimensionnelles (feuilletts plissés, structure β). Sous l'action de nombreux sites pouvant encore réagir, la structure secondaire peut soit se déformer et prendre une configuration tridimensionnelle, dite structure *tertiaire*. Cette configuration est unique, mais fortement influencée par le milieu aqueux extérieur (température, pH, concentration). Elle peut aussi s'associer à d'autres et former une structure *quaternaire* (par exemple l'hémoglobine). (Garnier Delamare, 2004)

Acides aminés: Nom générique des composés organiques possédant simultanément une fonction amine (-NH₂) et une fonction acide (on parle respectivement d'extrémités N-terminale [amine] et C-terminale [carboxyle]). Ils se combinent entre eux pour former les peptides, éléments constitutifs des protéines. Les *a.a* constituant les protéines alimentaires sont au nombre de 20. 8 ou 9 d'entre eux (controverse au sujet de l'histidine) ne peuvent être synthétisés par l'organisme. Ce sont les *a.a* essentiels d'origine exclusivement alimentaire. Certains *a.a* sont aliphatiques d'autres aromatiques. Par ailleurs ils sont classés en acides, neutres et basiques. (Garnier Delamare, 2004)



Les vingt acides aminés naturels terrestres

Illustration 10: Les acides aminés naturels.

b- L'oxydation des protéines

Les réactions avec les radicaux hydroxyles mènent à une soustraction d'atome d'hydrogène de la chaîne principale du polypeptide protéique pour former un radical centré sur un carbone, qui dans des conditions aérobies réagissent directement avec le dioxygène afin de former des radicaux peroxy. Ces radicaux sont ensuite convertis en peroxydes alkyle par des réactions avec les formes protonées de l'anion superoxyde (HO_2^-). En l'absence de radiation ionisante, les mêmes réactions peuvent être initiées par des radicaux hydroxyles produits par une réaction de Fenton.

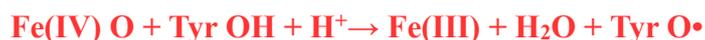
En l'absence de radiations, les protéines sont résistantes aux dommages causés par H_2O_2 et les autres oxydants simples à moins que des métaux de transition soient présents. Les dommages aux protéines catalysés par des métaux impliquent une scission oxydative, perte de résidus histidine, liaison bityrosine, introduction de groupements carbonyles et formation de protéine centrée sur des radicaux alkyle, alkoxy ou alkyl-peroxy. Les radicaux alkoxy dérivés des protéines sont capables d'intervenir dans le clivage de liaisons peptidiques. Ce dernier peut également avoir lieu par des attaques initiées par des radicaux hydroxyles de résidus d'acide glutamique ou proline afin de former des produits divers. Les dommages protéiques sont réversibles et sont non létaux pour les cellules.

Puisque la proline, l'arginine, la lysine et la cystéine sont très sensibles à l'oxydation par des métaux redox (cuivre et fer), cette oxydation protéique peut être un procédé site-spécifique. Il est aujourd'hui accepté que le fer se lie aux sites de liaison protéiques de faible et forte affinité

probablement sur les acides aminés mentionnés précédemment. Les complexes Fe(II)-protéine réagissent avec H₂O₂ via des réactions de Fenton produisant des espèces oxygénées actives sur le site.

Giulivi et Cadenas ont montré que le spectre des radicaux d'acides aminés consiste en un mélange de trois signaux attribués à un radical peroxy, un radical tyrosyl et des radicaux présents dans des peptides contenant des acides aminés aromatiques. Il a été observé que ce dernier vivait relativement longtemps à proximité de l'hème ferrique. Il a donc été proposé que ce soit le premier site des radicaux protéiques.

La réduction du complexe ferryl par la tyrosine est décrite par la réaction:



et alternativement par les autres acides aminés mènent à la formation d'autres radicaux d'acides aminés par un transfert d'électron qui a lieu à travers les protéines.

Le radical protéique est hautement délocalisé vers la partie globine par un processus dynamique formant des radicaux secondaires.

Les résidus aminés des chaînes latérales sont les plus vulnérables face aux attaques par les EROs et génèrent les produits suivants:

arginine	→	semialdéhyde glutamique
glutamate	→	4-hydroxy-glutamate
histidine	→	2-oxo-histidine
tyrosine	→	3,4-dihydroxy phénylalanine, Tyr-Tyr cross-link, 3-nitro-tyrosine
valine	→	3,4-hydroxy valine
cystéine	→	cys-S-S-cys, cys-S-S-R disulfure
proline	→	semialdéhyde glutamique, 2-pyrrolidone-4-hydroxy-proline
méthionine	→	sulfone et sulfoxyde de méthionine

Le peroxy-nitrite est capable de nitrer les groupements sulfhydryl des cystéines protéiques et d'oxyder les résidus méthionine en sulfoxyde de méthionine. Cependant ces modifications sont inhibées par la concentration physiologique de CO₂ avec qui le peroxy-nitrite forme le ONOOCO₂



La nitration des résidus tyrosine, qui est un processus irréversible, prévient la phosphorylation ou l'adénylation des résidus tyrosine des protéines de régulation

Lorsque l'anion superoxyde subit une dismutation, le monoxyde d'azote réagit directement avec les substances biologiques et forme un complexe.

L'oxydation des protéines est associée à la formation de plusieurs types de cross-link inter- et intra-protéique, incluant celles formées par

- L'addition d'un groupement amino-lysine au groupe carbonyle d'une protéine oxydée
- L'interaction de deux radicaux centrés sur un carbone formés par le retrait d'hydrogène des polypeptides de structure.
- L'oxydation des groupements sulfhydryl des résidus cystéine pour former des cross-link S-S
- L'oxydation des résidus tyrosine pour former des cross-link -tyr-tyr-

Les résidus cystéine et méthionine sont particulièrement sensibles à l'oxydation par les EROs. Mais l'oxydation des acides aminés sulfurés est réversible. Les produits oxydés de la cystéine peuvent être réparés par une réaction d'échange de disulfure catalysée par des thiols transférases

L'oxydation de la méthionine mène à un mélange d'isomères -S et -R de sulfoxyde de méthionine. Puisque toutes les EROs sont capables d'oxyder les résidus méthionine, il a été proposé que l'oxydation cyclique et la réduction de ces résidus aient une fonction anti-oxydante afin de protéger la cellule des dommages oxydatifs. (Valko et al., 2006)

L'importance des dommages causés par le stress oxydatif des acides aminés et/ou protéines dépend de nombreux facteurs tels que la nature et la localisation de l'oxydant ou la source de radicaux libres, la proximité du radical/oxydant de la protéine cible et la nature et la concentration des enzymes et composés antioxydants disponibles. L'oxydation des acides aminés aliphatiques mène à la formation de NH_4^+ et de cétoacides alors que les chaînes latérales aromatiques sont les cibles majeures des radicaux libres sur la tyrosine, la phenylalaline et le tryptophane.

En plus de la modification des chaînes latérales, les réactions d'oxydation peuvent également intervenir dans la fragmentation des chaînes polypeptidique et des réticulations intra- et intermoléculaire des peptides et protéines. La fragmentation oxydative des chaînes polypeptidiques commence avec la formation d'un radical centré sur un carbone qui réagit avec l'oxygène afin de former tout d'abord une espèce peroxy puis un hydroperoxyde. La décomposition d'un tel hydroperoxyde résulte en un clivage de la chaîne peptidique et la formation d'un cétoacyl et de dérivés amides des acides aminés carboxy- et amino-terminaux. Ainsi, les produits du clivage des chaînes polypeptidique dû à des radicaux oxygénés ne sont pas de réels peptides mais des fragments aux acides aminés terminaux dérivés.

La formation d'agrégats de protéines a également lieu lors de réactions avec des radicaux libres. De grands agrégats de protéines liées par covalence (comme des disulfides) ou par liaisons non-covalentes (liaisons hydrophobes ou électrostatiques) sont des produits communs de l'oxydation intracellulaire des protéines. Les liaisons covalentes impliquent la recombinaison des radicaux des chaînes latérales des acides aminés centrés sur un carbone.

Les protéines présentes dans les cellules ou les organelles sont sujettes aux mêmes réactions d'oxydation directes. Les protéines intracellulaires peuvent également être oxydées par des mécanismes secondaires résultant des réactions des radicaux libres sur d'autres constituants cellulaires comme les lipides, les hydrates de carbone ou les acides nucléiques. De plus, d'autres produits oxydés (non radicalaires) formés incluant peroxydes, aldéhydes et carbonyles peuvent former directement des adduits avec les protéines. (Grune et al., 1997)

c- Oxydation de la structure protéique

Les connaissances actuelles sur le mécanisme de la modification des protéines par les radicaux libres proviennent en grande partie des études réalisées par Garrisson, Swallow, Schuesler et Schilling qui portèrent sur la réaction entre une solution aqueuse de protéines et des radiations ionisantes en présence d'oxygène sous des conditions telles que seules les radicaux HO^\cdot Et O_2^\cdot ou les deux soient formés. Les résultats trouvés montrent que la voie principale implique la soustraction d'un atome d'hydrogène dépendante du radical HO^\cdot de n'importe quel résidu d'acide aminé pour former un dérivé radicalaire centré sur un carbone (*réaction c sur le schéma*) qui s'en suit par l'addition d'une molécule d'oxygène menant alors à un radical alkyl-peroxy (*réaction d*), ce dernier réagit avec la forme protonée de l'anion superoxyde et donne un peroxyde alkyle (*réaction f*).

La réaction entre ce peroxyde et HO_2^\cdot amène un radical alkoxy-protéique (*réaction h*) qui peut intervenir dans le clivage des liaisons peptidiques ou réagir par la suite avec un HO_2^\cdot Pour donner

un dérivé hydroxyle (*réaction j*).

Ces réactions sont récapitulées dans le schéma ci-dessous:

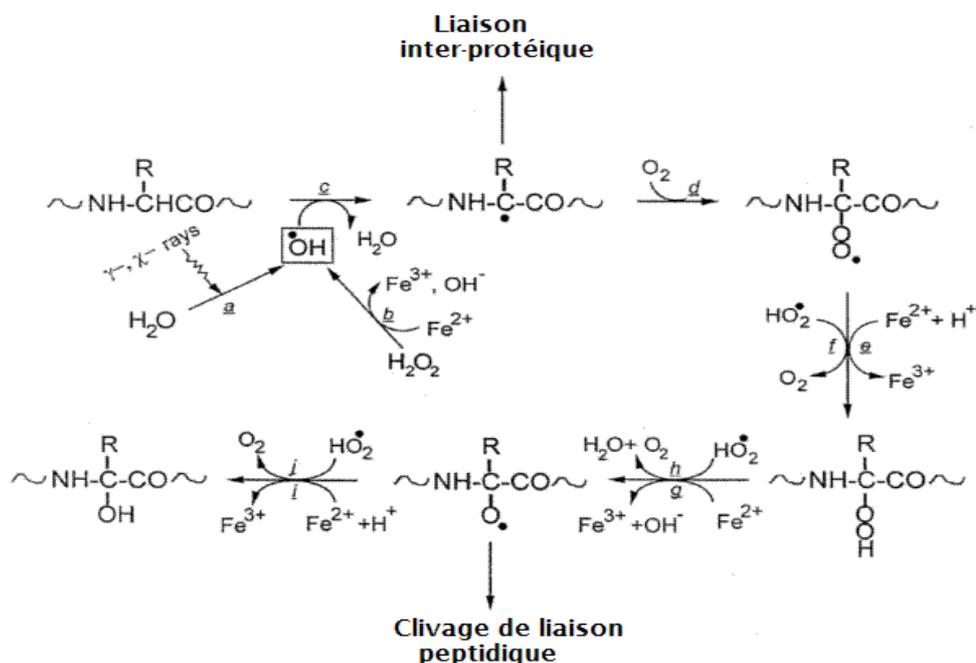


Schéma 8: Réaction de Fenton sur des acides aminés.

Les radicaux protéiques alkyle, peroxy et alkoxy intermédiaires peuvent également enlever un atome d'hydrogène des résidus d'acides aminés de la même molécule protéique, ou non, et former un autre radical centré sur un carbone qui subira les mêmes séries de réactions. Il est important de noter que ces mêmes réactions en chaîne peuvent être initiées par HO· produit par le clivage, dépendant de Fe^{2+} , de H_2O_2 (*réaction b*) et que l'ion ferreux peut remplacer $HO_2\cdot$ dans les réactions *f*, *h* et *j*. Cela montre l'importance des réactions d'oxydation protéique catalysée par un métal.

d- Clivage des liaisons peptidiques

Comme indiqué dans le schéma précédent, les dérivés alkoxydes des protéines peuvent être impliqués dans le clivage des liaisons peptidiques. Ce clivage peut être réalisé de deux façons:

- La voie des diamides (*réaction a*)
- La voie de l' α -amidation (*réaction b*)

Mais le clivage des liaisons peptidiques peut également avoir lieu par une oxydation par les EROs des chaînes glutamyl- latérales. Par cette voie, l'acide oxalique est formé et l'acide aminé N-terminal d'un fragment peptidique devient un dérivé pyruvyl. Uchida a démontré que les résidus de proline du collagène sont oxydés en dérivés 2-pyrrolidone avec un clivage peptidique concomitant:



e- Oxydation des résidus d'acides aminés des chaînes latérales

Tous les résidus d'acides aminés de protéines sont des cibles pour l'oxydation générée par $HO\cdot$ exposé à des radiations ionisantes ou à des hautes concentrations d'ions Fe^{2+} ou Cu^{2+} . Les résidus de phénylalanine sont oxydés en dérivés mono-ou dihydroxydes, les résidus tyrosine en dérivé 3,4-dihydroxyphénylanine qui peuvent ensuite entrer dans un cycle redox et donc la production de plus

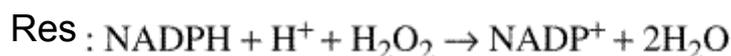
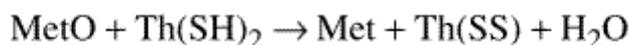
d'EROs. Les résidus tyrosine peuvent également être transformés en nitrotyrosine, chlorotyrosine et radicaux tyrosyles qui peuvent interagir les uns avec les autres pour former des dérivés dityrosiniques intra- ou inter-protéiques. Les résidus tryptophanes sont oxydés en divers dérivés hydroxy- (auréomycine, N-formyl-kynurénine et 3-Hydroxy-kynurénine, oxindole et dérivés hydroxytryptophane). Les résidus Histidine sont oxydés en 2-oxohistidine, 4-OH-Glutamate, asparagine et aspartate.

f- Oxydation des acides aminés soufrés

Les résidus cystéine et méthionine des protéines sont de loin les plus sensibles à l'oxydation par l'intermédiaire de la majorité des EROs. Contrairement à l'oxydation des autres acides aminés, les produits de la réaction d'oxydation primaire, les disulfides protéiques (P1SSP2), peuvent être réparés par une réaction d'échange de disulfides grâce à des thiols-transférases qui catalysent les réactions entre le glutathion (GSH) ou la thioredoxine (Th(SH)₂) pour régénérer le groupement protéique sulfhydryl (PSH) et les dérivés sulfides de la glutathion oxydase (GSSG) ou de la thioredoxine (Th(SS)).

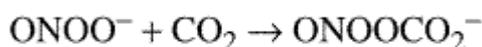
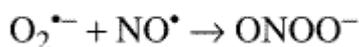
Les dérivés disulfides du glutathion et de la thioredoxine peuvent être tous les deux réduits par des réductases spécifiques utilisant NADPH comme donneur d'électrons.

D'une manière analogue, l'oxydation des résidus méthionine en sulfoxyde de méthionine peut être inversée par la réaction Th(SH)₂-dépendante catalysée par la méthionine sulfoxyde réductase (MSR). Comme montré ci-dessous, quand l'oxydation des résidus méthionine (Met) en méthionine sulfoxyde (MetO) par H₂O₂ est couplée à la régénération de Met et celle de Th(SH)₂, la réaction globale se traduit par la conversion NADPH-dépendante de H₂O₂ en 2 moles de H₂O. Il est également évident que la substitution de H₂O₂ par un autre ERO dans la première réaction produira une conversion NADPH-dépendante de cet ERO en une espèce inactive. Tenant compte de cette affirmation, il a été proposé que l'oxydation des résidus méthionine servait de première ligne de défense anti-oxydante contre les dommages des EROs.



g- Modification des protéines par les peroxynitrites

Bien que l'oxyde nitrique dérivé du métabolisme de l'arginine a un rôle important comme second messenger dans la régulation de plusieurs fonctions cellulaires, par la réaction avec l'anion superoxyde, il est transformé en un peroxynitrite hautement toxique, qui réagit avec les groupements cystéine sulfhydryl, nitrate de tyrosine et les résidus tryptophanes, et oxyde les résidus méthionine des protéines. Cependant, il a été observé que les peroxynitrites (PN) réagissent rapidement avec le CO₂ et forme ainsi le dérivé ONOOCO₂⁻ capable de nitrer les composés aromatiques.



Il a été établi que la toxicité des peroxy-nitrites est gouvernée par leur habilités à générer des radicaux libres variés ($\text{HO}\cdot$, $\text{O}_2\cdot^-$, $\text{NO}_2\cdot$ et $\text{CO}_2\cdot$) par des mécanismes schématisés ci-dessous où X, Y et Z représentent les «couples radicalaires piégés».

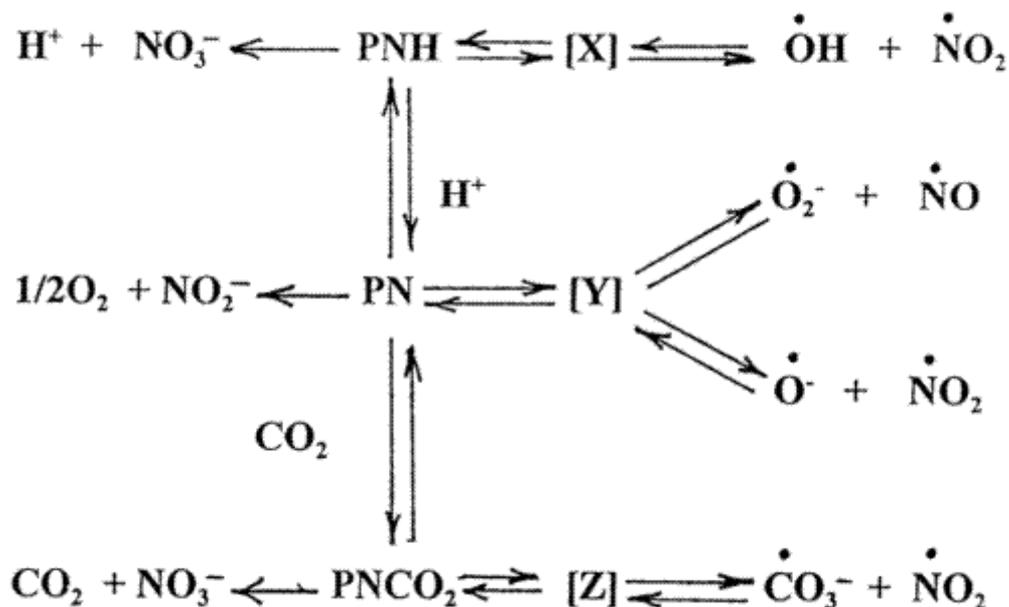


Illustration 11: Nitration des protéines

h- Génération de dérivés carbonyles

Les résidus lysine, arginine, proline et thréonine des protéines sont particulièrement sensibles à l'oxydation catalysée par les métaux, produisant à chaque fois des dérivés carbonyles. Comme remarqué précédemment, les dérivés peptidiques carbonyles sont également obtenus comme produits de la fragmentation du clivage des liaisons peptidiques. De plus les dérivés carbonyles des protéines peuvent être formés par l'interaction entre des acides aminés des chaînes latérales des protéines (groupes cystéine sulfhydryl, groupe histidine imidazole et groupe lysine aminé) avec des produits de la peroxydation lipidique comme l'HNE, l'acroléine, et la MDA ainsi que par des réactions directes, de glycation/glycoxydation produisant des adduits carbonyles, et indirectes menant à des dérivés N-carboxymethyl-lysine.(Stadtman, 2001)(Levine, 2002)(Shacter,2000)

i- Rôle de l'oxygène singulet

Le taux de réaction chimique entre l'oxygène singulet et les chaînes latérales d'acides aminés libres varie énormément. Ceci se traduit par des dommages sélectifs sur des résidus spéciaux. Parmi les acides aminés communs seuls l'histidine, la tyrosine, la méthionine, la cystéine et la cystine en plus du tryptophane réagissent significativement à des taux de pH physiologiques. Les autres types de chaînes latérales réagissent bien plus lentement à des valeurs neutres de pH. A de hautes valeurs de pH, non rencontrées physiologiquement, l'arginine et la lysine réagissent rapidement par des formes non protonées. Il a été observé que d'autres acides aminés de chaînes latérales réagissaient mais que ces réactions provenaient de procédés secondaires ou réactions « obscures » ayant lieu après la cessation de la photolyse.(Davies, 2003)

Exemple: réaction avec le tryptophane

La réaction initiale de ce résidu avec l'oxygène singulet produit, soit un dioxetane sur la double liaison C2-C3 soit un hydroperoxyde sur C3.

La décomposition de cet intermédiaire par le clivage de la double liaison C2-C3 apporte la N-formylkynurénine alors que la fermeture du cycle mène aux composés 3 α -hydroperoxytryptophane et 3 α -hydroxytryptophane qui par la suite donnent la N-formylkynurénine également.

La décomposition des peroxydes initiaux peuvent impliquer des réactions non radicalaires ou des clivages homolytiques de la liaison -O-O- afin de produire des radicaux. (Davies, 2003)

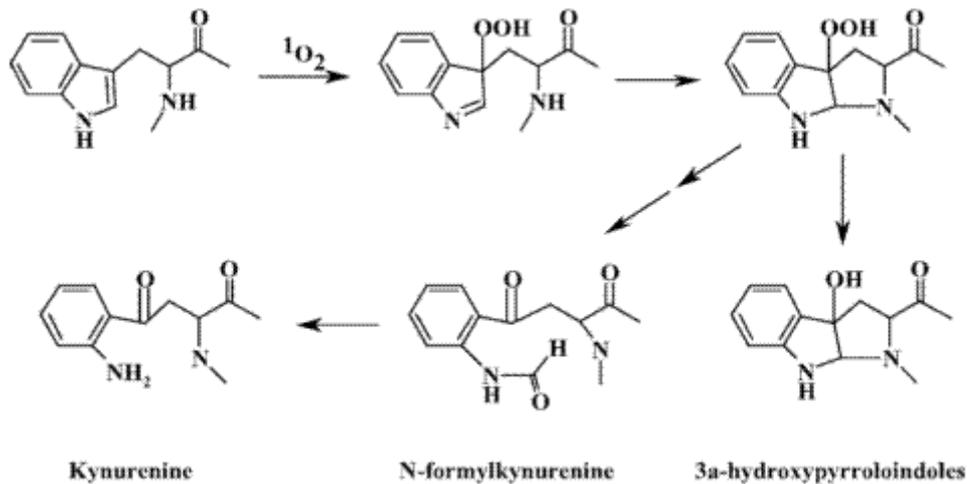


Illustration 12: Réaction de l'oxygène singulet avec le tryptophane (Davies, 2003)

j- Oxydation des protéines lors de MA

L'oxydation des chaînes latérales des protéines par l'intermédiaire des EROs résulte en l'introduction de groupements hydroxyles ou la génération de molécules carbonylées basées sur des protéines. Les groupes carbonyles sont insérés dans les protéines par l'oxydation des résidus hydroxyles d'acides aminés des chaînes latérales en cétones ou dérivés d'aldéhydes. Un type de voie oxydative mène à la carbonylation des protéines. Les groupements carbonyles peuvent être amenés dans les protéines par une oxydation directe des résidus lysine, arginine, proline et thréonine, ou par le clivage des liaisons peptidiques par la voie d' α -amidation ou par l'oxydation des résidus glutamyl. Les EROs peuvent également réagir avec d'autres molécules comme les lipides, l'ADN et les sucres ce qui résulte en la production de dérivés carbonylés réactifs et aldéhydes, qui peuvent en retour réagir avec les protéines et former des liaisons carbonyles-protéine. La mesure de cette carbonylation amène une bonne estimation de l'étendue des dommages oxydatifs des protéines en lien avec des conditions variées de stress oxydatif, vieillissement et désordre physiologique dans la MA. (Gella & Durany, 2009)

Carney et al. ont décrit une accumulation de protéines oxydées dans le cortex frontal. Hensley et al. ont étudié quatre marqueurs biologiques d'oxydation des protéines et ont observé une augmentation significative de toutes leurs concentrations au niveau de l'hippocampe et du cortex pariétal inférieur des patients souffrant de la MA, qui correspond aux régions riches en plaques séniles. Lyras et al. trouvèrent une augmentation de la concentration des protéines carbonylées dans le lobe pariétal, sans différences significatives par rapport aux témoins. Smith et al. détectèrent également une

augmentation des carbonyles libres dans des lésions intraneuronales. Les niveaux de carbonyl-réductases sont également augmentés dans le cerveau de patients souffrant de la MA. Les produits finaux de glycation des protéines, qui augmentent avec le vieillissement, semblent être augmentés dans le LCR des patients souffrant de la MA. Ils sont capables d'augmenter la peroxydation lipidique et se localisent sur les sites riches en dépôts de MDA neuronales et gliales chez les patients souffrant de la MA. (Jiménez-Jiménez et al., 2006) (Carney et al., 1994) (Lyras et al., 1997) (Smith et al., 1998)

Les protéines carbonylées sont augmentées dans la MA et il y a une correspondance régionale entre la formation des carbonyles et les marqueurs histopathologiques lors de MA.

Il a été observé que dans les régions fortement affectées des cerveaux atteints de la MA, une augmentation de l'immunoréactivité des protéines carbonylées a lieu dans des corps cellulaires des neurones, sans changement pathomorphologique ainsi que dans des neurones avec des anomalies neurofibrillaires.

Un taux important de protéines carbonylées dans l'espace entourant les neurofibrilles peut être lié au stade de développement. Les groupes carbonyles dans les protéines associées aux neurofibrilles, aux stades initiaux de la formation des tas fibrillaires peuvent participer aux réactions de cross-link ou peuvent être transformés en dérivés non-carbonylés.

Les AGEs sont présents dans les neurofibrilles extra-neuronales et au cœur des plaques séniles dans le cerveau des patients atteints de la MA.

Les peptides A β ont un rôle dans les dommages oxydatifs neuronaux. Dans les cerveaux de patients souffrant de MA, on retrouve de l'HNE dans les aires péri-vasculaires où des dépôts amyloïdes ont été observés.

Une étude sur des souris transgéniquement modifiées révèle que la diminution de la densité synaptique et le déficit en transmissions synaptiques qui sont associés à l'augmentation de la production d'A β , précèdent le dépôt amyloïde.

Des taux plus élevés de protéines carbonylées, dans certains neurones non modifiés morphologiquement des régions du cerveau affectées par la MA, indiquent que les modifications oxydatives des protéines du cerveau précèdent les changements neurodégénératifs des neurones.

L'oxydation de la protéine tau induit sa dimérisation et polymérisation en filaments non solubles, ce qui stabilise l'agrégation et donc la formation de neurofibrilles lors de MA. Il a été démontré que des AGEs étaient présents dans les protéines tau des neurofibrilles alors que les protéines tau solubles, que ce soit chez les patients malades ou non, n'étaient pas glyquées. Les modifications oxydatives de tau peuvent être une étape dans la progression de la neurodégénérescence induite par le stress oxydatif. (Aksenov et al., 1998)

4- L'ADN

a- Définitions

ADN: acide désoxyribonucléique. Molécule géante se présentant sous forme d'une double chaîne spiralée formées de groupements sucres (désoxyribose) et phosphates alternés, les spirales des deux chaînes, enroulées en double hélice droite, étant réunies de place en place par des groupements de bases azotées, puriques (adénine et guanine) ou pyrimidiques (cytosine et thymine). Le groupe de ces trois constituants (sacre, phosphate et base azotée) forme un *nucléotide*, qui est l'unité primaire de l'ADN. Ces macromolécules constituent les chromosomes et leurs différents segments forment les gènes ou cistrons, supports des caractères héréditaires. L'ensemble des informations génétiques conservées ainsi constituent le code génétique. (Garnier Delamare, 2004)

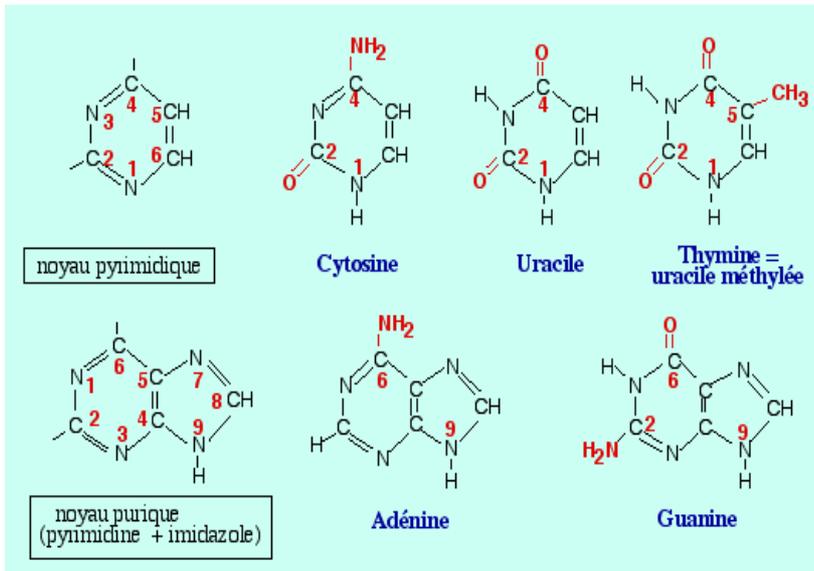


Illustration 14: Les bases présentes dans l'ADN

Des études portant sur les dommages produits sur l'ADN par le peroxyde d'hydrogène ont depuis longtemps été faites.

Les types de dommages produits sont: coupures de brins, dommages de base, libération de base et cross-links.

Le taux de production de dommages est plus important en présence de ions cuivreux, ferriques et ferreux.

Les processus de réparation sont en compétition avec la production des dommages. (Ward et al., 1987)

b- Dommages sur les bases

1- Thymine

Historiquement la plus étudiée des bases pyrimidine oxydées est la 6-dihydro-5,6-dihydroxythymine (thymine glycol). Elle exerce une distorsion significative de la molécule d'ADN. La portion de la base touchée par la thymine glycol, et l'adénine opposée, est extra-hélicale.

Les premières études portant sur l'extension avec plusieurs ADN-polymérases utilisant une matrice contenant la thymine glycol montrent que l'extension a lieu jusqu'au site de lésion avec l'adénine opposée à la thymine glycol. Après correction, l'extension ne peut procéder plus en aval, ce qui conforte l'idée que c'est la base appariée à la thymine glycol en position 5 qui perturbe et suggère que la thymine glycol est une lésion létale en inactivant l'efficacité d'un des ADN monocaténares biologiquement actifs; elle est également létale pour l'ADN double brin. Il existe cependant plusieurs séquences où la thymine glycol est court-circuitée par certaines ADN-polymérases *in vitro* et *in vivo*. Cependant lorsque la thymine glycol est insérée dans une séquence court-circuitée, un faible taux de mauvaise incorporation de G opposant la thymine glycol a lieu, entraînant des mutations.

Les produits de l'oxydation du méthyle en position 5, 5-hydroxyméthyluracile (5-HMU) et 5-formyluracile (5-fU) sont également formés par des radicaux libres dans l'ADN que ce soit lors de radiation gamma ou pendant les réactions de Fenton. Avec le 5-HMU, une conformation classique est conservée lors de l'appariement avec l'adénine mais cela n'empêche pas que la position du 2-désoxyribose en C1 passe de *exo* à *endo*. Malgré cela, le 5-HMU s'apparie correctement et

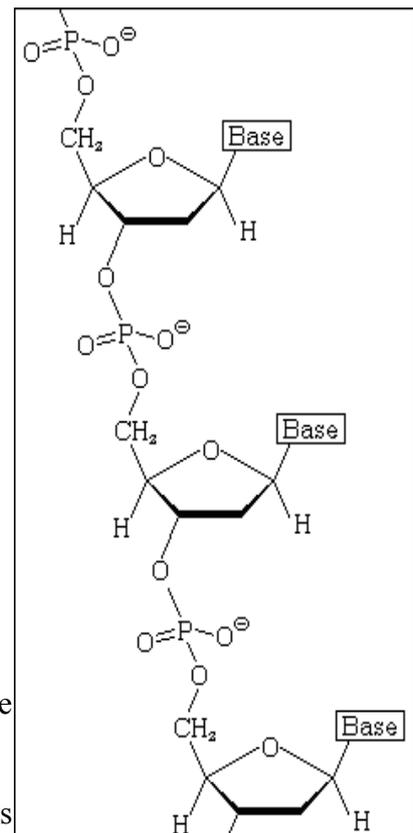


Illustration 13: Composition d'un brin d'ADN

provoque une lésion faiblement pré mutagène. Les ADN polymérases ne sont pas bloquées par le 5-fu, cependant de mauvaises incorporations de guanine et cytosine s'apparient sur le site de la lésion. La 5-fu provoque dans des plasmides d'E.coli des transitions T vers C, et des transversions T vers A. L'ADN contenant des produits de fragmentation cyclique de la thymine, de contraction ou d'ouverture de cycle de la thymine, a été utilisé comme matrice pour des ADN polymérases. L'urée, un produit de fragmentation de la thymine oxydée, est entassée dans l'hélice et bloque fortement la synthèse d'ADN, donc est létale. Lorsque l'urée est court-circuitée, les purines sont les bases insérées préférentiellement, surtout la guanine. Le produit d'ouverture de cycle de la dihydrothymine, l'acide ureidobutyrique et l'hydrate C5 de thymidine bloquent également fortement les ADN polymérases. Des purines et T sont insérés à l'opposé de ces produits et lorsqu'ils sont court-circuités, des transversions T vers A prédominent. (Wallace, 2002)(Møller & Wallin, 1998)

2- Cytosine

Le produit principal résultant de l'attaque des radicaux hydroxy sur les cytosines de l'ADN sont le cytosine glycol, qui est très instable et se désamine automatiquement formant ainsi l'uracile glycol, ou la forme déshydratée, la 5-hydroxycytosine(5-OHC). L'uracile glycol peut également être déshydraté et former le 5-hydroxyuracile (5-OHU). Ce sont les produits stables causés par les lésions oxydatives sur la cytosine. Plusieurs études ont montré qu'ils sont automatiquement court-circuités par les ADN polymérases. Les dérivés de l'uracile s'apparient toujours avec l'adénine et sont potentiellement de fortes lésions pré-mutagènes donnant des transitions C vers T. Le 5-OHC s'apparie autant avec la guanine correspondante qu'avec l'adénine et en moindre quantité avec la cytosine. Il n'est pas cytotoxique et provoque des transitions C vers T et quelques transversions C vers G. Mais puisque les ADN polymérases les corrigent, les lésions oxydatives sur les cytosines ne devraient pas être des lésions létales.(Møller & Wallin, 1998)(Wallace, 2002)

3- Guanine

La huitième position sur le cycle imidazolé de la guanine est la plus encline à être oxydée et former la 7,8-dihydro-8-oxoguanine (8-oxoG) trouvée dans l'ADN après traitement par plusieurs agents oxydants comme les métaux, les radiations ionisantes et est couramment utilisée comme biomarqueur du stress oxydatif. Les adduits de 8-oxoG ont été largement caractérisés structuralement. Lorsqu'il est apparié avec la cytosine la structure du double brin est très similaire au double brin sain: une conformation anti- et un appariement approprié à la cytosine. S'il s'apparie à l'adénine, la conformation devient syn- formant ainsi une paire de base stable avec l'adénine en alignement anti-. Elle est, comme la cytosine oxydée, court-circuitée par les ADN polymérases. Selon la polymérase utilisée, la base insérée est la cytosine correspondante ou l'adénine. Cette lésion n'est pas létale mais mutagène. Les polymérases répliquatives testées lors des études in vitro montrent une incorporation significative de dATP opposée à la 8-oxoG, alors que les polymérases correctives insèrent préférentiellement des dCTP. Inséré dans des plasmides d'E.coli, un résidu 8-oxoG entraîne exclusivement des transversions G vers T au site de l'adduit. Des résultats similaires sont observés dans des vecteurs monocaténaux. Les radiations ionisantes produisent également des produits de fragmentation du cycle imidazolé de la guanine la 2,6-diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine (Fapy-G). Ce dernier n'a pas été synthétisé mais la méthyl-FapyG a été examinée in vitro et s'est avérée bloquer fortement les ADN polymérases et être une lésion létale dans les cellules de mammifères.(Wallace, 2002)(Møller & Wallin, 1998)

4- Adénine

La position 8 du cycle imidazolé de l'adénine est également susceptible de subir une oxydation produisant la 7,8-dihydro-8-oxoadénine (8-oxoA). Cette dernière a été observée dans de l'ADN traité par des radiations ionisantes ou d'autres agents oxydants. Des études structurales montrent que le 8-oxoA s'apparie avec T perturbe légèrement le double brin et reste en position anti-. Des études in vitro avec l'ADN polymérase I klenow exo et la Taq ADN polymérase montrent que la 8-

oxoA n'est pas une lésion bloquante et que la thymine s'insère exclusivement à son opposé. Cette oxydation ne provoque de lésion ni cytotoxique ni mutagène. Cependant avec des polymérases de mammifères, quelques dGTP s'incorporent à l'opposé de la 8-oxoA et la polymérase peut incorporer dGTP comme dATP. De simples lésions 8-oxoA ont prouvé entraîner des mutations A vers G et A vers C dans les cellules de mammifères.

La 2-Hydroxyadenine (2-OHA) est observée dans l'ADN de cellules oxydées par des métaux et des radiations ionisantes. Les études sur les amorces d'extension utilisant des matrices contenant 2-OHA montrent que les lésions sont court-circuitées et que toutes les bases sont incorporées. Avec des vecteurs monocaténaux comme double-brin contenant une unique lésion 2-OHA, on n'observe aucun effet cytotoxique mais des substitutions A vers T et A vers G.

La 4,6-diamino-5-formamidopyrimidine (Fapy-A) est automatiquement produite par des agents oxydants et des radiations ionisantes. Elle bloque la synthèse d'ADN et forme donc une lésion potentiellement létale.

La -Deoxyadenosine (-dA) est la lésion majeure produite par des radiations ionisantes et bloque modérément la synthèse d'ADN *in vitro* et *in vivo*. Toutes les mutations sont des délétions d'une seule base, ce qui suggère que -dA ne reste pas entassé dans l'hélice. (Møller & Wallin, 1998) (Wallace, 2002)

5- Mécanisme

Le radical hydroxyle ajoute sur la double liaison des bases hétérocycliques et enlève un atome d'hydrogène du groupement méthyle de la thymine et de chacun des cinq atomes de carbones du 2-désoxyribose. Les réactions d'additions apportent des radicaux d'adduit OH/bases d'ADN, alors que les radicaux allyle de la thymine et les radicaux des sucres centrés sur des carbones sont formés par des réductions. Si l'oxygène est présent, il s'ajoute aux radicaux pour donner des radicaux peroxyes. Des électrons hydratés générés dans l'eau par des radiations ionisantes s'ajoutent également à la double liaison des pyrimidines et les adduits d'électrons sont produits qui se protonnent dans l'eau et donnent des radicaux 6-hydro-5-yl. Les atomes d'hydrogène générés par l'ionisation de l'eau réagissent avec les pyrimidines produisant des adduits radicalaires similaires.

Le radical hydroxyle s'ajoute sur les positions C5- et C6 des thymines et cytosines générant des adduits radicalaires C5-OH et C6-OH. Les réactions d'oxydation de ces derniers sont suivies d'une addition d'OH (ou d'eau puis déprotoné) qui mène à la formation de cytosine glycol et thymine glycol. Une addition d'oxygène sur les adduits C5-OH produit les radicaux 5-hydroxy-6-peroxye qui peuvent éliminer O₂. S'en suit une réaction avec l'eau (ajout d'OH) menant au cytosine et thymine glycol.

L'oxydation de tous les radicaux allyles de la thymine génère le 5-(hydroxyméthyl)uracile (5-OHMeUra) et 5-formyluracil. En l'absence d'oxygène, 5-hydroxy-6-hydro- et 6-hydroxy-5-hydropyrimidines sont formées par la réduction des adduits radicalaires 5-OH- et 6-OH des pyrimidines puis protonation.

Les produits de la cytosine sont uniques du fait qu'ils peuvent être déshydratés, formant la 5-hydroxycytosine (5-OH-Cyt) et le 5-hydroxyuracile (5-OH-Ura), et désaminés, produisant la (5-OH-Ura) selon les conditions.

Le radical hydroxyle s'ajoute aux purines produisant des adduits radicalaires C4-OH-, C5-OH-, et C8-OH-capables de subir une déshydratation en formant des radicaux purines oxydés qui redeviennent purines par une réduction. L'oxydation et la réduction d'un seul électron transforment l'adduit C8-OH en 8-hydroxypurines (7,8-dihydro-8-oxopurines) et formamidopyrimidines respectivement. Des réactions analogues avec l'adénine produisent la 8-hydroxyadénine (8-OH-Ade) et 4,6-diamino-5-formamidopyrimidine (FapyAde). Ces deux types de produits existent en présence ou absence d'oxygène. Des agents réducteurs augmentent la formation de formamidopyrimidines alors que la formation de 8-hydroxypurines se fait préférentiellement en présence d'oxygène. Les radicaux hydroxyle génèrent de multiples produits dans l'ADN par les

mêmes mécanismes que vus précédemment et d'autres encore. Les radicaux hydroxyles réagissent avec la composante sucrée de l'ADN en soustrayant un atome d'hydrogène de chaque atome de carbone. Les sucres modifiés sont soit libérés de l'ADN soit liés à ce dernier par une ou deux liaisons phosphates. Une réaction unique du radical centré sur C5 de la composante sucrée de l'ADN et l'addition du cycle purine à la position C8 au même nucléoside ce qui produit à une cyclisation intramoléculaire en formant alors les 8,5-cyclopurine-2-deoxynucleosides. Les deux diastéréomères 5R et 5S- des 8,5-cdAdo et 8,5-cdGuo ont été identifiés dans l'ADN, ils sont tous les deux formés suite à des radiations. La réaction de cyclisation intramoléculaire est inhibée par l'oxygène car la réaction de diffusion contrôlée de l'oxygène avec le radical sucré centré sur C5 se réalise avant la cyclisation intramoléculaire.

Les liaisons croisées entre ADN et protéine sont également formées par les réactions avec les radicaux libres. Une liaison Thymine/Tyrosine a été identifiée dans la chromatine des mammifères *in vitro* et dans les cellules exposées à des systèmes producteurs de radicaux. La formation de ces liaisons implique l'addition d'un radical allyle de la thymine sur la position C3 du cycle de la Tyrosine de la protéine avoisinant l'ADN suivie d'une oxydation.(Chatgililoglu & O'Neill, 2001)

c- Liaisons ADN/ADN et ADN/protéine

Les études portant sur ces liaisons se sont souvent concentrées sur la quantification et non l'explication.

Le MDA crée des liaisons entre l'ADN et des protéines et avec des nucléotides dans le même brin ou le brin opposé.

Les liaisons inter- ou intrabrin de l'ADN ont été observées *in vitro* en présence de fer ou de cuivre. Les liaisons intrabrin se produisent entre deux adénines adjacentes ou adénines-guanines.

Les liaisons entre l'ADN et les protéines ont été détectées dans des cellules de rats après administration de HO et d'ions ferriques chélatés. Les liaisons ADN/protéine impliquent la tyrosine et la thymine dans la chromatine traitée par du peroxyde d'hydrogène et des radiations ionisantes. L'ajout de fer ou de cuivre augmente la formation de ces liaisons alors qu'elles sont diminuées par des anti-oxydants. Il y a également des preuves indirectes suggérant que l'anion superoxide induit ces liaisons.(Møller & Wallin, 1998)

d- Dommages oxydatifs dans l'ADN nucléaire et mitochondrial

Les EROs sont formés par des voies et événements variés. Une cellule humaine est exposée à $1,5 \cdot 10^5$ chocs oxydatifs par jour de la part des radicaux hydroxyles ou des autres espèces réactives. Le radical hydroxyle est connu pour réagir avec tous les composants de l'ADN endommageant les purines et pyrimidines ainsi que les structures deoxyribose. Les dommages induits par les EROs impliquent des coupures simples ou double brin, des modifications des purines, pyrimidines et deoxyriboses ainsi que des liaisons ADN. Le radical hydroxyle est capable de s'ajouter aux doubles liaisons des bases nucléotidiques et peut enlever un atome d'hydrogène du groupe méthyle de la thymine et de chacun des cinq carbones du 2-déoxyribose. Alors que les adduits-OH radicalaires sont générés par des réactions d'addition, les radicaux allyliques proviennent de la thymine et des radicaux sucrés centrés sur un carbone par une réaction de soustraction.

En plus des EROs, les espèces réactives de l'azote telles que les peroxy-nitrites et oxyde d'azote sont également impliquées dans les dommages de l'ADN. Par des réactions avec la guanine, le peroxy-nitrite forme la 8-nitroguanine qui, par la structure de son adduit, induit potentiellement les transversions. Alors que la stabilité de ces lésions est faible dans l'ADN, il semblerait qu'elle soit stable dans l'ARN.

L'ADN mitochondrial est plus sensible à l'oxydation que l'ADN nucléaire car:

- Aux conditions physiologiques, la mitochondrie convertit 5% de l'oxygène consommé en anion superoxyde puis peroxyde d'hydrogène.
- La capacité réparatrice de l'ADN mitochondrial est limitée, puisqu'il n'ont pas de fonction de réparation de l'excision nucléotidique.
- L'ADN mitochondrial n'est pas protégé par des histones.

Le peroxyde d'hydrogène et d'autres espèces réactives de l'oxygène ont été impliqués dans l'activation des gènes nucléaires utiles à la biogenèse mitochondriale, la transcription et la réplication du génome mitochondrial.

L'efficacité des mécanismes réparateurs peut être augmentée par l'exposition aux EROs car plusieurs enzymes réparatrices surexprimées suite à une exposition au stress oxydatif.

Puisque dans l'ADN nucléaire, 90% des bases oxydées sont réparées par les mécanismes impliquant un seul nucléotide et que les 10% restant par une excision, la réparation d'un seul nucléotide est la voie principale de réparation de 8-OH-G. La capacité de réparation de l'ADN entraîne un dysfonctionnement mitochondrial et l'apparition de maladie dégénérative. (Valko et al., 2006)

Le mécanisme de production d'une double lésion par le peroxyde d'hydrogène implique la production initiale d'une première coupure simple suivant une réaction de Fenton où M est un métal de transition lié à un site spécifique de l'ADN



Cette réaction est ensuite suivie d'une réduction métabolique, puis une seconde molécule de peroxyde d'hydrogène réagit au même endroit produisant un radical



La réaction du second radical avec le brin d'ADN intact provoquerait la double lésion. (Ward et al., 1987)

Les EROs doivent traverser les membranes cellulaires et nucléaires afin d'attaquer l'ADN, le peroxyde d'hydrogène est assez lipophile pour cela. Il réagit en présence d'agent réducteur, comme l'acide ascorbique et les métaux de transition pour produire des radicaux hydroxyles hautement réactifs

Les EROs semblent augmenter l'antigénicité de l'ADN. Les radicaux libres produisent à proximité des métaux liés à l'ADN des changements dans la structure antigénique.(Blount et al., 1989)

e- Dommages oxydatifs de l'ADN lors de MA

Les bases ADN sont sensibles aux dommages dus au stress oxydatif impliquant des hydroxylations, des carbonylations protéiques et des nitrations. Il a été observé dans la pathologie que les EROs du cerveau induisent un afflux de calcium, via des récepteurs de glutamate, et enclenchent une réponse excitotoxique menant à la mort cellulaire. Les EROs sont générés quand l'oxygène réagit avec des métaux redox. L'oxydation de l'ADN et ARN est marquée par l'augmentation des niveaux de 8OHdG et de 8OHD. De plus ces marqueurs ont été localisés dans les plaques amyloïdes et les neurofibrilles. Une augmentation des taux de coupures de brins a été observée chez les patients souffrant de la MA. Cela a tout d'abord été considéré comme faisant partie de l'apoptose, mais il est maintenant largement accepté que les dommages oxydatifs sont responsables de ces coupures. Ceci corrobore l'augmentation des carbonyles libres dans les nuclei des neurones et gliomes chez les patients MA. L'induction de l'hème-oxygénase-1, une enzyme anti-oxydante impliquée dans la conversion de l'hème en bilirubine, est augmentée dans les cerveaux MA et est étroitement corrélée avec les neurofibrilles. (Gella & Durany, 2009)

Mecocci et al, décrivent une augmentation de la concentration de l'indicateur de dommages de l'ADN le 8-OHdG dans le lobe pariétal des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Dans quelques études, il a également été observé une augmentation de l'oxydation de certaines bases de l'ADN dans le cortex pariétal, temporal, occipital, frontal et l'hippocampe, qui peuvent être présents dès la phase initiale de la pathologie et qui semble être majeur dans les neurofibrilles et neurones dystrophiques. Dans le LCR, il a été observé une augmentation de la concentration de 8-OHdG dans l'ADN intacte et une diminution de sa forme libre ainsi qu'une augmentation de la 8-OHG. Dans les neurones des patients souffrant de la MA (surtout petite pyramidales des couches 3 et 5 du cortex) et à une moindre échelle dans les astrocytes, il a été remarqué une augmentation de poly-ADP ribosylation des protéines nucléaires, ce qui suggère une augmentation de l'activité de réparation de l'ADN.(Jiménez-Jiménez et al., 2006)

Méthylation de l'ADN et stress oxydatif

Dans les dinucléotides, la cytosine est le site de méthylation alors que la guanine subit les dommages oxydatifs. 8-oxo-dG est largement utilisé comme biomarqueur de dommage oxydatif sur l'ADN.

En l'absence de correction, les EROs métaboliques formés de façon endogène sont capables de créer 105 molécules de 8-oxo-dG par jour dans la cellule. Il a été montré qu'une exposition au plomb lors du développement augmentait les taux de protéine A β ainsi que la production de 8-oxo-dG à un âge avancé. A β est connu pour induire des perturbations fonctionnelles in vivo par ses propriétés pro-oxydantes et neurotoxiques. A β induit la formation de EROs et l'usage d'anti-oxydant peut prévenir les cascades neurologiques provoquées par l'A β .(Zawia et al., 2009)

C) EROs et protéine Tau

La protéine Tau anormale est résistante aux enzymes protéolytiques ce qui suggère que la glycation, la formation de ponts disulfures, la phosphorylation et/ou la formation des fragments contribuent aux cross-links entre les monomères de Tau.

Les AGEs et le stress oxydatif sont des facteurs clés, induisant la transformation de protéines solubles en dépôts insolubles de protéines, ou encore en activant les microglies par l'intermédiaire de ligands spécifiques aux récepteurs de la membrane cellulaire. Des preuves de stress oxydatif dans la pathologie se manifestent par les hauts niveaux de protéines oxydées, de AGE, de produits finaux de la peroxydation lipidique, de la formation d'espèces toxiques tels les peroxydes, alcools, aldéhydes, carbonyles libres, cétones, cholestérols et des modifications oxydatives de l'ADN nucléaire et mitochondrial.

Les déficits de la mémoire liés à l'âge entrent en corrélation avec la diminution des mécanismes de défense anti-oxydante dans le cerveau et le plasma. Un aspect important du système de défense anti-oxydante est la réduction du glutathion qui est responsable du potentiel redox de la cellule. La fonction la plus importante du glutathion est de donner des électrons aux EROs et donc de les neutraliser. La concentration du glutathion intracellulaire diminue avec l'âge mène à une situation où le taux de production de EROs excède la capacité anti-oxydante, ce qui génère une situation favorisant le stress oxydatif. Une autre raison à ce stress oxydatif est causée par le déséquilibre des enzymes détoxifiantes lors de la MA. (Jiménez-Jiménez et al., 2006)

Dans les cellules du système nerveux central, la glutathion peroxydase est le système anti-oxydant majeur responsable de la détoxification du peroxyde d'hydrogène. Les oligodendrocytes sont particulièrement sensibles au stress oxydatif car ces cellules ont de très forts taux intracellulaires de fer mais très faibles en glutathion. Même une faible exposition au peroxyde d'hydrogène induit de profondes dégénérescences et morts cellulaires.

De telles altérations peuvent être médiées par la protéine tau qui est connue pour réguler la dynamique et la stabilité des microtubules et qui est abondante dans les oligodendrocytes. La protéine Tau se présente sous plusieurs isoformes dérivant des transcriptions alternatives et des modifications post transcriptionnelles comme la phosphorylation.

L'hyperphosphorylation de la protéine Tau est une étape importante dans la dégénérescence cellulaire car elle diminue la liaison des protéines aux microtubules résultant en une dépolymérisation des microtubules.

La déphosphorylation de la protéine Tau peut être une part intégrale de la réponse cellulaire au stress oxydatif. Par exemple, la déphosphorylation de la protéine Tau a été trouvée dans les oligodendrocytes suite à des blessures provoquant du stress oxydatif comme un arrêt cardiaque ou un choc cérébral. (LoPresti & Konat, 2001)

D) EROs et peptide β -amyloïde

Beaucoup d'études ont observé un effet toxique direct des protéines β -amyloïde sur des cultures de neurones ou de lignées cellulaires. Behl et al. ont montré que la toxicité de la protéine β -amyloïde sur les cellules de la lignée PC12 est prévenue par la vitamine E et les antioxydants en général. Lors d'une deuxième étude, ils ont montré que le peroxyde d'hydrogène induit cette toxicité de la protéine β -amyloïde, ce qui explique pourquoi la catalase, qui dégrade le peroxyde d'hydrogène, protège les cellules de la toxicité induite par la protéine β -amyloïde. La même équipe trouva de fortes concentrations des enzymes antioxydantes, catalase et glutathion peroxydase, dans des lignées cellulaires résistantes à la toxicité induite par la protéine β -amyloïde. (Behl et al., 1992)(Behl et al., 1994)

Des études confirment clairement l'implication des radicaux libres dans le processus toxique des β -

amyloïdes. Elles sont soutenues par des études portant sur les scavengers tels l'extrait de ginkgo biloba ou la mélatonine. Ces scavengers offrent également une protection aux cellules de l'hippocampe.

Une double relation existe entre la protéine β -amyloïde et la production de radicaux libres. Non seulement le processus oxydatif transforme les protéines non agrégées en agrégées in vitro mais, la protéine β -amyloïde est elle-même source de radicaux libres. La protéine β -amyloïde interagit avec les cellules endothéliales vasculaires, en produisant des radicaux superoxydes qui peuvent scavenger le facteur relaxant dérivé de l'endothélium et produire des agents oxydants causant une peroxydation lipidique. Même si cela concerne l'endothélium vasculaire et non les neurones, ces données supportent l'hypothèse que la protéine β -amyloïde agit via ces radicaux libres et joue un rôle dans le processus neurodégénératif.(Christen, 2000)

Rôle de la protéine β -amyloïde dans le stress oxydatif.

Les fragments 1-42 et 1-40 de la protéine β -amyloïde humaine sont capables de générer d'eux mêmes une production de peroxyde d'hydrogène par un mécanisme impliquant la réduction de l'ion ferrique et de l'ion cuivreux selon la réaction de Fenton. Le fragment 25-35 de la protéine β -amyloïde est également capable de provoquer des lésions oxydatives de l'ADN mitochondrial et d'induire la mort neuronale par apoptose, par l'intermédiaire du peroxyde d'hydrogène et de l'HNE, et peut être prévenu par la vitamine E et la N-acétylcystéine. Dans des modèles de rats transgéniques dans lesquels l'expression de l'APP est augmentée, il a été observé une augmentation du dommage oxydatif, de la peroxydation lipidique, précédant la formation de la plaque amyloïde, de la production de nitro-tyrosine et de l'expression de Cu/Zn-SOD et d'hème-oxygénase aux alentours des dépôts de protéine β -amyloïde. Il a été également décrit une augmentation du stress oxydatif dans les tas transgéniques présentant des mutations de la PSE1. Le prétraitement par certains antioxydants comme l' α -tocopherol semblent prévenir l'apparition de troubles d'apprentissage et de mémorisation causés par l'amyloïde β chez les souris. La vitamine E peut également prévenir les dommages oxydatifs des protéines induits par la protéine β -amyloïde. (Jiménez-Jiménez et al., 2006)

La BACE1 et la γ -sécrétase possèdent une activité dans les lipides et la protéine A β s'accumule au niveau de ces lipides dans le cerveau des patients souffrant de MA.

Des rapports récents indiquent que le stress oxydatif affecte ces deux complexes.

Le stress oxydatif augmente l'expression de la protéine PS1 dans les lipides menant à une production augmentée de protéine A β .

Des données confirmant l'association entre le stress oxydatif et la γ -sécrétase ont été rapportées dans la littérature. Par exemple, les taux d'ARNm de PSEN1, PSEN2 et BACE1, de même que l'activité de la γ -sécrétase et BACE1 sont augmentés dans des neuroblastomes traités par du peroxyde d'hydrogène et de l'HNE.

L'augmentation du taux de l'expression de PSEN1 pourrait être due à l'altération du métabolisme du cholestérol.

Les régions riches en lipides sont des zones importantes pour le processus amyloïdogénique.

Il a été montré que la PSEN1 et autres γ -sécrétases se localisent principalement dans les zones riches en lipides, et que le taux de protéine PSEN1 était plus élevé lors de stress oxydatif. Il semblerait que ces protéines PSEN1 soient incorporées au complexé PSEN1 et stabilisées. Cette régulation de la protéine PSEN1 pourrait promouvoir l'activité de la γ -sécrétase et donc faciliterait le processus amyloïdogénique de production d'A β .

Le stress oxydatif induit par la protéine A β ou d'autres facteurs, augmente l'expression de l'ARNm

codant pour la PSEN1 à travers des mécanismes non identifiés. Cela mène à l'élévation du taux de protéines PSEN1 dans les zones riches en lipides, probablement en induisant le processus amyloïdogénique de production d'A β médiée par la γ -sécrétase. Des études indiquent que le stress oxydatif induit l'expression de BACE1, qui génère le clivage de l'APP. L'A β résultant déclenche par la suite du stress oxydatif créant un cercle vicieux, qui pourrait être impliqué dans le développement de la pathologie de la MA surtout aux stades précoces.

Des immunothérapies basées sur l'A β et des inhibiteurs de BACE1 ou γ -sécrétase ont été développées. Cependant ces thérapies n'ont pas à l'heure actuelle le succès attendu. Étant donné que le stress oxydatif est impliqué dans la pathogénie de la MA dès les premiers stades, l'intervention thérapeutique par les antioxydants tels la vitamine E, peut avoir des bénéfices cliniques même si quelques études cliniques montrent des résultats négatifs. Puisqu'un cycle stress oxydatif/A β est impliqué dans la progression de la pathologie de la MA, l'utilisation d'anti-oxydants afin de prévenir ce cercle vicieux peut renforcer l'effet bénéfique des thérapies anti-A β (Oda et al., 2010)

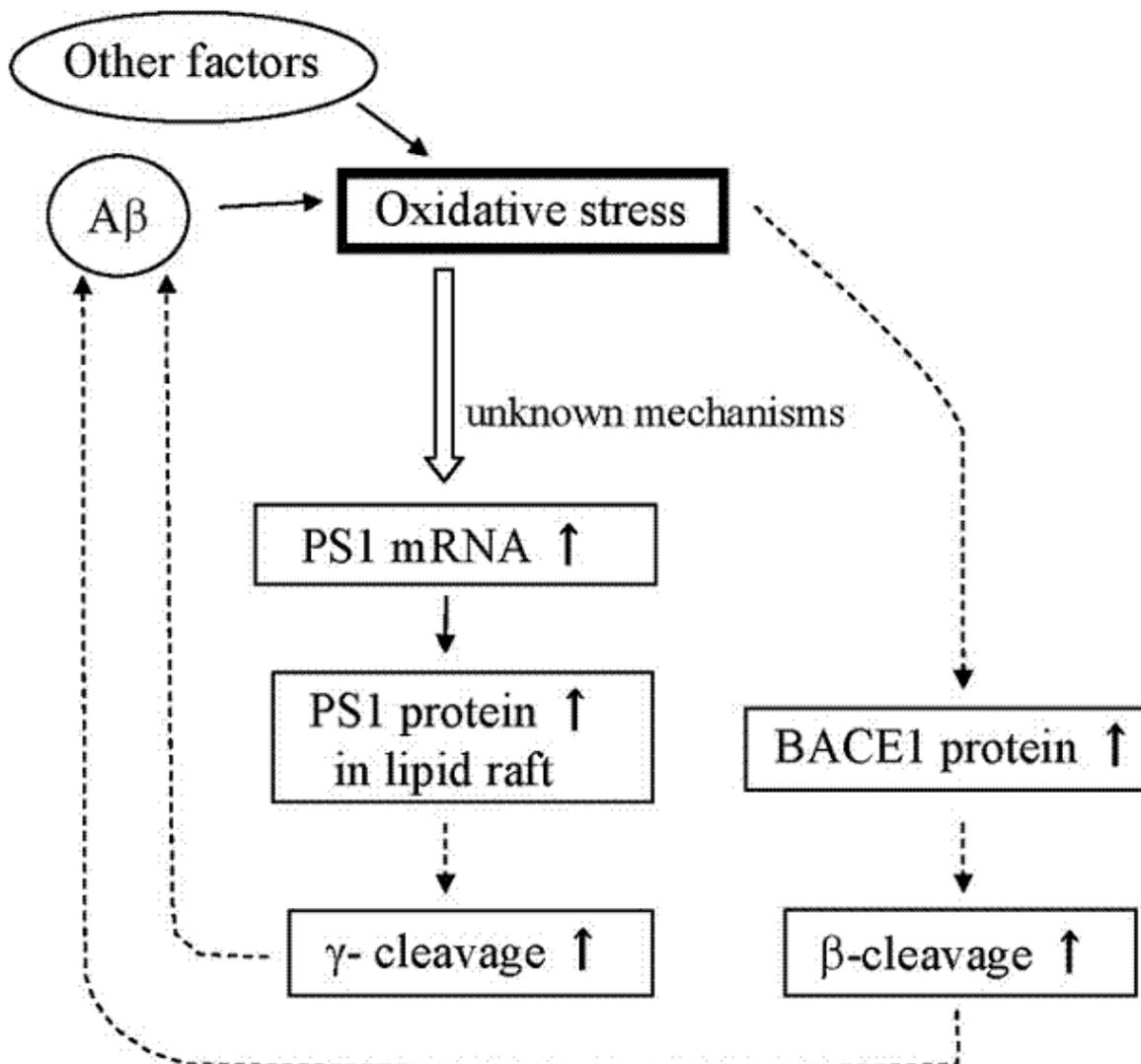


Illustration 15: mécanisme hypothétique reliant le stress oxydatif et le peptide amyloïde. Le stress oxydatif induit par le peptide amyloïde ou d'autres facteurs augmente l'expression de l'ARNm de la PS1(=PSEN1). Cette régulation entraîne une augmentation de l'expression de la PS1 dans les lipides, ce qui peut induire le clivage gamma de l'APP donnant l'Ab. De plus le stress oxydatif peut induire l'expression de la BACE1 stimulant alors le clivage bêta de l'APP. Le peptide amyloïde produit génère également du stress oxydatif résultant en un cercle vicieux(Oda et al., 2010)

E) Implication des métaux

Il semblerait qu'il y ait accumulation de fer et d'aluminium, dans les plaques séniles et les neurofibrilles, qui pourraient contribuer au stress oxydatif. Des études utilisant des rayons X induits par des particules, ont montré une augmentation des concentrations de fer, calcium, phosphore et soufre dans les plaques séniles et tissus environnants. Le taux plus élevé du sous-type C2 de la transferrine dans le cortex des patients souffrant de la MA peut faciliter les dépôts de fer. IRP-2, une protéine régulatrice du fer, est augmentée dans les lésions intraneuronales tels les neurofibrilles et les plaques séniles.

La concentration de ceruloplasmine est augmentée dans le LCR, diminuée dans les substances blanches et grises et le cortex temporal supérieur et augmentée dans l'hippocampe, cortex frontal et putamen. Des études ont montré une diminution de la concentration de cuivre, une augmentation de zinc, fer, sélénium et mercure dans certaines aires cérébrales surtout l'hippocampe et l'amygdale. (Jiménez-Jiménez et al., 2006)

Le rôle des métaux

Les métaux jouent un rôle catalyseur dans la production de radicaux libres, et leur rôle dans la MA a retenu l'attention. Le fer est impliqué dans la formation de radicaux libres hydroxyles qui est reconnu comme ayant des effets délétères, comme décrit dans les réactions de Fenton et d'Haber-Weiss.

La concentration du fer dans le cerveau des patients atteints de MA est élevée. Du fer, de la ferritine et transferrine ont été retrouvés dans les plaques séniles. Smith et al. ont étudié la distribution du fer dans le cerveau des patients souffrant de la MA en utilisant différentes méthodes histochimiques et ont observé que la distribution du fer correspondait à celle des plaques séniles et des neurofibrilles, les deux composantes clés de la pathologie. (Smith et al., 1997)

Le fer lié aux lésions peut faire partie de processus oxydatif in situ.

Une étude montre qu'un taux élevé de protéine p97 se liant au fer dans le LCR et le sérum existe chez les patients atteints de la MA. Cette protéine serait un marqueur utile pour le diagnostic, le suivi de l'évolution de la maladie, et de l'effet des thérapies possibles.

L'aluminium est également impliqué dans la pathologie, certaines études le considèrent comme toxique vu l'augmentation de sa concentration chez les malades, et l'association entre le taux d'aluminium dans l'eau et la prévalence de la pathologie. Toutefois certaines études montrent clairement que le taux d'aluminium n'est pas élevé dans les régions du cerveau montrant le plus de changements neuropathologiques lors de la MA.

Le cuivre pourrait être impliqué dans la pathologie car c'est un catalyseur de la production d'EROs et parce que la molécule d'APP possède un site de liaison au cuivre. La liaison avec l'ion cuivreux mène à la modification de l'APP via l'oxydation des cystéines 144 et 158, en formant la cystine et le cuivre(I). L'APP sert dans le transfert d'électron vers le Cu(II), du moins in vitro. L'oxydation des 2 cystéines vers la cystine résulte en la production de 2 électrons, mais seulement 1 est nécessaire à la réduction du Cu(II) vers le Cu(I). L'électron restant est impliqué dans la production de radical hydroxyle. Ce métal est également essentiel pour de nombreuses activités enzymatiques, y compris la cytochrome-c oxydase et la Cu/Zn superoxyde dismutase. Dans une étude récente, Deibel et al ont observé de faibles concentrations de cuivre dans 5 zones du cerveau principalement dans l'hippocampe. (Deibel et al., 1997)

Le zinc induit une formation de protéine amyloïde chez les humains. L'APP se lie au zinc, et cette liaison module les propriétés fonctionnelles de l'APP. Il y a inhibition du clivage de l'APP par une

α -sécrétase et une augmentation de la liaison à l'héparine. De plus, il existe aujourd'hui des preuves suggérant que l'accumulation de zinc peut mener à la mort neuronale ainsi qu'à d'autres plaies du cerveau telles que l'ischémie. (Christen, 2000)

Le cerveau est particulièrement sensible aux dommages oxydatifs car c'est un grand consommateur d'oxygène, il est riche en acides gras polyinsaturés oxydables et possède des métaux actifs (fer et cuivre).

A β a une forte affinité pour les sites de liaison du cuivre et zinc, l'APP se lie également à ces métaux via le domaine N-terminal.

Le cuivre se lie au monomère d'A β via trois histidines et une tyrosine. Il a été montré que le cuivre induisait l'agrégation d'A β dans des conditions moyennement acides.

L'A β et l'APP ont toutes deux une forte activité Cu-réductase. Cette réaction génère du peroxyde d'hydrogène comme produit de transition. Cu⁺ est un médiateur potentiel du radical hydroxyle et l'APP et l'A β associés au Cu⁺ peuvent contribuer au taux élevé de stress oxydatif caractéristique des cerveaux des patients atteints de MA.

La preuve directe supportant l'hypothèse de stress oxydatif dans la MA incluent:

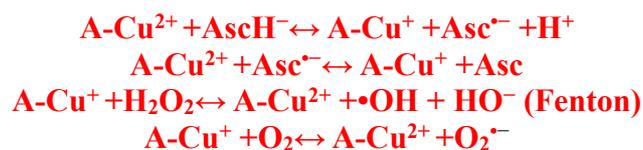
- 1) Taux augmentés de cuivre, fer, aluminium et mercure.
- 2) Peroxydation lipidique augmentée et taux diminué d'acides gras polyinsaturés, augmentation du taux d'HNE
- 3) Augmentation de l'oxydation des protéines et de l'ADN.
- 4) Métabolisme énergétique diminué et taux de cytochrome c oxydase diminué.
- 5) Présence d'AGEs, MDA, carbonyles, peroxy-nitrites, hème-oxygénase 1 et SOD dans les neurofibrilles.
- 6) Présence dans les microglies entourant les plaques séniles de nitrotyrosine.

Les individus ayant des altérations génétiques dans un des gènes codant les trois protéines transmembranaires, APP, PSEN1 et PSEN2 ont d'importants dépôts d'A β .

La toxicité d'un peptide dépend de son état conformationnel et de sa longueur peptidique. L'A β s'agrège dans deux états conformationnels, l'état non fibrillaire, amorphe, et l'état fibrillaire, très ordonné en couches. L'état d'agrégation du peptide dépend de la concentration du peptide, du pH, des concentrations ioniques de zinc, cuivre et fer.

Le cuivre se lie à l'A β par l'intermédiaire de trois histidine et une tyrosine et le cuivre est anormalement concentré dans les plaques amyloïdes. De plus l'A β se lie également au Zn⁺ et Fe³⁺ in vitro et les taux de ses métaux sont aussi élevés dans le néo-cortex et principalement dans les plaques amyloïdes. Zn⁺ précipite l'A β in vitro et Cu²⁺ augmente la neurotoxicité de l'A β ce qui se corrèle avec la réduction du cuivre et la génération de peroxyde d'hydrogène.

Les formes neurotoxiques d'A β stimulent l'oxydation de l'ascorbate par l'intermédiaire du cuivre. Et la génération de radicaux hydroxyle. Cette réaction peut se traduire par les équations suivantes (Dikalov, 2004)



En présence d'oxygène ou de peroxyde d'hydrogène, le cuivre peut catalyser l'oxydation des peptides par la réaction de fenton.

Le complexe peut être réduit par les électrons originaires de résidus méthionine C-terminaux selon la réaction



formant alors le radical sulfide de la méthionine et déduisant le Cu^{2+} .

Le transfert d'électrons entre la Met-S et le complexe $\text{A}\beta\text{-Cu}^{2+}$ peut être accéléré par la réaction de déprotonation de la Met-S.+ donnant également le radical 4-méthylbenzyl, rendant la réaction précédente viable *in vivo*.

Le radical sulfide peut également réagir avec l'anion superoxyde générant la formation de sulfoxyde de méthionine (Met-SO)



qui a été isolé des plaques séniles lors de MA.

La méthionine C-terminale est fortement liée à la pathogénie de la MA puisqu'elle représente le résidu de l'A β le plus sensible à l'oxydation *in vivo*.

L'ApoE est sujette aux attaques des radicaux libres et sa peroxydation est liée à la MA.

Les plus fortes concentrations de zinc se trouvent dans les régions du cerveau les plus affectées dans la MA. La liaison entre l'A β et le zinc est de faible ou forte affinité. Le zinc paraît contribuer à l'agrégation et le dépôt de l'amyloïde mais il peut également inhiber l'action toxique de l'A β en entrant en compétition avec le cuivre ou le fer pour se lier à l'A β . La liaison du zinc à l'A β change la conformation de la protéine de telle façon que les ions cuivre ne peuvent atteindre leur site de liaison.

D'un autre côté, des facteurs endogènes ou exogènes peuvent déclencher un stress oxydatif qui provoque un métabolisme anormal de l'A β et un flux incontrôlé du pool de zinc.

Alors que de faible taux de zinc protège de la toxicité de l'A β , un excès de zinc peut entraîner une mort neuronale indépendante ou synergique avec l'effet toxique de l'A β .

La réponse immunologique/inflammatoire aux plaques non solubles de l'A β est le dérèglement de l'homéostasie du zinc suivie d'une libération incontrôlée de zinc dans le cerveau, typique du stress oxydatif.

L'hypothèse a été émise que dans des conditions normales, une balance existait entre le zinc, le cuivre et le métabolisme de l'A β . Celle-ci était perturbée par le stress oxydatif et une élévation du taux de zinc et des dépôts de peptides amyloïdes s'en suivait. L'accumulation incontrôlée de zinc ou d'A β peut entraîner un stress oxydatif induit par le zinc et médié par l'A β ainsi qu'à une cytotoxicité. (Valko et al., 2006)

F) Les systèmes antioxydants

Afin de maintenir un niveau de EROs non cytotoxique, de nombreuses réactions ont lieu dans les cellules que ce soit par des systèmes enzymatiques ou non, que l'on appelle les systèmes antioxydants. Ces systèmes sont composés de substances capables, à faible concentration, d'entrer en compétition avec les substrats oxydables pour retarder ou empêcher l'oxydation des ces substrats.

1- Les systèmes antioxydants enzymatiques

Ils sont considérés comme la première ligne de défense contre les EROs.

•Superoxyde Dismutase (SOD)

Elle catalyse la dismutation de l'anion superoxyde en peroxyde d'hydrogène.



Trois isoformes de la SOD coexistent:

- La forme cytosolique et nucléaire associée aux ions cuivre et zinc (Cu/Zn-SOD) qui permet une dismutation quasi-instantanée des EROs produits au niveau de la chaîne respiratoire.
- La forme mitochondriale associée au manganèse (Mn-SOD). Une mutation de cette enzyme est non viable. Elle est donc indispensable.
- La forme extra-cellulaire située sur la face externe de la membrane plasmique. On la retrouve dans les espaces interstitiels des tissus et les liquides extracellulaires. Elle est régulée par les cytokines.

•Glutathion peroxydase (GPx) et Glutathion réductase (GR)

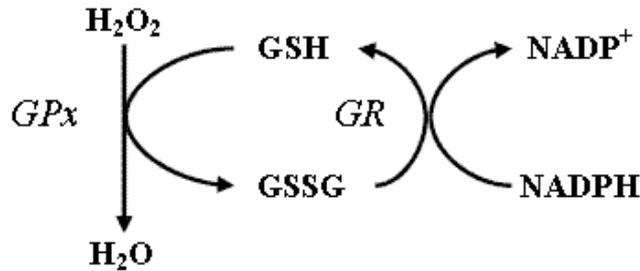
La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD, son rôle est d'accélérer la dismutation du H₂O₂ en H₂O et O₂.

Elle nécessite la présence de glutathion réduit (GSH) en tant que donneur d'électrons et donne le glutathion disulfite (GSSG).

Il existe trois isoformes de la glutathion peroxydase contenant du sélénium:

- La GPx cytosolique et mitochondriale, présente dans la plupart des tissus.
- La GPx phospholipide-hydroperoxyde (HP-GPx) qui se trouve dans le cytosol et peut réduire directement les phospholipides hydroperoxydés et les hydroperoxydes de cholestérol.
- La GPx extra-cellulaire

La glutathion réductase (GR) a pour rôle de régénérer le GSH à partir du GSSG grâce au NADPH qui est utilisé comme donneur d'électrons. En effet, la concentration cellulaire en glutathion étant limitée, il est nécessaire de le réduire constamment pour que la GPx maintienne sa fonction.



Élimination du H₂O₂ par les réactions enzymatiques combinées de la GPx et de la GR.

Le rapport GSH/GSSG est un indicateur de l'état d'oxydation dans la cellule.

•**Catalase (CAT)**

La catalase permet également l'élimination du peroxyde d'hydrogène en donnant de l'eau et du dioxygène:



Cette enzyme se retrouve principalement au niveau du peroxydosome mais on la retrouve également dans le cytosol en plus faible quantité. Contrairement à la GPx, la catalase ne joue un rôle que quand la concentration de peroxyde d'hydrogène est élevée.

2- Les systèmes antioxydants non-enzymatiques

Ces composants ne sont pas synthétisés par l'organisme. Un apport alimentaire est nécessaire.

Les oligoéléments

Le cuivre (Cu), le zinc (Zn), le manganèse (Mn), le sélénium (Se) et le fer (Fe) sont des métaux essentiels dans la défense contre le stress oxydant. Toutes les enzymes antioxydantes requièrent un cofacteur pour maintenir leur activité catalytique. Ainsi, la SOD mitochondriale a besoin de manganèse, la SOD cytosolique de cuivre et de zinc, la catalase de fer et la Gpx de sélénium.

Mais attention, certains oligoéléments, notamment le fer, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme et sous leur forme réduite, peuvent avoir une action pro-oxydante (réaction de Fenton, d'Haber-Weiss).

Glutathion

Le glutathion réduit (GSH), réduit le peroxyde d'hydrogène et/ou les peroxydes organiques grâce à la réaction catalysée par la glutathion peroxydase (GPx). Il permet également de réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C, baissant ainsi les niveaux de peroxydation lipidique. Le rapport glutathion réduit/glutathion oxydé (GSH/GSSG) est souvent utilisé comme un marqueur du stress oxydant car plus le flux d'H₂O₂ est important, plus le glutathion réduit est consommé et le glutathion oxydé augmenté.

Ubiquinol

Il a été décrit précédemment que les ubiquinones, sous leur forme semi-radicalaire, jouaient un rôle fondamental dans la production de EROs. Inversement, il a pu être défini que la forme "ubiquinol" agissait comme anti-oxydant. L'ubiquinol protège les membranes de la peroxydation lipidique par une diminution de la formation et de la propagation de radicaux peroxy. L'ubiquinone est également impliquée dans la régénération de la vitamine E ce qui amplifie son rôle protecteur contre les EROs.

Vitamine E ou α -Tocophérol

C'est une molécule liposoluble qui se fixe aux membranes et séquestre les radicaux libres (radical lipidique peroxy). Elle stoppe ainsi la chaîne de peroxydation des lipides. Elle devient alors elle-même un radical moins réactif que le peroxy et sera pris en charge par une autre molécule anti-oxydante. Cependant, la vitamine E devient pro-oxydante à forte concentration.

Vitamine C

C'est une molécule hydrosoluble qui se trouve dans le cytosol et dans le fluide extra-cellulaire ; elle peut capter directement l' $O_2^{\cdot-}$ et l' OH^{\cdot} . Elle peut aussi réduire le radical α -tocophérol et ainsi permettre une meilleure efficacité de la vitamine E. A forte concentration, la vitamine C peut également avoir un rôle pro-oxydant.

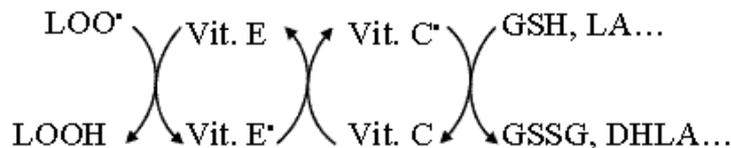


Schéma des réactions d'élimination des radicaux lipidiques par les vitamines E et C.

(LOO[•]) : radical peroxyde lipidique, (LOOH) : hydroperoxyde lipidique, (Vit. E) : vitamine E, (Vit. C) : vitamine C, (GSH) : glutathion réduit, (GSSG) : glutathion oxydé, (LA) : acide lipoïque, (DHLA) : acide dehydrolipoïque.

Autres

On retrouve également d'autres molécules comme les β -carotènes, l'urate, la bilirubine, l'albumine, le curcumin, les phénols.

3- La répartition dans le cerveau

L'encéphale ne représente que 2 % de la masse corporelle mais sa consommation en O_2 (CMRO₂ : 5 ml/min /100 g) et en glucose (CMR_{glu} : 31 μ mol/min/100 g) est considérable et représente respectivement 20 et 25 % de la consommation totale de l'organisme au repos.

Comparativement aux autres organes, le cerveau est un producteur de grandes quantités de radicaux libres durant la phosphorylation oxydative du fait de sa forte consommation en O_2 . On estime en effet que 5 % de l' O_2 consommée par le cerveau sont utilisés dans des voies alternatives aboutissant à la formation de radicaux libres ou de molécules apparentées dont les interactions secondaires aboutissent à la formation de ces radicaux comparativement au foie ou au rein, le cerveau ne possède qu'une modeste activité superoxyde dismutase, catalase et glutathion peroxydase. Le glutathion (GSH) représente donc le principal dissipateur de radicaux libres du système nerveux central. (Ter-Minassian, 2006)

Le cerveau humain contient environ 3% de la totalité de la GPx hépatique. Il y a une absence totale d'enzyme non dépendante du sélénium. La quantité totale de superoxyde dismutase est similaire à

celle observée au niveau du foie et du cœur. Le niveau de catalase est faible, moins de 1% de celle présente au niveau du foie et des érythrocytes. Il y a également moins de vitamine E, moins de la moitié de celle contenue dans le foie. D'un autre côté, le cerveau contient de l'acide ascorbique en grande quantité (2mM). Certaines aires cervicales telles le ganglion basal sont très riches en fer (jusqu'à 200µg/g). Le stress oxydatif diminue les réserves de glutathion et entraîne des lésions mitochondriales au niveau cervical. (Choi, 1993)

L'activité de la superoxyde dismutase est significativement plus importante au niveau du cerebellum, de l'hippocampe et du cortex frontal qu'au niveau des cortex temporaux, pariétaux et entorhinaux. La catalase est plus active au niveau du cerebellum ainsi que du cortex frontal. La Glutathion peroxidase agit uniformément dans toutes les aires cervicales étudiées. (Chen et al., 1994) (Mirecki et al., 2004)

Region	GPx	GR	CuZnSOD
Noyau Caudal	121 ± 3	52.0 ± 2.5	148 ± 6
Putamen	113 ± 5	44.2 ± 2.6	177 ± 7
Cerebellar cortex	96.9 ± 4.2	61.4 ± 3.0	120 ± 6
Temporal cortex	141 ± 5	44.8 ± 2.0	119 ± 9
Occipital cortex	122 ± 5	38.4 ± 1.9	93.5 ± 4.5
Insular cortex	160 ± 6	40.1 ± 1.9	113 ± 5
Frontal cortex	166 ± 6	54.0 ± 1.8	116 ± 4

Illustration 16: Taux de glutathion peroxydase (GPx), glutathion réductase (GR) en nanomole par minute par milligramme de protéine et taux de superoxyde dismutase lié au cuivre et zinc (CuZnSOD) en unité par milligramme de protéine dans les différentes composantes cervicales (Mirecki et al., 2004)

Hème-oxygénase

C'est une enzyme qui dégrade l'hème pro-oxydante et se comporte donc comme un facteur défensif contre les processus oxydatifs. Cette enzyme augmente dans les cerveaux des patients souffrant de la MA et se localise dans les neurofibrilles, neurones des plaques séniles, les dégénérescences granulo-vacuolaires. L'APP se lie avec l'hème-oxygénase et inhibe son activité enzymatique ce qui augmente sa toxicité. D'autre part, la protéine amyloïde augmente les niveaux d'ARNm et des protéines pour l'hème-oxygénase.

Region	GSH	GSSG
Caudate	7895 ± 1336	435 ± 58
Putamen	10 365 ± 1390	463 ± 102
Cerebellar cortex	9895 ± 1176	195 ± 27
Temporal cortex	4926 ± 832	178 ± 37
Occipital cortex	7534 ± 1722	224 ± 50
Insular cortex	6399 ± 1324	359 ± 90
Frontal cortex	8125 ± 820	204 ± 48
Parietal cortex	6155 ± 543	195 ± 38
White matter	10 862 ± 1105	485 ± 118
Hippocampus	7027 ± 187	51 ± 14

Illustration 17: Taux de glutathion (en nanogramme par milligramme de protéine) réduit (GSH) et de glutathion oxydé (GSSG) dans les différentes composantes cervicales (Mirecki et al., 2004)

4- Mécanismes de défense anti-oxydante lors de MA

L'activité de la monoaminoxidase B diminue dans le cortex frontal, temporal et pariétal. Les données portant sur la SOD et la catalase sont controversées:

– Gsell et al. observèrent une augmentation de l'activité de la SOD non liée à la pathologie et une réduction de l'activité de la catalase dans le cortex pariéto-temporal, les ganglions basaux et l'amygdale.(Gsell et al., 1995)

–Marcus et al. montrèrent une diminution de la SOD dans le cortex frontal et temporal et de la catalase dans le cortex temporal.(Marcus et al., 1998)

– Askenov et al. trouvèrent un taux normal de l'ARNm de la Mn-SOD et une augmentation de la Cu/Zn-SOD, la catalase, GPx et GR dans l'hippocampe et le lobe pariétal inférieur.(Aksenov et al., 1998)

Il a été décrit une augmentation de l'immunoréactivité des anticorps polyclonaux contre la Cu/Zn-SOD, Mn-SOD et catalase dans les plaques séniles et neurofibrilles.

Furuta et al. ont décrit une réactivité plus importante à la Cu/Zn-SOD dans les neurones pyramidaux et à la Mn-SOD dans les astrocytes réactifs lors du processus de neurodégénérescence qui se co-exprime avec la protéine Tau. Les activités de la GPx et GR augmentent dans le cerveau selon certains auteurs.(Furuta et al., 1995)

La concentration de vitamine E est diminuée ou normale dans le LCR et variable dans le plasma. Les niveaux plasmatiques de rétinol sont diminués, ceux de la vitamine C variables, du β -carotène normaux ou diminués. Les niveaux d'acide urique normaux ou diminués. Certaines études ont permis d'observer une réduction des taux de rétinol, vitamines E et C, β -carotène et acide urique chez des patients souffrant de déficience cognitive minime semblables à ceux observés chez des patients souffrant de la MA. La concentration de Coenzyme Q10 est augmentée dans le cerveau ce qui s'interprète comme une réponse possible d'essai de protection contre le stress oxydatif. Le taux de thioredoxine est diminué et l'activité de la thioredoxine réductase est augmentée dans le cerveau des patients souffrant de la MA. Cette dernière enzyme a un rôle protecteur contre la toxicité de la β -amyloïde dans les cultures neuronales de l'hippocampe. Le taux de quinone réductase est augmenté dans les neurones de l'hippocampe et les neurofibrilles de même que l'ubiquinone-oxydoréductase dans les neurones pyramidaux de l'hippocampe.(Jiménez-Jiménez et al., 2006)

Une diminution des taux de GSH et de production de GSSG a été reliée à des pertes neuronales dans la MA.

Le ratio GSH/GSSG qui est un indicateur du fléau oxydatif dans le système est diminué dans le cortex frontal quelque soit le stade de la maladie.

Les faibles taux de GSH peuvent être directement liés à l'augmentation des EROs et ERN, peroxydes lipidiques et radicaux hydroxyles hautement réactifs. Un faible ratio GSH/GSSG contribue à promouvoir les radicaux libres et le stress oxydatif.

Une activité GPx réduite dans les mitochondries affecte directement l'élimination des EROs et des peroxydes lipidiques. La glutathion-S-transférase peut diminuer les dommages dus à l'HNÉ et acroléine en catalysant leur conjugaison à la GSH. Une diminution de GST est observée dans le cortex frontaux et résulte en l'augmentation des modifications/dysfonctionnement des protéines, menant à plus de stress oxydatif et un déclin de GSH.

Ces trois enzymes sont fortement diminuées chez les patients souffrant de MA ce qui provoque une faiblesse des défenses antioxydantes et donc une influence renforcée des EROs et ERN.

Les SOD protègent les neurones des taux élevés de O₂. La GPx et la CAT participent à l'élimination du peroxyde d'hydrogène. Une déplétion en CAT représente la perte d'une des défenses majeures contre les EROs. Une diminution de l'activité des SOD dans les mitochondries engendre un stress

oxydatif et progressivement augmente la production de peroxy-nitrite comme dommage secondaire. Ces enzymes sont diminuées significativement chez les patients souffrant de MA. En présence de stress oxydatif, la formation de dérivés carbonylés à partir de protéines et lipides cause des dommages aux biomembranes et participe à la formation des neurofibrilles dans la MA. Ces carbonyles forment des substrats immédiats pour la GSH et sont impliqués dans l'apoptose neuronale à tous les stades de la pathologie, ce qui est considéré comme une conséquence de la déplétion en GSH. Un stress oxydatif dû aux produits de l'oxydation peut mener à une mort neuronale retardée. Les cellules des synapses corticales ont une capacité diminuée de détoxifier les peroxydes lipidiques ce qui suggère qu'une diminution des antioxydants joue un rôle dans la pathologie de la MA.

La réactivité de l'HNE avec les enzymes clés mitochondriales augmentent la libération de radicaux libres dans le cytoplasme et provoquent la perte des fonctions synaptiques et la mort neuronale lors de MA.

Il existe une forte corrélation entre les taux synaptiques de peroxydation lipidique, oxydation protéique, nitration et le statut cognitif des sujets. Des changements dans le niveau d'anti-oxydants sont également en forte corrélation avec le score MMSE, soutenant l'idée que les changements significatifs du stress oxydatif sont des événements précoces jouant un rôle important dans la progression de la maladie.

Le flou demeure sur la chronologie des événements.(Ansari & Scheff, 2010)

IV- Méthode de mesure

Dans le cas du stress oxydatif, chaque antioxydant est affecté à un degré différent. Il existe différentes méthodes permettant d'évaluer la capacité antioxydante totale d'un échantillon biologique.

La base de la technique est de mettre en contact un système in vitro générant des ERO avec une cible (acide gras, sonde fluorescente) dont l'oxydation est suivie dans le temps par spectrophotométrie ou luminescence.

Lorsque cette réaction est réalisée sur un échantillon de plasma, les antioxydants présents dans celui-ci vont interagir avec les ERO. Ce n'est qu'après leur consommation totale que l'oxydation de la cible commencera. Ce temps de latence est directement proportionnel à la quantité d'antioxydants présents dans l'échantillon plasmatique.

Ci-dessous nous allons décrire quelques-unes de ces méthodes.

A) Le test PATROL

Nous allons ici décrire la méthode proposée et réalisée au département Laser au sein de Centre Hospitalier Universitaire de Nantes dirigé par le Professeur Patrice. Cette méthode est brevetée depuis 2007 (brevet n° FR 07/07938, 13/11/07, modifié n° FR 08/02110, 16/04/08 PCT n° WO 2009/068820 A2).

La méthode permet d'évaluer par fluorescence, la capacité de résistance d'un sérum à l'apparition des radicaux libres.

Le niveau d'hémolyse du sérum est préalablement évalué à partir d'un pic d'absorption à 413 nm et le niveau d'absorption minimal est défini à 650 nm. La destruction des globules rouges provoque la libération de l'hémoglobine qui absorbe fortement, ce qui affecte les mesures optiques particulièrement, celles impliquant la fluorescence. De plus l'hémolyse libère plusieurs molécules ayant un rôle dans les processus oxydatifs. Les porphyrines peuvent, en plus, emprisonner l'oxygène singulet et dégrader l'anion superoxyde. (Olivier et al., 2009)

Un photosensibilisant, le rose Bengale, est ajouté par la suite au sérum. Ce mélange est ensuite irradié à 514 nm pendant 102 secondes, ce qui entraîne la formation d'oxygène singulet. Le bon positionnement du sérum et la quantité d'énergie délivrée par le laser sont contrôlés, permettant une production standardisée d'oxygène singulet et une reproductibilité des mesures.

Rose Bengale et EROs

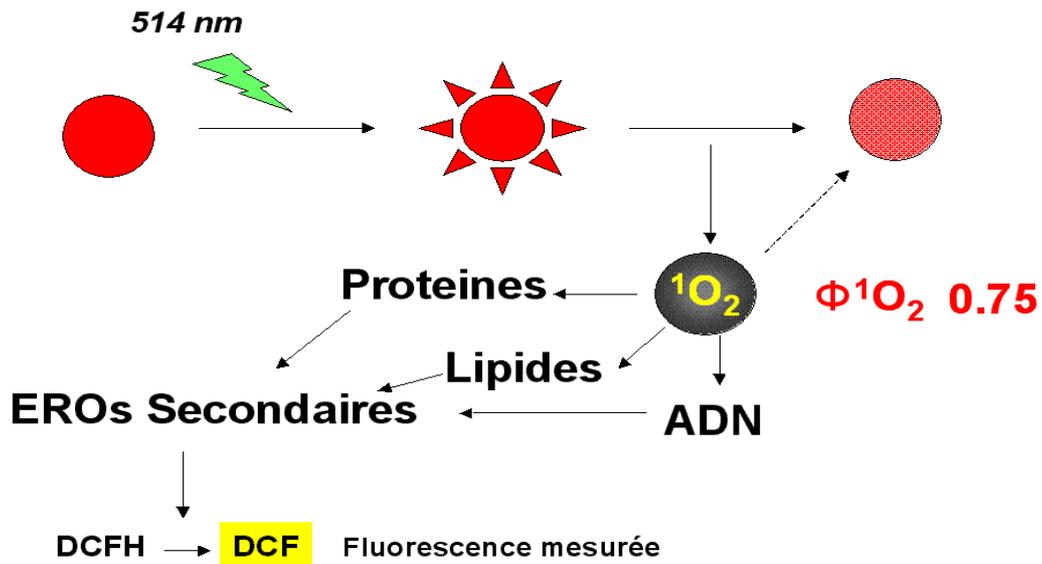


Illustration 18: Réaction du rose bengale excité par onde lumineuse dans le principe du test PATROL

Une sonde fluorescente, la dichlorofluoresceine, est ensuite adjointe. La réaction d'oxydation avec les radicaux libres présents dans le sérum transforme la dichlorofluoresceine non fluorescente en 2'-7'-dichlorofluoresceine hautement fluorescente. La fluorescence est alors mesurée pendant 66 minutes.

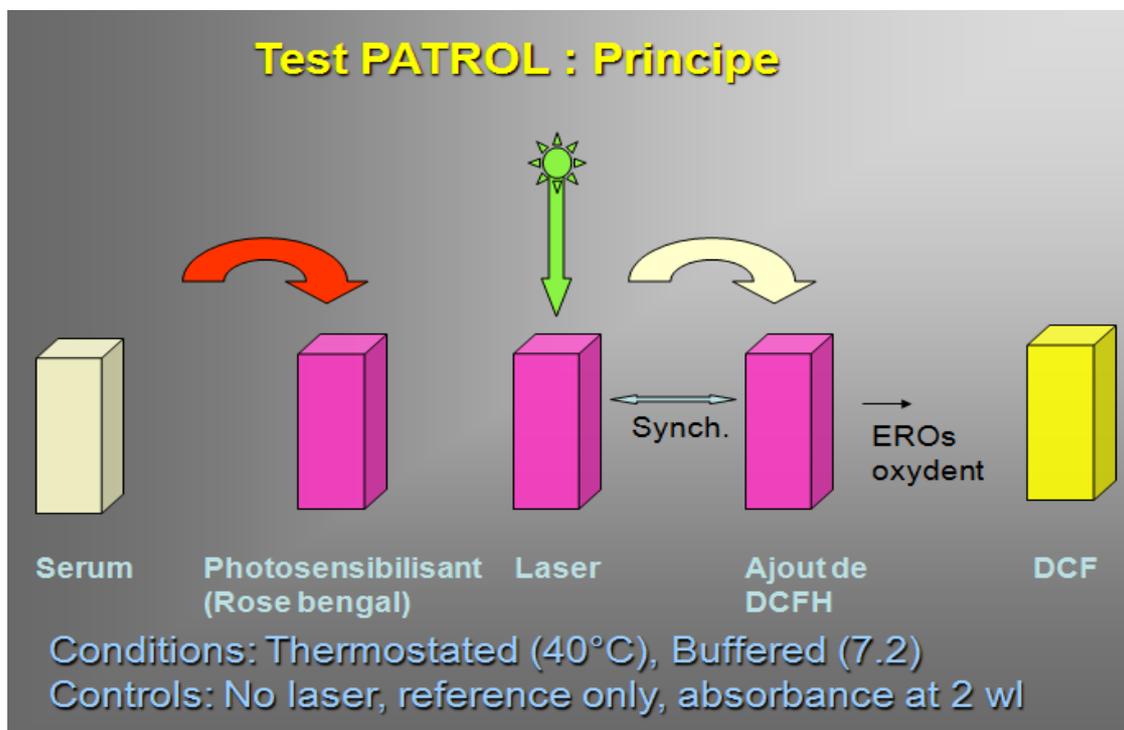


Illustration 19: principe du test PATROL réalisé à 40°C.

La calcul de l'aire sous la courbe permet de définir la capacité anti-oxydante totale du sérum. Plus l'aire sous la courbe est importante, plus la capacité anti-oxydante totale de l'individu est faible. (Olivier et al., 2009b)

L'AUC est rapportée à une population témoin afin de standardiser le test. On divise l'AUC de l'échantillon par celui du pool de sérum de donneurs sains utilisé comme référence. Le ratio de référence vaut 1; un ratio > 1 traduit une AUC des patients supérieure à celles des témoins, donc une capacité anti-oxydante inférieure.(Bigot et al., 2011)

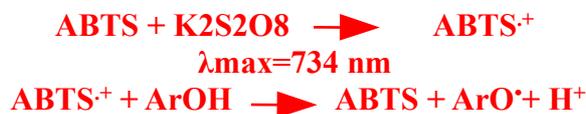
B) Le test TEAC

Il s'agit du test Trolox-Equivalent Antioxydant Capacity commercialisé par les laboratoires Randox. Il est basé sur la suppression de l'absorbance des cations du 2,2-azinobis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS) par les antioxydants dans les échantillons du test quand l'ABTS est incubé avec des peroxydases (metmyoglobine) et H₂O₂. Si le temps d'inhibition est fixé à 3 minutes, tel que décrit dans les instructions du fabricant, les antioxydants rajoutés quenchent les radicaux d'ABTS de façon dose-dépendante non linéaire.(Wang et al., 2004)

Il s'en suit une méthode d'inhibition: un échantillon est ajouté au système producteur de radicaux libres, l'inhibition de l'activité des radicaux libres est mesurée et cette inhibition est reliée à la capacité antioxydante de l'échantillon.(Cao & Prior, 1998)

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS.+ de coloration bleu-verte en le transformant en ABTS+ incolore, par piégeage d'un proton par l'antioxydant. Une comparaison est faite avec la capacité du Trolox (analogue structural hydrosoluble de la vitamine E) à capturer ABTS.+ La décroissance de l'absorbance causée par l'antioxydant reflète la capacité de capture du radical libre. La capacité antioxydante, exprimée en équivalent Trolox (TEAC), correspond donc à la concentration de Trolox ayant la même activité que la substance à tester à une certaine concentration. Le résultat est donné en µM ou mM d'équivalent Trolox par g de produit ou par ml s'il s'agit d'un liquide.(Pincemail et al., 1999)

La réaction utilisée ici est la suivante:



où l'ABTS est le 2,2'-azino-bis (acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).(Apak et al., 2007)

L'évolution de l'absorbance est suivie par spectrophotométrie.

C) Le test ORAC

C'est le test Oxygen Radical Absorbance Capacity basé sur le travail de Glazer et modifié par Cao et Prior dans lequel la diminution de la fluorescence de la B- ou R-phycoerythrine (PE) est mesurée en présence de 2,2-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride, la phase de décalage ou la constante de diminution de la fluorescence de la PE est utilisée pour déterminer la capacité antioxydante de l'échantillon ajouté. Elle prend en compte la globalité de l'action des radicaux libres et utilise les aires sous la courbe afin de la quantifier en combinant le pourcentage et l'importance de l'inhibition de la formation des radicaux libres par les antioxydants en une seule valeur.(Wang et al., 2004)

On utilise un spectrofluoromètre à une longueur d'excitation de 540nm et une longueur d'émission de 565nm.

Comme le test TEAC, il s'agit d'une méthode d'inhibition.

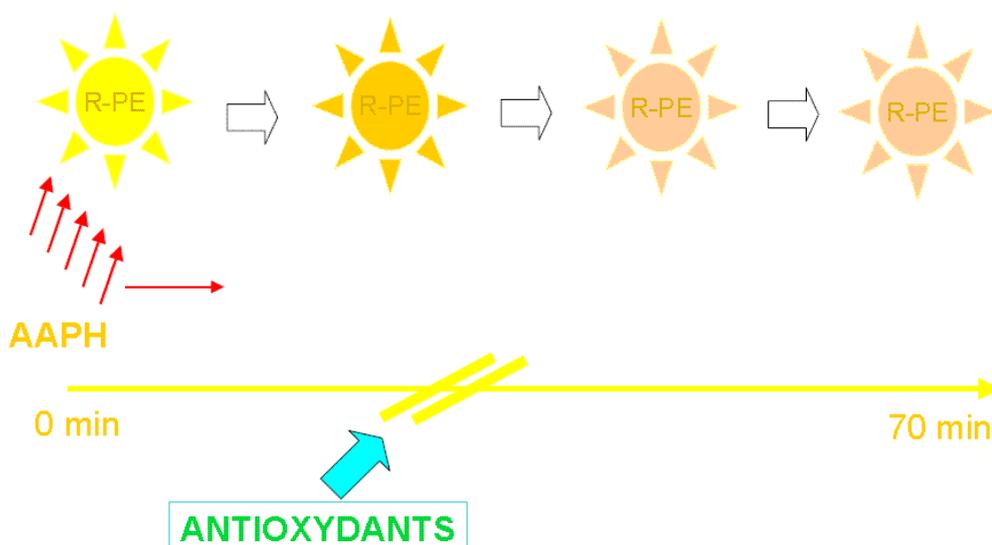


Illustration 20: Mécanisme du test ORAC où l'AAPH (2,2'-azobis(2-aminopropane)dihydrochloride) est le générateur de radicaux libres, R-PE est la phycoerythrine, la protéine fluorescente, l'addition de radicaux libres sur la protéine vont induire des transformations de structures entraînant un quenching de fluorescence. (Perier, 2011)

Les valeurs sont rapportées en trolox équivalent par produit en croix sur les valeurs d'un échantillon par exemple (Perier, 2011):

Echantillon	Aire	Valeur ORAC
Blanc	8485	n/a
Trolox	14008	1
Sérum	31299	8.23

La méthode est basée sur la décroissance de la fluorescence de la fluorescéine en présence d'un oxydant chimique l'AAPH (un radical peroxy libre stable). Le produit à tester peut être capable de protéger la fluorescéine et réduire la vitesse de dégradation de la fluorescence. Il possède alors un pouvoir antioxydant. La méthode est réalisée en microplaque dans lesquelles il est mesuré, en parallèle, le déclin de la fluorescéine au cours du temps en présence de concentrations croissantes de Trolox et des échantillons à tester à différentes concentrations. Le but est d'obtenir une réponse comparable à celle de la gamme. On peut ainsi après traitement des données, calculer l'équivalent Trolox. La méthode faisant intervenir une cinétique, la mesure de la capacité se fait par l'intermédiaire du calcul des aires sous la courbe. C'est une méthode qui combine à la fois le pourcentage d'inhibition de la réaction d'oxydation et la longueur dans le temps de cette inhibition en une seule mesure. Elle donne une mesure globale de la capacité antioxydante (Pincemail et al., 1999)

Le test ORAC met en application un schéma réactionnel dans lequel antioxydant et substrat entrent en compétition de façon cinétique afin de générer des radicaux peroxy par la décomposition de composés azo comme l'ABAP (2,2'-azobis(2-aminopropane)dihydrochloride). L'aire sous la courbe (AUC), trouvé en soustrayant l'AUC d'un blanc à celui d'un échantillon contenant des antioxydants (la diminution de la fluorescence est retardée) est une indication de la concentration totale en antioxydants de l'échantillon.

Le test utilise aujourd'hui de la fluorescéine. Il mesure l'inhibition d'oxydations induites par des radicaux peroxy par les antioxydants et reflète l'activité antioxydante par transfert d'atome d'hydrogène. (Apak et al., 2007)

D) Autres

1- FRAP (Ferric Reducing Antioxydant Capacity)

Il mesure la réduction des ions ferriques en ferreux en présence d'antioxydants. Il n'utilise donc pas de radicaux libres ou d'oxydants.

La capacité antioxydante d'un antioxydant contre un radical libre ne correspond pas nécessairement à son habileté à réduire les ions ferriques en ferreux. (Cao & Prior, 1998)

On utilise un spectrophotomètre. Les résultats finaux sont convertis en mmol Trolox équivalents/L.

Les essais basés sur le spectrophotomètre mesurent la capacité d'un antioxydant à réduire un oxydant qui change de couleur une fois réduit. Le degré de changement de coloration (augmentation ou diminution de l'absorbance à une longueur d'onde donnée) est corrélé à la concentration d'antioxydant de l'échantillon.

Le test suit la réaction suivante:



où TPZ est le ligand 2,4,6-tripyridyl-s-triazine.

Le test FRAP est simple et bon marché mais est irréalisable chez l'homme car le complexe coloré est formé à un pH de 3,6 bien plus bas que le pH physiologique et insuffisamment sensible au groupement thiol présent dans les antioxydants comme le glutathion. (Benzie & Strain, 1996) (Apak et al., 2007)

2- DPPH

La méthode est basée sur la dégradation du radical DPPH. Un antioxydant aura la capacité de donner un électron singulet au radical synthétique DPPH. De coloration violette pour le stabiliser en DPPH de coloration jaune-verte. La mesure de la décroissance de coloration violette au cours du temps permet de déterminer la EC50, temps au bout duquel 50% de coloration est perdue. Généralement interprétée sur la base de la quantité d'un antioxydant nécessaire pour faire diminuer de 50% la quantité initiale de DPPH (EC50), (des comparaisons de EC50 sont réalisées), le résultat est dépendant de la concentration en DPPH initiale. En ajoutant une référence connue, on pourrait standardiser la méthode, en ramenant par exemple les résultats à un équivalent Trolox. (Pincemail et al., 1999)

La méthode utilise la réaction suivante:



où le DPPH est le radical stable [2,2-di(4-*tert*-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl] (Apak et al., 2007)

3- CUPRAC (cupric reducing antioxydant capacity)

Ce test est basé sur l'augmentation de l'absorbance à une longueur d'onde prédéfinie lorsque l'antioxydant réagit avec le réactif chromogène.

Il suit la réaction suivante:



E) Comparaison

Caractéristique	PATROL	FRAP	TEAC	ORAC	DPPH
Méthode	Fluorescence	Absorbance UV/vis	Absorbance UV/vis	Fluorescence	Absorbance UV/vis
Matériel	Laser, spectrophotomètre	Spectromètre	Spectromètre	Spectrophotomètre	Spectromètre
Temps	66min	Quelques minutes	Quelques minutes	70min	Non fixé
ERO	Oxygène singulet	Pas d'ERO: Ion ferrique	ABTS exogène	Radical peroxy	DPPH
Inconvénient	Long, matériel spécifique,	Ne mesure pas les Aox possédant un groupement thiol, réalisable qu'à pH acide non physiologique.	Cher, moins spécifique, peu physiologique.	Long, pas encore standardisé, nécessite la réalisation d'un test TEAC en parallèle.	Réaction avec des phénols, temps non fixé.
Avantages	Spécifique, mesure globale, standardisé, petit échantillon de sérum, physiologique	Peu couteux, rapide, simple.	Court, standardisé,	Spécifique, répond à de nombreux antioxydants, physiologique, mesure globale.	Court, simple.

F) Application à la MA

Aucune étude portant sur l'étude de la CAT des patients atteints de la MA n'a été à ce jour conclue. Nous pouvons toutefois émettre l'hypothèse que les CAT se rapprocheraient de patients souffrant de multiples micro-AIC.

Une étude menée par Thomas Ritzenthaler entre 2009 et 2011 sur la dynamique du stress oxydatif dans la phase aiguë de l'AIC, utilisant le test PATROL, montre l'évolution de la CAT des patients dans la semaine suivant l'AIC.

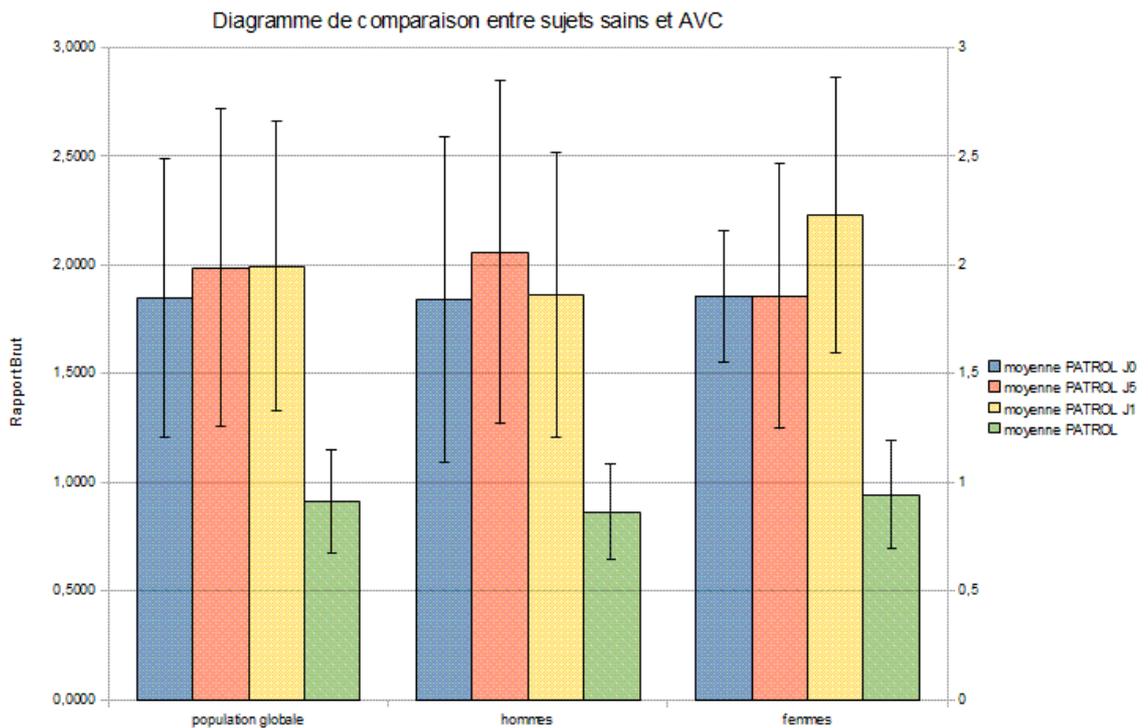


Figure 7: Test Patrol des sujets sains, sujets ayant fait un AVC à J0, J1 et J5

Son étude permet de dire que la capacité anti-oxydante totale des individus souffrant d'un AIC est diminuée dès les premiers symptômes et ce jusqu'au cinquième jour qui témoigne d'une augmentation de la consommation des molécules anti-oxydantes.

En rapprochant la pathologie de la MA d'une succession d'AIC, on peut considérer que la CAT est toujours abaissée chez les patients atteints de la MA par rapport aux sujets d'âge équivalent sains (Ritzenthaler, 2011).

Afin de confirmer cette hypothèse, il faudrait réaliser une étude portant sur la capacité antioxydante totale de patients diagnostiqués avec la MA ainsi qu'en consultation mémoire afin de quantifier la CAT selon la gravité des symptômes.

V- Traitement

Actuellement il existe deux types de médicaments permettant une prise en charge symptomatique de la maladie, les inhibiteurs d'acétylcholinestérase et les antagonistes des récepteurs NMDA.

Aucun d'eux n'empêche l'évolution de la pathologie.

A) Les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

Ils répondent à la stratégie pharmacologique initiale du traitement basée sur l'hypothèse cholinergique de ce dysfonctionnement de la mémoire.

Précédemment nous disions que le taux d'acétylcholine présent dans le cerveau atteint était bien inférieur à celui d'un cerveau sain à cause de la présence abondante d'acétylcholinestérase et de butylcholinestérase.(Hansen et al., 2006)

Ces médicaments inhibent donc ces deux enzymes et permettent d'augmenter le taux d'acétylcholine.

1- Tacrine

L'hydrochloride de tacrine, un inhibiteur de cholinestérase de première génération, fut le premier médicament de cette classe à être approuvé. Il a obtenu son AMM en France en Mai 1994 sous le nom déposé de COGNEX® commercialisé par le laboratoire Parke-Davis. C'est un inhibiteur réversible et non compétitif de l'acétylcholinestérase à affinité centrale, la tacrine passe la barrière hémato-encéphalique et diffuse dans le cortex, l'hippocampe, le thalamus et le striatum.

De plus, la tacrine stimule les récepteurs muscariniques et nicotiniques, pré et postsynaptiques, ce qui permet d'augmenter la libération d'acétylcholine mais aussi d'inhiber la recapture de la choline qui freine la libération d'acétylcholine.

Elle est prescrite dans les formes légères à modérées de la pathologie à une posologie comprise entre 80 et 160mg/j.

La tacrine a été supprimée en mai 2004 à la suite de sa toxicité hépatique.(Theriaque, 2011a) (Blanchecotte, 1995)

2- Donépézil

Le chlorhydrate de donépézil est un inhibiteur de seconde génération. Il a obtenu son AMM en septembre 1997 sous le nom déposé d' ARICEPT® commercialisé par le laboratoire EISAI.

C'est un inhibiteur spécifique et réversible de l'acétylcholinestérase. Il présente in vitro une activité sur l'acétylcholinestérase 1000 fois plus importante que sur la butylcholinestérase, cholinestérase présente hors du système nerveux central.

Le donépézil est soumis à prescription médicale restreinte :

- Prescription initiale annuelle réservée aux médecins spécialistes en neurologie, en psychiatrie, aux médecins spécialistes titulaires du diplôme d'études spécialisées complémentaires de gériatrie et aux médecins spécialistes ou qualifiés en médecine générale titulaires de la capacité de gériatrie.

- Médicaments soumis à une surveillance particulière pendant le traitement : nécessité d'un examen cardiologique avec ECG préalable.(HAS, 2007)(Theriaque, 2011b)

Le donépézil est prescrit comme traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer dans ses formes légères à modérément sévères (MMSE entre 10 et 26).

Il existe les dosages 5 et 10 mg sous formes de comprimés pelliculés ou orodispersibles

Il s'administre en une prise le soir avant le coucher, à dose progressive:

- 5mg/j pendant un mois au moins (l'état d'équilibre est atteint en trois semaines environ)
- Adaptation posologique ultérieure en fonction des résultats cliniques jusqu'à 10mg/j dose maximale recommandée.

Ses effets indésirables les plus fréquents sont des troubles digestifs tels des diarrhées, des nausées des vomissements, des crampes musculaires, de la fatigue, des insomnies. Des cas d'agitation nocturne et/ou de cauchemars ont été décrits qui amènent à proposer la prise du médicament le matin. Ces effets surviennent majoritairement lors de la mise en place du traitement.(Dorosz, 2009)

3- Galantamine

Le bromhydrate de galantamine est un inhibiteur spécifique, compétitif et réversible de l'acétylcholinestérase. Il potentialise également l'action intrinsèque de l'acétylcholine sur les récepteurs nicotiques. Toutes ces actions permettent une augmentation de l'activité du système cholinergique donc une amélioration des fonctions cognitives.

Il a obtenu son AMM en octobre 2000 (dernier inhibiteur d'acétylcholinestérase mis sur le marché) sous le nom commercial de REMINYL® pour le laboratoire JANSSEN CILAG.(AFSSAPS, 2010) (Theriaque, 2011c)

C'est un médicament soumis à prescription médicale restreinte :

- Prescription initiale annuelle réservée aux médecins spécialistes en neurologie, en psychiatrie, aux médecins spécialistes titulaires du diplôme d'études spécialisées complémentaires de gériatrie et aux médecins spécialistes ou qualifiés en médecine générale titulaires de la capacité de gériatrie.
- Médicaments soumis à une surveillance particulière pendant le traitement (examen cardiologique avec ECG préalable à l'instauration du traitement)

Comme le donépézil, la galantamine est prescrite pour les formes légères à modérément sévères de la maladie d'Alzheimer.

La galantamine se présente sous forme de comprimés 4,8 et 12 mg, de solution buvable à 4mg/ml et sous forme de gélules à libération prolongée de 8,16 ou 24 mg (ces formes permettent une prise unique le matin).

Son administration se fait en 2 prises matin et soir au cours des repas. L'instauration du traitement se fait progressivement:

- 4mg 2 fois par jour pendant les quatre premières semaines
 - Puis 8mg 2 fois par jour pendant quatre semaines au minimum
 - La posologie sera augmentée jusqu'à 12mg 2 fois par jour pour les patients « non répondeurs ».
- (Comission de transparence de l'HAS, 2007)

Chez les patients insuffisants hépatiques modérés à sévères, on débutera le traitement par 4 mg par jour pendant une semaine puis 4 mg 2 fois par jour pendant un mois au minimum pour aller jusqu'à 8mg 2 fois par jour (à ne pas dépasser).

La galantamine est formellement contre-indiquée lors d'insuffisances hépatique et rénale sévères.

Les effets indésirables les plus fréquents se manifestent surtout dans les premières semaines de traitement par des troubles digestifs (nausées, vomissement, diarrhées, douleurs abdominales), des dyspepsie, de l'anorexie, de la fatigue, des céphalées, des sensations vertigineuses ainsi que de la somnolence.(Comission de transparence de l'HAS, 2007)(Dorosz, 2009)

4- Rivastigmine

L'hydrogénotartrate de rivastigmine est un inhibiteur pseudo-irréversible de l'acétyl- et de la butylcholinestérase. Elle facilite la neurotransmission cholinergique en ralentissant la dégradation de l'acétylcholine. Chez les patients souffrant de la MA l'inhibition de l'acétylcholinestérase dans le LCR par la rivastigmine est dose-dépendante. L'inhibition des butyl et acétylcholinestérase par la rivastigmine dans le LCR est équivalente.

Elle a obtenu son AMM en Juin 1999 sous le nom commercial d' EXELON® par le laboratoire NOVARTIS PHARMA.

C'est un médicament soumis à prescription médicale restreinte:

- Prescription initiale annuelle réservée aux médecins spécialistes en neurologie, en psychiatrie, aux médecins spécialistes titulaires du diplôme d'études spécialisées complémentaires de gériatrie et aux médecins spécialistes ou qualifiés en médecine générale titulaires de la capacité de gériatrie.
- Médicaments soumis à une surveillance particulière pendant le traitement (examen cardiologique avec ECG préalable à l'instauration du traitement)

La rivastigmine est prescrite pour le traitement symptomatique des formes légères à modérément sévères de la maladie d'Alzheimer ainsi que pour le traitement symptomatique des formes légères à modérément sévères d'une démence chez les patients atteints de maladie de Parkinson idiopathique. (AFSSAPS,2001)(Commission de transparence de l'HAS, 2007)

La rivastigmine se prend 2 fois par jour, le matin et le soir au moment du repas.

Elle se présente sous forme de gélule dosée à 1,5,3,4,5 et 6mg, de solution buvable à 2mg/ml.

La rivastigmine existe également sous forme de dispositif transdermique de 4,6 et 9,5 mg (AMM fin 2007).

Par prise orale:

- L'instauration du traitement débute par 1,5 mg deux fois par jour.
- Si cette posologie est bien tolérée pendant au moins deux semaines de traitement, elle peut être augmentée à 3 mg deux fois par jour.
- On pourra augmenter la dose à 4,5 mg deux fois par jour puis à 6 mg deux fois par jour si la tolérance est satisfaisante après deux semaines de traitement au minimum à chaque palier posologique.

Si des effets indésirables surviennent (nausées, vomissements, douleurs abdominales, perte d'appétit) ou une perte de poids au cours du traitement, ceux-ci peuvent régresser si l'on supprime une ou plusieurs prises ou, en cas de persistance, si l'on revient temporairement à la posologie quotidienne antérieure bien tolérée.

Dose d'entretien: la dose efficace est 3 à 6 mg deux fois par jour; Pour une efficacité thérapeutique maximale, on maintient les patients à leur dose maximale tolérée. La dose maximale quotidienne recommandée est de 6 mg deux fois par jour.(Dorosz, 2009)(Thériaque, 2011d)

Par Dispositif transdermique:

Le patch s'applique sur une peau saine, propre, sèche et sans pilosité, sur le haut ou le bas du dos, le haut du bras ou la poitrine (20 à 30 % plus de passage que sur l'abdomen ou la cuisse). On applique un nouveau patch tous les jours après retrait de l'ancien.

- Instauration avec un patch de 4,6 mg par jour pendant au moins 4 semaines
- Puis augmentation à un patch de 9,5 mg par jour.(Thériaque, 2011e)

Le traitement durera aussi longtemps qu'il existe un bénéfice pour le patient, celui-ci doit être réévalué régulièrement. Si le bénéfice n'est plus évident, l'arrêt du traitement devra être envisagé.

Les effets indésirables les plus fréquents outre ceux vus précédemment sont une asthénie, une somnolence, une agitation ou encore une confusion.(AFSSAPS,2001)(Dorosz, 2009)

B)Antagoniste des récepteurs NMDA: Mémantine

Des preuves plus récentes ont montré l'implication du glutamate, neurotransmetteur excitant, dans la physiopathologie de la maladie. A ce jour, la seule molécule utilisée intervenant dans le mécanisme du glutamate dans le cadre de son action sur les troubles cognitifs reste la mémantine. (Hansen et al., 2006)

La mémantine est un antagoniste non compétitif de faible affinité des récepteurs NMDA. Elle bloque la toxicité neuronale due à une libération prolongée de glutamate sans empêcher l'action physiologique du glutamate dans ses fonctions d'apprentissage et de mémorisation.(Hansen et al., 2006)

Elle a obtenu son AMM en Mai 2002 sous le nom déposé d'EBIXA® par le laboratoire LUNDBECK.

C'est un médicament soumis à prescription médicale restreinte :

- Prescription initiale annuelle réservée aux médecins spécialistes en neurologie, en psychiatrie, aux médecins spécialistes titulaires du diplôme d'études spécialisées complémentaires de gériatrie et aux médecins spécialistes ou qualifiés en médecine générale titulaires de la capacité de gériatrie.
- Médicaments soumis à une surveillance particulière pendant le traitement (examen cardiologique avec ECG préalable à l'instauration du traitement).(Thériaque, 2011f)

La mémantine est prescrite dans le traitement de la maladie d'Alzheimer dans ses formes modérées à sévère (MMSE entre 3 et 15).

Elle est commercialisée sous forme de comprimés sécables de 10 et 20 mg et de solution buvable à 10mg/g.

L'administration se fait en deux prises matin et soir à jeun ou lors des repas avec une initialisation progressive du traitement:

- 5 mg par jour en une prise pendant une semaine
- 10 mg par jour en une prise pendant la 2^{ème} semaine
- 15 mg par jour pendant la 3^{ème} semaine
- Puis 20 mg par jour à adapter selon le rapport bénéfice/risque à partir de la 4^{ème} semaine

Pour les insuffisants rénaux modérés, on ne dépasse pas la dose de 10 mg par jour avant réévaluation. Pour les insuffisants rénaux sévères la mémantine est contre-indiquée.(AFSSAPS, 2002)(Thériaque, 2011f)

Les effets indésirables majeurs de cette molécule ne sont pas d'ordre digestifs comme la classe précédente. Ils se manifestent par des sensations vertigineuses, des insomnies, des céphalées, des hallucinations, des vertiges, des confusions mentales ainsi que de la fatigue.(Dorosz, 2009)

C)Efficacité des traitements existants

1- Efficacité individuelle

De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer l'efficacité des quatre molécules utilisées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. A ce jour aucune d'entre elles n'est réellement satisfaisante. L'efficacité globale des trois inhibiteurs de cholinestérases est équivalente.

- Le donépézil: des études sur 12,24 et 52 semaines ont été réalisées, leur résultats montrent que les troubles cognitifs se voient statistiquement améliorés que ce soit pour des doses de 5 (24 semaines) ou 10mg/j (24 et 52 semaines) par rapport au placebo. Les résultats des études montrent une légère amélioration de l'état clinique global (après examen par un médecin pour les études de 24 semaines) pour les patients traités par le donépézil à des doses de 5 ou 10mg/j. Il a également été remarqué des avantages concernant les activités de la vie quotidienne et sur le comportement mais non sur le score « quality of life ».

Lors des études, il a été noté un nombre significatif de retraits de patients de la cohorte avant la fin du traitement pour des doses de 10mg/j contrairement aux études à 5mg/j ce qui a probablement induit une surestimation des bénéfices du dosage à 10mg/j. Ceux-ci ne sont que légèrement supérieurs à ceux trouvés pour le dosage à 5mg/j.

Quelle que soit la sévérité des atteintes (Alzheimer ou associées), les résultats trouvés sont similaires.

Il a été noté plus d'effets indésirables chez les patients traités par le donépézil à 10mg/j comparés à ceux traités par 5mg/j. En effet en plus de l'anorexie, des diarrhées et des douleurs musculaires, il apparaît à double dose des symptômes de fatigue, nausées et de sensations vertigineuses.

En considérant la meilleure tolérance, l'efficacité comparable et le moindre coût du dosage à 5mg, celui-ci semble la meilleure option.(Birks & Harvey, 2009)(Commission de transparence de l'HAS, 2007)

- La galantamine: sur 8 études il a été montré que le traitement par galantamine, à tous les dosages excepté à 8mg/j, améliorait ou n'influçait pas l'état général des patients sans différence majeure entre les groupes traités à une dose de 16 mg/j à 36 mg/j.

Le traitement permet également une diminution des troubles cognitifs à tous les dosages, cependant l'effet reste moindre pour un dosage à 8 mg/j alors qu'il est comparable pour tous les dosages entre 16 et 36 mg/j.

Le comportement, l'activité quotidienne ainsi que la qualité de vie ont été mesurés dans une petite quantité d'études qui ont toutes montré un effet significatif du traitement que ce soit pour les patients diagnostiqués Alzheimer ou possible Alzheimer.

Les effets indésirables répertoriés lors de ces études sont similaires à ceux provoqués par les autres anticholinestérases et sont dose-dépendants.

La formulation à libération prolongée ne montre pas d'avantages, en ce qui concerne l'efficacité et les effets indésirables, par rapport à la formulation classique.

Les bénéfices apportés par ce traitement dans le cas de MCI (mild cognitive impairment ou déclin cognitif modéré) se montrent peu significatifs, en outre il est noté un excès inexplicé du taux de mortalité. Le traitement des MCI par cette molécule n'est donc pas recommandé.(Loy & Schneider, 2009)(Commission de transparence de l'HAS, 2007)

- La rivastigmine: L'utilisation de la rivastigmine à haute dose (6 à 12 mg/j) a été associée à des bénéfices significatifs sur la diminution des troubles cognitifs et une amélioration des activités de la vie quotidienne après 26 semaines de traitement. A plus faible dose (4 mg/j ou moins) les résultats ne sont significatifs que pour les troubles cognitifs.

Les effets indésirables tels des nausées, vomissements, diarrhées, anorexie, céphalées, syncope, douleurs abdominales et sensations vertigineuses ont été plus décrits dans les groupes de patients

traités à haute dose de rivastigmine. Ceux-ci pourraient être moins fréquents grâce à une prise régulière de dose plus faible.

De nouvelles études portant sur les dispositifs transdermiques montrent que l'efficacité des patchs faiblement dosés (9,6 mg/j) est comparable avec la prise orale d'un dosage identique mais est associé à une diminution des effets secondaires. De même l'efficacité des patchs fortement dosés (17,4 mg/j) ne s'avèrent que faiblement plus efficaces que les dosages inférieurs et montrent des effets indésirables comparables à ceux causés par une prise orale de rivastigmine.

Il apparaît donc des avantages à utiliser les patch faiblement dosés par rapport au patch hautement dosé ainsi qu'aux gélules (6-12 mg/j).(Birks & Harvey, 2009)(Commission de transparence de l'HAS, 2007)

- La mémantine: Des études se déroulant sur six mois ont montré que la mémantine dosé à 20 mg/j entraîne une réduction cliniquement notable de la détérioration cognitive ainsi que fonctionnelle.

Pour les cas d'Alzheimer modérés à sévères, la prise de mémantine permet une amélioration de l'humeur et du comportement ainsi qu'une diminution de l'agitation des patients.

Pour les cas légers à modérés d'Alzheimer, l'amélioration des troubles cognitifs est notable mais en ce qui concerne l'humeur, le comportement les activités de la vie quotidienne, aucun résultat ne montre de bénéfice.

La molécule est bien tolérée en général quel que soit le stade de la maladie, aucun effet majeur n'est apparu en dehors de ceux également répertoriés pour le placebo.(McShane et al., 2009)

2- Comparaison

Pour les stades légers à modérés de la maladie d'Alzheimer: (Birks & Harvey, 2009)(Loy & Schneider, 2009)(Birks& Harvey, 2009b)(McShane et al., 2009)

- Troubles cognitifs:

Les données recueillies sont toutes prises pour les études ayant duré 6mois. Pour l'évaluation des troubles cognitifs nous avons répertorié les valeurs des échelles ADAS-cog et MMSE

ADAS-cog: Alzheimer's Disease Assessment Scale (ADAS-Cog) (Rosen 1984). ADAS-Cog comprend 11 tests individuels afin d'évaluer globalement les troubles cognitifs: capacité pour le langage parlé (0-5), compréhension du langage parlé (0-5), rappel des instructions (0-5), difficulté à retrouver les mots(0-5), obéissance à certains ordres (0-5), nommer des objets (0-5), dessin (0-5), expression des idées (0-5), orientation (0-8), rappel de mots (0-10) et reconnaissance de mots (0-12). Le score total va de 0-70 (le score maximum correspond à la détérioration majeure).

MMSE:Mini Mental State Examination (Folstein 1975) évalue les troubles cognitifs dans cinq domaines: orientation, mémoire directe, attention et calcul, mémoire à long terme et parole. Le score obtenu est entre 0 (sévère déclin) et 30 (normal).

MOLECULE	SCORE ADAS-cog vs. PLACEBO	SCORE MMSE vs. PLACEBO
Donépézil 5mg/j	-2,02	1,44
Donépézil 10mg/j	-2,81	1,45
Galantamine 8mg/j	-1,7	-
Galantamine 16-32mg/j	-3,23	-
Rivastigmine 1-4mg/j	-0,84	0,43
Rivastigmine 6-12 mg/j	-1,99	0,82
Mémantine 20mg/j	-0,99	-

- Effet selon l'évaluation globale:

Les résultats ont tous été pris dans les études durant 6 mois. Toutes les études ont utilisé l'échelle CIBIC +: Clinician's Interview-Based Impression of Change plus Caregiver Input (CIBIC-plus). Cette échelle se base sur le procédé de l'Alzheimer's Disease Cooperative Study-Clinical Global Impression of Change (ADCS-CGIC; Schneider 1997). Ce score permet de voir le changement entre l'avant et l'après traitement. Ils vont de 1 à 7, 4 ne représentant aucun changement, les scores inférieurs à 4 indiquent une amélioration, les scores au-dessus de 4 une dégradation. Ici les scores ont été comparés à ceux obtenus pour les patients sous placebo.

MOLECULE	SCORE CIBIC + vs. PLACEBO
Donépézil 5mg/j	3,66
Donépézil 10mg/j	2,44
Galantamine 8mg/j	1,13
Galantamine 16-32mg/j	1,65
Rivastigmine 1-4mg/j	0,71
Rivastigmine 6-12 mg/j	0,66
Mémantine 20mg/j	0,13

- Comportement:

Les résultats ont été pris dans des études durant 6 mois. L'échelle utilisée est l'échelle NPI: Neuropsychiatric Inventory (NPI; Cummings 1994). Cette échelle évalue dix items tels l'illusion, les hallucinations, l'agitation/agression, la dépression, l'anxiété, l'allégresse/l'euphorie, l'apathie/l'indifférence, la désinhibition, l'irritabilité/l'handicap ou encore le comportement physique aberrant. Le score total va de 0 à 120, une évolution positive de score indique une dégradation.

MOLECULE	SCORE NPI vs. PLACEBO
Donépézil 5mg/j	-
Donépézil 10mg/j	-2,78
Galantamine 8mg/j	Pas estimable
Galantamine 16-32mg/j	-1,62
Rivastigmine 1-4mg/j	-
Rivastigmine 6-12 mg/j	-0,06
Mémantine 20mg/j	-0,25

- Activité de la vie quotidienne:

Les résultats ont été pris dans des études durant six mois, les échelles utilisées sont l'échelle ADCS-ADL et DAD.

ADCS-ADL: Alzheimer's Disease Cooperative Study-Activities of Daily Living (ADCS-ADL; Galasko 1997). Cette échelle ADL a été spécifiquement créée pour la maladie d'Alzheimer les résultats vont de 0 à 78, un score négatif indique une détérioration.

DAD: Disability Assessment for Dementia scale (DAD; Gelinas 1999). Cette échelle comporte 46

items et permet d'estimer l'activité quotidienne basique ou instrumentale, les activités de loisir, la planification et l'organisation. Les scores s'échelonnent de 0 à 100.

MOLECULE	SCORE ADCS-ADL vs. PLACEBO	SCORE DAD vs. PLACEBO
Donépézil 5mg/j	-	-
Donépézil 10mg/j	1,6	8
Galantamine 8mg/j	0,6	-
Galantamine 16-32mg/j	2,7	3,58
Rivastigmine 1-4mg/j	-	-
Rivastigmine 6-12 mg/j	1,8	-
Mémantine 20mg/j	0,2	-

Globalement, aucune de ces molécules ne se différencie largement. Les résultats obtenus sont assez peu significatifs. Peu d'études comparatives ont été réalisées entre les différents anticholinestérasiques et ne permettent donc pas de conclure à une supériorité de l'une ou l'autre de ces molécules. Aucune étude comparative n'a été conduite comparant la mémantine à l'un des anticholinestérasique.

Pour les stades modérés à sévères de la maladie d'Alzheimer:(McShane et al., 2009)

La mémantine est le seul traitement actuel à avoir l'AMM pour ces stades de la maladie. Le tableau ci-dessous reprend les différents scores obtenus pour la mémantine après 6 mois de traitement:

ECHELLE	MEMANTINE 20mg/j vs. PLACEBO
Évaluation globale: CIBIC+	0,28
Vie quotidienne: ADCS-ADL	1,27
Comportement: NPI	2,76
Fonction cognitive: SIB	2,97

Pour évaluer les troubles cognitifs lors des stades sévères, une autre échelle à été utilisée, l'échelle SIB: Severe Impairment Battery (SIB) (Schmitt 1997) qui évalue les performances cognitives dans les stades avancés de la maladie d'Alzheimer. Elle comprend 51 items qui jugent les capacités de contact social, de mémorisation, de langage, habileté visio-spatiale, de concentration, de praxis et de construction. Les scores vont de 0 à 100 (0 étant le plus grand déclin)

Ces résultats montrent que la mémantine a un effet statistiquement significatif sur les quatre critères évalués pour les patients des stades modérés à sévères.

3- Bithérapie

Une étude a été réalisée pendant six mois afin de comparer l'efficacité et la tolérance de la mémantine à celles d'un placebo chez 385 patients ayant une forme légère à modérée de la maladie d'Alzheimer et étant traités par un inhibiteur d'acétylcholinestérases.

Après 24 semaines, aucune différence n'a été mise en évidence entre les groupes suivant une bithérapie et ceux n'étant traités que par un inhibiteur d'acétylcholinestérase que ce soit sur les troubles cognitifs, l'évaluation globale, la vie quotidienne ou encore le comportement.

Il n'est donc pas établi qu'une bithérapie associant la mémantine à un IAChe aux stades légers à modérés soit efficace. Cependant ces résultats ne prennent en compte qu'une seule étude.

Une autre étude a été réalisée pour des patients aux stades modérés à sévères mais comme pour l'étude précédente, aucune différence n'a été remarquée entre une association mémantine/IAChe et mémantine seule.

Aucune recommandation n'a donc été faite. (AFSSAPS, 2002)(Commission de transparence de l'HAS, 2007)

4- Thérapeutique actuelle et EROs

Une étude a été réalisée sur la galantamine en 2009 Elle a permis de dire que la galantamine pouvait agir comme anti-oxydant dans les neurones exposés au peptide A β et donc offrait une neuroprotection. Il apparaît donc que la galantamine pourrait retarder la formation d'agrégats de peptide amyloïde. Dans cette étude, la galantamine prévenait la formation d'EROs et donc les dommages oxydatifs neuronaux tels que la peroxydation lipidique et le déclin des défenses anti-oxydantes.(Melo et al., 2009)

D) Recherche actuelle

La maladie d'Alzheimer touchant toujours plus de personnes, les laboratoires recherchent activement des molécules pouvant bloquer l'évolution de la pathologie à tous les niveaux de son avancée.

Voici, sous forme de tableau un récapitulatif des molécules sous investigation qui sont arrivées en Phase II ou III. (Fan & Chiu, 2010) (Alzheimer research forum, 2011) (Clinical trials, 2011).

Étape	Molécule	Mécanisme d'action	Phase d'essai	
Peptide Aβ	LY 450139 ou semagacestat	Inhibe la γ -sécrétase	III-arrêt déclin vs. Placebo et risque de cancer de la peau	
	BMS 708163		II	
	Bapineuzumab	Immunsation passive: Ac monoclonal se liant aux peptide A β	III	
	Solanezumab		II	
	Ponezumab		II-échec cas de encéphalites mningées	
		AN 1792	Immunsation active: Peptide A β ou fragment injecté à l'homme	II
		CAD 106		II
		Gammagard	Immunoglobuline intraveineuse	III
		Tramiprosate	Antiaggrégants A β	III-échec
		PBT2	Chélateurs de métaux	II
	ELND005	II/III		
Peptide Tau	PF 0449700	Antagoniste RAGE	II	
	Lithium	Inhibiteur de GSK-3	II	
	Bleu de méthylène	Dissolution des neurofilaments	II	
	Vitamine E	Antioxydants	III	
Diminuant la cytotoxicité	Curcumin		II	
	Etanercept (antagoniste TNF- α)	Anti-inflammatoires	II	
	DHA ou acide gras ω 3	Régulation du métabolisme lipidique	III	
	Simvastatine	HMG-coA réductase	II/III	
Augmentant le processus cognitif	Lovastatine et pravastatine		II	
	Varnicline ou chamipix®	Stimule la voie cholinergique	II	

Étape	Molécule	Mécanisme d'action	Phase d'essai
Divers	RO 5313534	Agoniste sélectif du récepteur nicotinique $\alpha 7$	II
	EVP-6124		II
	AZD-1446	Activateur du récepteur nicotinique $\alpha 4\beta 2$	II
	SB-74257	Régule la sérotonine: antagoniste du récepteur 5HT-6	II
	SAM 531, Lu AE58054	Régule la sérotonine	II
	PRX-03140	Agoniste partiel du récepteur 5HT4	II
	CERE-110	Nerve growth factor	II
	Cerebrolysine ou T-817MA	neurotrophique	II
	ST-101, PF 04447943	Restaure le potentiel à long terme	II
	Insuline aspart en intranasal	Augmente l'utilité de l'insuline	II
	Rosiglitazone	Agoniste PPAR	III
	Raloxifène	Régulation hormonale	II
	Nicotimide	Vitamine B	II
	Dimebon	antihistaminique	III

E) Les anti-oxydants

Usage thérapeutique des antioxydants

L'hypothèse d'une possible thérapeutique utilisant des scavengers de radicaux libres et des antioxydants a été testée avec des résultats satisfaisants que ce soit expérimentalement ou cliniquement. Beaucoup d'études expérimentales montrent que les scavengers de radicaux libres inhibent l'effet toxique des β -amyloïdes ou de l'anion superoxyde sur des cultures cellulaires et cultures de cellules de l'hippocampe. Plusieurs études précliniques ont été achevées et publiées. Crapper McLachlan et al. montrèrent que l'administration sur une période de 2 ans d'agents chélateurs de fer, la desferrioxamine, ralentissait le développement clinique de la pathologie.

Il était espéré que les effets chélateurs pourraient inhiber la peroxydation lipidique dépendante du fer qui joue un rôle dans l'étiologie de la MA. Trois scavengers de radicaux libres ont également été testés. La vitamine E et la sélégiline n'ont pas montré d'amélioration dans les tests cognitifs mais des délais d'apparition de ces différents éléments: mort, institutionnalisation, perte des capacités de réaliser les activités quotidiennes et démence sévère.

Ces résultats sont la preuve que les antioxydants sont capables de ralentir le processus pathogénique. L'extrait de ginkgo biloba a été étudié dans des études cliniques en Allemagne et aux États-Unis. Ces études concluent qu'il a un effet positif sur les capacités cognitives. Cependant

l'extrait de ginkgo biloba a d'autres effets que son action de scavenger, parmi eux un effet protecteur sur les neurorécepteurs des sujets âgés, un effet inhibiteur de la monoamine oxydase.

Les AINS ont également montré leur intérêt, ils agissent principalement en agissant sur les cox et inhibent la synthèse de prostaglandines ou diminuent l'excitotoxicité liée au glutamate en réduisant la production de EROs. L'effet bénéfique des œstrogènes dans la MA peut être partiellement attribué à une activité anti-oxydante. Behl et al. ont montré que le 17 β -œstradiol protégeait les neuroblastomes contre le stress oxydatif, et Goodman et al. que le 17 β -œstradiol et l'œstriol supprimaient l'oxydation membranaire dans les neurones de l'hippocampe induits par les β -amyloïdes.

Nutrition et maladie d'Alzheimer

Même si les scavengers de radicaux libres sont connus pour avoir un effet bénéfique quand ils sont pris à petites doses, en traitement préventif, l'influence des scavengers dans la nourriture reste difficile à prouver. Beaucoup de scavengers de radicaux libres sont présents dans les aliments, principalement dans les fruits et végétaux (caroténoïdes et flavonoïdes).

La consommation régulière de ces substances nutritives peut avoir des effets bénéfiques. Quelques résultats préliminaires ont montré que les régimes riches en antioxydants (extraits de fraise, épinards, extraits de myrtilles) préviennent les effets délétères du stress oxydatif sur le signal de transduction et du Nerve Growth Factor dans les rats. Des améliorations cognitives ont été associées avec de faibles prises de vitamine C. Les fruits et végétaux pourraient également avoir des effets protecteurs contre les arrêts cardiaques et les démences vasculaires. (Christen, 2000)

Entre 1994 et 2002, l'étude randomisée SUVIMAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants) réalisée en double aveugle a suivi 13017 adultes français, homme et femme, qui quotidiennement ont pris une gélule contenant une association d'acide ascorbique, de sélénium, de vitamine E et de β -carotène ou un placebo. Les résultats de cette étude ne montrent pas de réelle différence dans l'incidence des maladies cardiovasculaires ischémiques. Cependant, chez les hommes, il a été observé un effet de la supplémentation en antioxydants sur l'incidence des cancers et de la mortalité. (Herberg et al., 2004)

Il serait utile de réaliser une étude comparable dans le domaine de la MA, suivi par un diagnostic précis utilisant les biomarqueurs et une caractérisation de la capacité totale antioxydante par le test PATROL par exemple, qui ne nécessite qu'un échantillon sanguin restreint.

Prévention par les antioxydants

L'usage des antioxydants naturels:

- Vitamine E: ralentit la progression de la MA .

Vitamine E et vitamine C sont associées à une prévalence et une incidence diminuées de la MA..

Mais le manque de spécificité envers les mitochondries neuronales, où la production de EROs est la plus significative, demande de l'amélioration

-Coenzyme Q10, qui fait partie de la chaîne de transport des électrons, a un effet protecteur vis à vis du stress oxydatif. Il permet une atténuation du dysfonctionnement mitochondrial et du dommage oxydatif. Mais son action dépend entièrement du bon fonctionnement de la chaîne de transport des électrons et malgré l'atténuation apparente du dommage oxydatif envers les protéines, les taux de protéines dans les tissus du cerveau et mitochondriaux n'ont pas été augmentés. Cette impossibilité de pénétration dans le système nerveux, indique que le CoQ10 est incapable de passer la barrière hémato-encéphalique afin de protéger directement les neurones.

Les études se portent donc sur des dérivés plus solubles de CoQ10 afin de passer la BHE et qui ne requièrent pas le fonctionnement de la chaîne de transport des électrons. Un de ces dérivés est le MitoQ, qui présente deux avantages:

- 1) Il s'accumule dans les mitochondries neuronales.
- 2) Il agit sans le fonctionnement de la chaîne de transport d'électrons.

Par exemple, après déplétion systémique de glutathion, le MitoQ bloque la génération de EROs, protège les protéines mitochondriales, préserve l'intégrité des structures mitochondriales et bloque la mort cellulaire. Cette molécule est actuellement en Phase II.

Deux autres antioxydants mitochondriaux sont à l'étude: l'acétyl-L-carnitine et l'acide lipoïque. Dans de récents rapports, ces agents réduisent le stress oxydatif et les anomalies mitochondriales dans les cellules parenchymateuses de rats et restaurent leur fonctions cognitives.

Il a également été noté une diminution des dommages sur les mitochondries de l'hippocampe: les cellules neuronales montrent moins de mitochondries géantes par rapport aux témoins, les mitochondries traitées ne possèdent pas d'anomalies structurales et apparaissent sans dommages (Bonda et al., 2010)

Des études de cohortes ont démontré que des prises alimentaires réduites de DHA sont associées à des déclin cognitifs accélérés ainsi qu'au développement de certaines démences comme la MA. La DHA est le principal acide gras ω -3 dans le cerveau. Les taux de DHA dans l'hippocampe sont directement liés à la prise alimentaire et des concentrations élevées augmentent l'apprentissage dépendant de l'hippocampe. (Jicha & Markesbery, 2010)

Le système nerveux est riche en acide gras insaturés et fer. Le taux élevé de lipides dans les tissus nerveux, associé à la forte activité métabolique aérobie, le rend particulièrement sensible aux dommages oxydatifs. Le taux élevé de fer est essentiel, surtout lors du développement du cerveau, mais sa présence indique également que les dommages des cellules du cerveau entraînent une libération de fer sous forme ionique entraînant par la suite du stress oxydatif. De plus, les régions riches en catécholamines sont très vulnérables à la génération de radicaux libres. Les catécholamines peuvent spontanément s'auto-oxyder en radicaux libres ou peuvent être métabolisées en radicaux par les enzymes endogènes telles les MAO. De nombreuses études ont montré que les antioxydants, endogènes et alimentaires, peuvent protéger le tissu nerveux des dommages dus au stress oxydatif. L'acide urique, un anti-oxydant endogène, prévient les dommages neuronaux chez des rats, *in vivo* et *in vitro*, dus au stress métabolique suite à des ischémies, stress oxydatif ainsi qu'aux expositions aux acides aminés excitateurs.

La vitamine E prévient de l'apoptose les neurones de rats sujets à l'hypoxie/reperfusion et protège les neurones des espèces réactives de l'azote. (Singh et al., 2004)

L'implication des radicaux libres dans la pathogénie de la MA est largement acceptée à ce jour pour les raisons suivantes:

- Les neurones sont particulièrement sensibles aux radicaux libres.
- Le vieillissement est le risque principal de la MA. Il est lui-même lié à l'accumulation des attaques de radicaux libres.
- L'examen des cerveaux de patients souffrant de la MA montrent des signes d'attaque de radicaux libres, c'est à dire des dommages sur l'ADN mitochondrial et nucléaire, oxydation protéique, peroxydation lipidique et AGEs.
- Des traces de substances ont été trouvées dans le cerveau des patients souffrant de la MA indiquant la présence de métaux (fer, cuivre, zinc, aluminium) capables de catalyser les réactions

produisant des radicaux libres.

- Les scavengers de radicaux libres réduisent la toxicité de la β -amyloïde
- β -amyloïde est sensible aux actions des radicaux libres, contribuant à l'agrégation et à la production de peptides sous leurs formes libres radicalaires.
- L'ApoE est sujette aux attaques des radicaux libres et une corrélation existe entre la peroxydation de l'ApoE et la MA, il peut également agir comme un scavenger de radicaux libres dépendant de l'isoforme. Le statut oxydatif du cerveau est lié au génotype de l'ApoE.
- La MA est liée aux anomalies mitochondriales, particulièrement pour la cytochrome-c oxydase, et ces anomalies peuvent expliquer la production anormale de radicaux libres.
- L'utilisation de plusieurs scavengers a eu des résultats thérapeutiques positifs, de même pour l'utilisation d'AINS, œstrogènes et chélateurs de fer.

Ces preuves montrent clairement l'implication des radicaux libres et EROs dans la MA.(Christen, 2000)

Conclusion

D'après la littérature actuelle, on peut affirmer que le stress oxydatif participe au déclenchement du processus pathogénique de la maladie d'Alzheimer mais en est également une conséquence. Il s'instaure donc un cercle vicieux entre la production d'espèces oxydantes et les formations caractéristiques de la pathologie, les plaques amyloïdes ainsi que les dégénérescences neurofibrillaires.

Les molécules anti-oxydantes actuelles sont encore à l'étude pour leur efficacité et leur utilité dans le panel thérapeutique dans la MA.

Le test PATROL permet d'ailleurs de distinguer les molécules permettant une réelle augmentation de la capacité anti-oxydante totale d'un individu (ex: le curcumin), de ceux qui n'ont qu'un effet minime.

Nous vendons aujourd'hui, au sein de nos officines, quantité de compléments alimentaires ayant plus ou moins l'appellation d'antioxydants. La publicité nous assomme également de ces produits anti-oxydants. Il serait nécessaire de faire un tri afin de pouvoir conseiller au mieux les compléments alimentaires selon les individus et leur mode de vie. Il ne faut pas oublier qu'un surplus d'anti-oxydants peut induire une augmentation de l'oxydation.

La MA reste encore à ce jour une pathologie complexe et multifactorielle mais jouer sur le facteur stress oxydatif permettrait de retarder l'apparition des symptômes et donc améliorer la qualité de vie de nos patients. Un meilleur équilibre entre oxydants et anti-oxydants est donc nécessaire, mais celui-ci est individu-indépendant d'où l'intérêt d'une analyse individuelle de la capacité anti-oxydante et une adaptation de leur supplémentation à l'avenir.

Bibliographie

- AFSSAPS (2010): avis de la commission de transparence sur la galantamine.
- AFSSAPS (2002): avis de la commission de transparence sur l'ebixa.
- AFSSAPS (2001): avis de la commission de transparence sur l'exelon.
- Aksenov M.Y., Tucker H.M., Nair P., Aksenova M.V., Butterfield D.A., Estus S., Markesbery W.R. (1998) The expression of key oxidative stress-handling genes in different brain regions in Alzheimer's disease. *J Mol Neurosci*, 11: 151-164
- Albert M.S., Dekosky S.T., Dickson D., Dubois D., Feldman H.H., Fox N.C., Gamst A., Holtzman D.M., Jagust W.J., Petersen R.C., Snyder P.J., Carillo M.C., Thies B., Phelps C.H. (2011) The diagnosis of mild cognitive impairment due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7: 270-279
- Alzheimer A. (1907) Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und Psychisch-Gerichtliche Medizin*, 64: 146-148
- Alzheimer research forum (15 juin 2011) Drugs in clinical trial; <http://www.alzforum.org/drg/drc/default.asp>
- Alzheimer's Association (2010) 2010 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimer's & Dementia*, 6: 158-194
- Ansari M.A., Scheff S.W. (2010) Oxidative Stress in the Progression of Alzheimer Disease in the Frontal Cortex. *J Neuropathol Exp Neurol*, 69: 155-167
- Apak R., Güçlü K., Demirata B., Özyürek M., Çelik S.E., Bektaşoğlu B., Berker K.I., Özyurt D. (2007) Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay. *Molecules*, 12: 1496-1547
- Auchus A. (10 Juin 2011) Function and dysfunction of the cerebral lobes; <http://www.merckmanuals.com/professional/sec16/ch210/ch210a.html>
- Barouki R. (2006) Stress oxydant et vieillissement. *medecine/sciences*, 22: 266-272
- Beaudeau J.L., Vasson M.P. (2005) Sources cellulaires des espèces réactives de l'oxygène in Radicaux libres et stress oxydant, 3: 45-86
- Behl C., Davis J., Cole G.M., Schubert D. (1992) Vitamin E protects nerve cells from amyloid b protein toxicity. *Biochem Biophys Res Commun*, 86: 944-952
- Behl C., Davis J.B., Lesley R., Schubert D. (1994) Hydrogen peroxide mediates amyloid b protein toxicity. *Cell*, 77: 817-827
- Bekris L.M., Yu C.E., Bird T.D., Tsuang D.W. (2010) Genetics of Alzheimer Disease. *J Geriatr Psychiatry Neurol.*, 23(4): 213-227
- Belbin O., Carrasquillo M.M., Crump M., Culley O.J., Hunter, T.A., Ma L., Bisceglia G., Zou F., Allen M., Dickson D.W., Graff-Radford N.R., Petersen R., Morgan K., Younkin S.G. (2011) Investigation of 15 of the top candidate genes for late-onset Alzheimer's disease. *Hum Genet*, 129: 273-282
- Belkheiri N. (2010) Dérivés phénoliques à activités antiathérogènes
- Benzie I.F.F., Strain J.J. (1996) The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay.
- Berr C. (26 juin 2011) Epidémiologie; <http://www.fondation-alzheimer.org/content/%C3%A9pid%C3%A9miologie>
- Bettens K., Slegers K., Van Broeckhoven C. (2010) Current status on Alzheimer disease molecular genetics: from past, to present, to future. *Human Molecular Genetics*, 19.

- Bick K.L. (1994) The Early Story of Alzheimer Disease in *Alzheimer Disease*, 1:1-8
- Bigot E., Bataille R., Patrice T. (2011) Increased singlet oxygen-induced secondary ROS production in the serum of cancer patients.
- Billé-Turc F., Pellissier J.F. (1992) Démences vasculaires in *Neurogériatrie*, 153-163
- Birks J., Harvey R.J. (2009) Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease (Review); *Cochrane Database of Systematic Reviews*
- Björkhem I., Leoni V., Meaney S. (2010) Genetic connections between neurological disorders and cholesterol metabolism. *J Lipid res*, 51(9): 2489-2503
- Blanc M.C., Moinard C., Cynober L. (2005) Monoxyde d'azote in *Radicaux libres et stress oxydant*, 2: 25-43
- Blanchecotte H. (1995) Le point sur la tacrine; www.cnhim.org/.../Dossier%201995,%204%20Tacrine.pdf
- Blount S., Griffiths H.R., Lunec J. (1989) Reactive oxygen species induce antigenic changes in DNA. *Federation of European Biochemical Societies*, 245: 100-104
- Bonda D.J., Wang X., Perry G., Nunomura A., Tabaton M., Zhu X., Smith M.A. (2010) Oxidative stress in Alzheimer disease: A possibility for prevention. *Neuropharmacology*, xxx: 1-5
- Bondi M.W., Salmon D.P., Butters N. (1994) Neuropsychological Features of memory disorders in alzheimer disease in *Alzheimer Disease*, 4: 41-63
- Boulanger E., Puisieux F., Gaxatte C., Wautier J.L. (2007) Vieillesse : rôle et contrôle de la glycation. *La Revue de médecine interne*, 28: 832-840
- Butterfield D.A., Bader Lange M.L., Sultana R. (2010) Involvements of the lipid peroxidation product, HNE, in the pathogenesis and progression of Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801: 924-929
- Cao G., Prior R.L. (1998) Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clinical Chemistry*, 44: 1309-1315
- Carney J.M., Smith C.D., Carney A.M., Butterfield D.A. (1994) Aging and oxygen-induced modifications in brain biochemistry and behavior. *Ann NY Acad Sci*, 738: 44-53
- Catalá A. (2006) An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 38: 1482-1495
- Catalá A. (2009) Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Chemistry and Physics of Lipids*, 157: 1-11
- Chatgililoglu C., O'Neill P. (2001) Free radicals associated with DNA damage. *Experimental Gerontology*, 36: 1459-1471
- Chen L., Richardson J.S., Caldwell J.E., Ang L.C. (1994) Regional brain activity of free radical defense enzymes in autopsy samples from patients with Alzheimer's disease and from non demented controls. *Int J Neurosci*, 75: 83-90
- Choi B.H. (1993) Oxygen, antioxidants and brain dysfunction. *Yonsei Medical Journal*, 34:
- Christen Y. (2000) Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am J Clin Nutr*, 71s: 621s-629s
- Cipriani G., Dolciotti C., Picchi L., Bonuccelli U. (2011) Alzheimer and his disease: a brief history. *Neurol Sci*, 32: 275-279
- commission de transparence de l'HAS (2007) Médicaments inhibiteurs de l'acétylcholinestérase : analyse des données cliniques dans le traitement de la maladie d'Alzheimer.

- Cotman C.W., Pike C.J. (1994) β -Amyloid and its contributions to neurodegeneration in Alzheimer disease in *Alzheimer Disease*, 17:305-315
- Cutler R.G., Kelly J., Storie K., Pedersen W.A., Tammara A., Hatanpaa K., Troncoso J.C., Mattson M.P. (2004) Involvement of oxidative stress-induced abnormalities in ceramide and cholesterol metabolism in brain aging and Alzheimer's disease. *PNAS*, 101: 2070-2075
- Davies M.J. (2003) Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 305: 761-770
- Deibel M.A., Ehmann W.D., Markesbery W.R. (1997) Copper, iron, and zinc imbalances in severely degenerated brain regions in Alzheimer's disease: possible relation to oxidative stress. *J Neurol Sci*, 143: 137-142
- Dickstein D.L., Walsh J., Brautigam H., Stockton S.D.Jr, Gandy S., Hof P.R. (2010) Role of Vascular Risk Factors and Vascular Dysfunction in Alzheimer's Disease. *Mt Sinai J Med.*, 77(1): 82-102
- Dikalov S.I., Vitek M.P., Mason R.P. (2004) Cupric-amyloid betapeptide complex stimulates oxidation of ascorbate and generation of hydroxyl radical. *Free Radic. Biol. Med.*, 36: 340-347
- Dotan Y., Lichtenberg D., Pinchuk I. (2004) Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Progress in Lipid Research*, 43: 200-227
- Fan L.Y, Chiu M.J. (2010) Pharmacological Treatment for Alzheimer's Disease :Current Approaches and Future Strategies. *Acta Neurol Taiwan*, 19: 228-245
- Faure P., Bonnefont-Rouselot D. (2005) Stress oxydant, diabète sucré et produits de glycation avancée in Radicaux libres et stress oxydant, 12: 353-376
- Folstein M.F., Bylsma F.W. (1994) Noncognitive symptoms of alzheimer disease in *Alzeimer Disease*, 3: 27-30
- Francis P.T., Cross A.J., Bowen D.M. (1994) Neurotransmitters and neuropeptides in Alzheimer disease, 14: 247-261
- Furuta A., Price D.L., Pardo C.A., Troncoso J.C., Xu Z.S., Taniguchi N. et al. (1995) Localization of superoxide dismutases in Alzheimer's disease and Down's syndrome neocortex and hippocampus.. *Am J Pathol*, 146: 357-367
- Garait B. (2006) Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin®
- Gardès-Albert M., Jore D. (2005) Aspects physicochimiques des radicaux libres centrés sur l'oxygène in Radicaux libres et stress oxydant, 1: 1-23
- Garnier delamare, dictionnaire illustré des termes de médecine (2004)
- Gella A., Durany N. (2009) Oxidative stress in Alzheimer disease. *Cell Adhesion & Migration*, 3(1): 88-93
- Geula C., Mesulam M.M. (1994) Cholinergic system and related Neuropathological Predilection Patterns in Alzheimer Disease in *Alzheimer disease*, 15: 263-291
- Grand J.H.G., Caspar S., MacDonald S.W.S. (2011) Clinical features and multidisciplinary approaches to dementia care. *Journal of Multidisciplinary Healthcare*, 4: 125-147
- Grune T., Reinheckel T., Davies K.J.A. (1997) Degradation of oxidized proteins in mammalian cells. *The FASEB journal*, 11: 526-534
- Gsell W., Conrad R., Hickethier M., Sofic E., Frolich L., Wichart I. et al. (1995) Decreased catalase activity but unchanged superoxide dismutase activity in brains of patients with dementia of Alzheimer type. *J Neurochem*, 64: 1216-1223
- Gutteridge J.M.C. (1995) Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. *Clinical Chemistry*, 12: 1819-1828

- Halliwell B., Chirico S. (1993) Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr*, 57(suppl): 715s-725s
- Hansen R.A., Gartlehner G., Kaufer D.J., Lohr K.N., Carey T. (2006) Drug Class Review on Alzheimer's Drugs; University of North Carolina, Oregon Health & Sciences University
- HAS (2007) avis de la commission de transparence sur l'Aricept.
- Hercberg S., Galan P., Preziosi P., Bertrais S., Mennen L., Malvy D., Roussel A.M., Favier A., Briançon S. (2004) The SU.VI.MAX Study A Randomized, Placebo-Controlled Trial of the Health Effects of Antioxidant Vitamins and Minerals. *Arch Intern Med.*, 164: 2335-2342
- Hunt J.V., Dean R.T. Wolff S.P. (1988) Hydroxyl radical production and autoxidative glycosylation Glucose autoxidation as the cause of protein damage in the experimental glycation model of diabetes mellitus and ageing. *Biochem. J.*, 256: 205-212
- Jack C.R.Jr., Albert M.S., Knopman D.S., McKhann G.M., Sperling R.A., Carillo M.C., Thies B., Phelps C.H. (2011) Introduction to the recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7: 257-262
- Jha R., Rizvi S.I. (2009) Age-dependent decline in erythrocyte acetylcholinesterase activity: correlation with oxidative stress. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.*, 153(3): 195-198
- Jicha G.A., Markesbery W.R. (2010) Omega-3 fatty acids: potential role in the management of early Alzheimer's disease. *Clinical Interventions in Aging*, 5: 45-61
- Jiménez-Jiménez F.J., Alonso-Navarro H., Ayuso-Peralta L., Jabbour-Wadiah T. (2006) Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer. *Revista De Neurologia*, 42(7): 419-427
- Karasu C. (2010) Glycoxidative Stress and Cardiovascular Complications in Experimentally-Induced Diabetes: Effects of Antioxidant Treatment. *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, 4: 240-256
- Lanari A., Amenta F., Silvestrelli G., Tomassoni D., Parnetti L. (2006) Neurotransmitter deficits in behavioural and psychological symptoms of Alzheimer's disease. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127: 158-165
- Law A., Gauthier S., Quirion R. (2001) Say NO to Alzheimer's disease: the putative links between nitric oxide and dementia of the Alzheimer's type. *Brain Research Reviews*, 35: 73-96
- Levine R.L. (2002) Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radical Biology & Medicine*, 32: 790-796
- Liu L., Komatsu H., Murray I.V., Axelsen P.H. (2008) Promotion of amyloid beta protein misfolding and fibrillogenesis by a lipid oxidation product. *J. Mol. Biol.*, 377: 1236-1250
- Lloyd R.V., Hanna P.M., Mason R.P. (1997) The origin of the hydroxyl radical oxygen in the fenton reaction. *Free Radical Biology & Medicine*, 22: 885-888
- LoPresti P., Konat G.W. (2001) Hydrogen peroxide induces transient dephosphorylation of tau protein in cultured rat oligodendrocytes. *Neuroscience Letters*, 311: 142-144
- Loy C., Schneider L. (2009) Galantamine for Alzheimer's disease and mild cognitive impairment; Cochrane Database of Systematic Reviews.
- Lyras L., Cairns N.J., Jenner A., Jenner P., Halliwell B. (1997) An assessment of oxidative damage to proteins, lipids, and DNA in brain from patients with Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 68: 2061-2069
- Marcus D.L., Thomas C., Rodríguez C., Simberkoff K., Tsai J.S., Strafaci J.A. et al. (1998) Increased peroxidation and reduced antioxidant enzyme activity in Alzheimer's disease. *Exp Neurol*, 150: 40-44
- Markesbery W.R. (1997) Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med*, 23: 134-147

- McKhann G.M., Knopman D.S., Chertkow H., Hyman B.T., Jack C.R.Jr., Kawas, C.H., Klunk W.E., Koroshetz W.J., Manly J.J., Mayeux R., Mohs R.C., Morris J.C., Rossor M.N., Scheltens P., Carillo M.C., Thies B., Weintraub ., Phelps C.H. (2011) The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7: 263-269
- McNaull B.B.A., Todd S., McGuinness B., Passmore A.P. (2010) Inflammation and Anti - Inflammatory Strategies for Alzheimer 's Disease –A Mini-Review.
- McShane R., Areosa Sastre A., Minakaran N. (2009) Memantine for dementia; *Cochrane Database of Systematic Reviews*
- Melo J.B., Sousa C., Garçêõ P., Oliveira C.R., Agostinho P. (2009) Galantamine protects against oxidative stress induced by amyloid-beta peptide in cortical neurons. *European Journal of Neuroscience*, 29: 455-464
- Metcalfe M.J., Figueiredo-Pereira M.E. (2010) Relationship Between Tau Pathology and Neuroinflammation in Alzheimer's Disease. *Mt Sinai J Med.*, 77(1): 50-58
- Michel B., Gambarelli D., Gastaut J.L. (1992) Démences dégénératives in *Neurogériatrie*, 143-152
- Mirecki, 2004: Mirecki A., Fitzmaurice P., Ang L., Kalasinski K.S., Peretti F.J., Aiken S.S., Wickham D.J., Sherwin A., Nobrega J.N., Forman H.J., Kish S.J. (2004) Brain antioxidant systems in human metamphetamine users. *Journal of Neurochemistry*, 89: 1396-108
- Møller P., Wallin H. (1998) Adduct formation, mutagenesis and nucleotide excision repair of DNA damage produced by reactive oxygen species and lipid peroxidation product. *Mutation Research*, 410: 271-290
- Montine T.J., Markesbery W.R., Morrow J.D., Roberts L.J. (1998) Cerebrospinalfluid F2-isoprostane levels are increased in Alzheimer's disease. *Ann Neurol*, 44: 410-413
- Morena M., Martin-Mateo M., Critol J.P., Canaud B. (2002) Stress oxydant, hémoincompatibilité et complications de la dialyse au long cours. *Néphrologie*, 23: 201-208
- Mutisaya E.M., Bowling A.C., Beal M.F. (1994) Cortical cytochrome oxidase activity is reduced in Alzheimer's disease. *J Neurochem*, 63: 2179-2184
- Niki E. (2009) Lipid peroxidation: Physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biology & Medicine*, 47: 469-84
- Oda A., Tamaoka A., Araki W. (2010) Oxidative Stress Up-Regulates Presenilin 1 in Lipid Rafts in Neuronal Cells. *Journal of Neuroscience Research*, 88: 1137-1145
- Olivier D., Douillard S., Lhommeau I., Bigot E., Patrice T. (2009) Secondary oxidants in human serum exposed to singlet oxygen: the influence of hemolysis. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 8: 1476-1486
- Olivier D., Douillard S., Lhommeau I., Patrice T. (2009)b Photodynamic Treatment of Culture Medium Containing Serum Induces Long-Lasting Toxicity In Vitro. *Radiation Research*, 172: 451-462
- Perier C. (2011) Determination of antioxidant capacity in human serum using the cary Eclipse for the ORAC assay
- Pincemail J., Meurisse M., Limet R., Defraigne J.O. (1999) Méthodes d'évaluation du stress oxydatif chez l'homme: importance en matière de prévention. *Médisphère*, 95:
- Ramassamy C., Krzywkowski P., Bastianetto S. et al. (1998) Apolipoprotein E, oxidative stress and EGb 761 in Alzheimer's disease brain. In *Ginkgo biloba extract (EGb 761) study: lesson from cell biology.*, 69-83
- Ramon y Cajal S. (1899) Comparative study of the sensory areas of the human cortex in Clark University, 1889-1899, Decennial Celebration
- Reddy V.P., Zhu X., Perry G., Smith M.A. (2009) Oxidative Stress in Diabetes and Alzheimer's Disease. *J Alzheimers*

Dis., 16(4): 763-774

Reitz C., Tokuhiro S., Clark L.N., Conrad C., Vonsattel J.P., Hazrati L., Palotas A., Lantigua R., Medrano M., Jiménez-Velasquez I.Z., Vardarajan B., Simkin I., Haines J.L., Pericak-Vance M.A., Farrer L.A., Lee J.H., Rogaeva E., St Georges-Hyslop P., Mayeux R. (2011) SORCS1 Alters Amyloid Precursor Protein Processing and Variants May Increase Alzheimer's Disease Risk. *Ann Neurol.*, 69(1): 47-64

Reitz C., Mayeux R., Rogaeva E., Tojuhiro S., Pericak-Vance M.A., St Georges-Hyslop P. (2011) Meta-analysis of the Association Between Variants in SORL1 and Alzheimer Disease. *Arch Neurol.*, 68(1): 99-106

Richter C., Schweizer M. (1997) Oxidative stress in mitochondria. in *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*, 7:169-200

Ritzenthaler T. (2011) Dynamique du stress oxydatif et de l'excretion de mélatonine à la phase aigüe des accidents ischémiques cérébraux.

Roberts L.J., Milne G.L. (2009) Isoprostanes. *Journal of Lipid Research* , 50 supplement: S219-S223

Semchyshyn H.M., Lozinska L.M. , Miedzobrodzki J., Lushchak V.I. (2011) Fructose and glucose differentially affect aging and carbonyl/oxidative stress parameters in *Saccharomyces cerevisiae* cells. *Carbohydrate Research*, 346: 933-938

Servais S. (2004) Altérations mitochondriales et stress oxydant pulmonaire en réponse à l'ozone: effets de l'âge et d'une supplémentation en oméga-3.

Shacter E. (2000) Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug metabolism reviews*, 32:307-326

Sherwood L. (2000) Système nerveux central in *Physiologie humaine*, 4: 89-105

Singh R.P., Sharad S., Kapur S. (2004) Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Relevance of Dietary Antioxidants. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 3: 218-225

Smith M.A., Richey Harris P.L., Sayre L.M., Beckman J.S., Perry G. (1997) Widespread peroxynitrite-mediated damage in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 17: 2653-2657

Smith M.A., Sayre L.M., Anderson V.E., Harris P.L., Beal M.F., Kowall N. et al. (1998) Cytochemical demonstration of oxidative damage in Alzheimer's disease by immunochemical enhancement of the carbonyl reaction with 2,2-dynitrophenylhydrazine. *J Histochem Cytochem*, 46: 731-735

Sperling R.A., Aisen P.S., Beckett L.A., Bennett D.A., Craft S., Fagan A.M., Iwatsubo T., Jack C.R., Montine T.J., Park K.Y., Reiman E.M., Rowe C.C., Siemers E., Stern Y., Yaffe K., Carillo M.C., Thies B., Morrisson-Bogorad M., Wagster M.V., Phelps C.H. (2011) Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia*, 7: 280-292

Stadtman E.R. (2001) Protein oxidation in aging and age related diseases. *Ann.N.Y.Acad.Sci*, 928

Tan S.Z., Seshadri S. (2010) Inflammation in the Alzheimer's disease cascade: culprit or innocent bystander?. *Alzheimer's Research & Therapy*, 2: 6

Tatemichi T.K., Sacktor N., Mayeux R. (1994) Dementia associated with cerebrovascular disease, other degenerative diseases, and metabolic disorders in Alzheimer's Disease, 9: 123-166

Ter-Minassian A. (2006) Métabolisme énergétique et agression cérébrale. *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, 25: 714-721

Valko M., Rhodes C.J., Moncol J., Izakovic M. , Mazura M. (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40

- Verhey F.R.J. (2009) Alois Alzheimer (1864–1915). *J Neurol*, 256: 502-503
- Vital Durand D., Le Jeune C. (2009) Dorosz-Guide pratique des médicaments
- Wallace S.S. (2002) Biological consequences of free radical-damaged DNA-bases. *Free Radical Biology & Medicine*, 33: 1-14
- Wang C.C., Chu C.Y., Chu K.O., Choy K.W., Khaw K.S., Rogers M.S., Pang C.P. (2004) Trolox-Equivalent Antioxidant Capacity Assay Versus Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay in Plasma. *Clinical Chemistry*, 50: 952-954
- Ward J.F., Evans J.W., Limoli C.L., Calabro-Jones P.M. (1987) Radiation and hydrogen peroxide induced free radical damage to DNA. *Br. J. Cancer*, 55s: 105-112
- Waris G., Ahsan H. (2006) Reactive oxygen species: role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of carcinogenesis*, 5: 14
- Wu Z., Zhao Y., Zhao B. (2010) Superoxide anion, Uncoupling proteins and Alzheimer's disease. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 46: 187-194
- Young A.B., Penney J.B.Jr. (1994) Neurotransmitter receptors in alzheimer disease in Alzheimer disease, 16: 293-303
- Zawia N.H., Lahiri D.K., Cardozo–Pelaez F. (2009) Epigenetics, oxidative stress and Alzheimer’s Disease. *Free Radic Biol Med.*, 46(9): 1241-1249
- Clinical trials, 2011: (15 juin 2011) clinical trials; <http://clinicaltrials.gov/ct2/>
- Theriaque f (11 juin 2011) ebixa 10mg cpr; http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm?menu_info_medicaments=rechercheparMedicament
- Thériaque e (11 juin 2011) Exelon 4,6mg/24h dispositif transdermique; http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm?menu_info_medicaments=rechercheparMedicament
- Thériaque d (11 juin 2011)Exelon 3mg gelule; http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm?menu_info_medicaments=rechercheparMedicament
- Theriaque c (11 juin 2011)Reminyl cpr 4mg; http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm?menu_info_medicaments=rechercheparMedicament
- Theriaque b (11 juin 2011) Aricept 10mg cpr; http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm?menu_info_medicaments=rechercheparMedicament
- Theriaque (11 juin 2011) cognex 20mg NSFP; <http://www.theriaque.org/InfoMedicaments/home.cfm?>
- wikipédia 2011: (10 Juin 2011)lobe temporal; http://fr.wikipedia.org/wiki/Lobe_temporal#cite_ref-Nature20100424_0-0
- Alzheimer disease international, 2010: (Alzheimer disease international).World Alzheimer Report 2010.

Annexes

Table 1 Total population over 60, crude estimated prevalence of dementia (2010), estimated number of people with dementia (2010, 2030 and 2050) and proportionate increases (2010-2030 and 2010-2050) by GBD world region

GBD Region	Over 60 population (millions)	Crude estimated prevalence (%)	Number of people with dementia (millions)			Proportionate increases (%)	
	2010	2010	2010	2030	2050	2010-2030	2010-2050
ASIA	406.55	3.9	15.94	33.04	60.32	107	262
Australasia	4.82	6.4	0.31	0.63	0.79	71	157
Asia Pacific	46.63	6.1	2.83	5.36	7.03	89	148
Oceania	0.49	4.0	0.02	0.04	0.10	100	400
Asia, Central	7.16	4.6	0.33	0.66	1.19	70	261
Asia, East	171.61	3.2	5.49	11.93	22.54	117	311
Asia, South	124.61	3.6	4.48	9.31	18.12	108	304
Asia, Southeast	51.22	4.8	2.48	5.30	11.13	114	349
EUROPE	160.16	6.2	9.95	13.95	16.65	40	87
Europe, Western	97.27	7.2	6.98	10.03	13.44	44	93
Europe, Central	23.61	4.7	1.10	1.57	2.10	43	91
Europe, East	39.30	4.8	1.87	2.36	3.10	26	66
THE AMERICAS	120.74	6.5	7.82	14.76	27.08	89	246
North America	63.67	6.9	4.38	7.13	11.01	63	151
Caribbean	5.06	6.5	0.33	0.62	1.04	88	215
Latin America, Andean	4.51	5.6	0.25	0.59	1.29	136	416
Latin America, Central	19.54	6.1	1.19	2.79	6.37	134	435
Latin America, Southern	8.74	7.0	0.61	1.08	1.83	77	200
Latin America, Tropical	19.23	5.5	1.05	2.58	5.54	146	428
AFRICA	71.07	2.6	1.86	3.92	8.74	111	370
North Africa / Middle East	31.11	3.7	1.15	2.59	6.19	125	438
Sub-Saharan Africa, Central	3.93	1.8	0.07	0.12	0.24	71	243
Sub-Saharan Africa, East	16.03	2.3	0.36	0.69	1.38	92	283
Sub-Saharan Africa, Southern	4.66	2.1	0.10	0.17	0.20	70	100
Sub-Saharan Africa, West	15.33	1.2	0.18	0.35	0.72	94	300
WORLD	758.54	4.7	35.56	65.69	115.36	85	225

Annexe 1: Estimation de la population totale des personnes âgées de plus de 60 ans souffrant de démences par région.

Figure 2 Estimated prevalence of dementia for those aged 60 and over, standardised to Western Europe population, by GBD region (%)

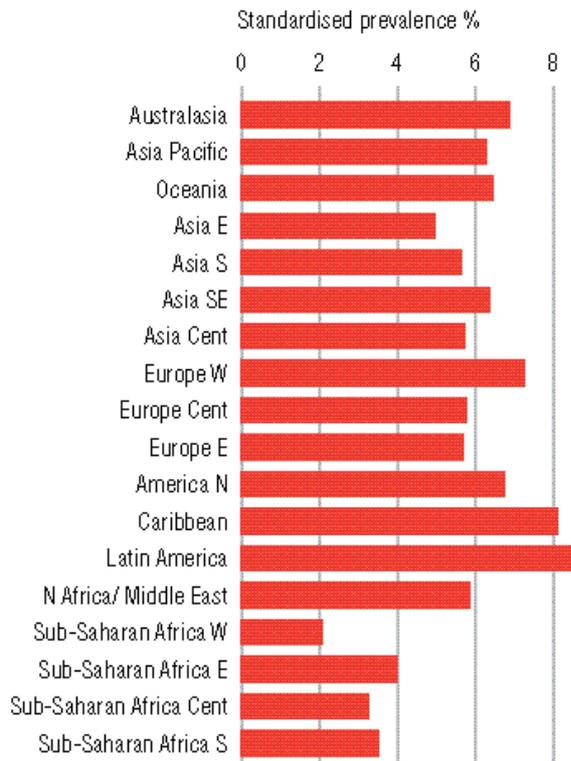
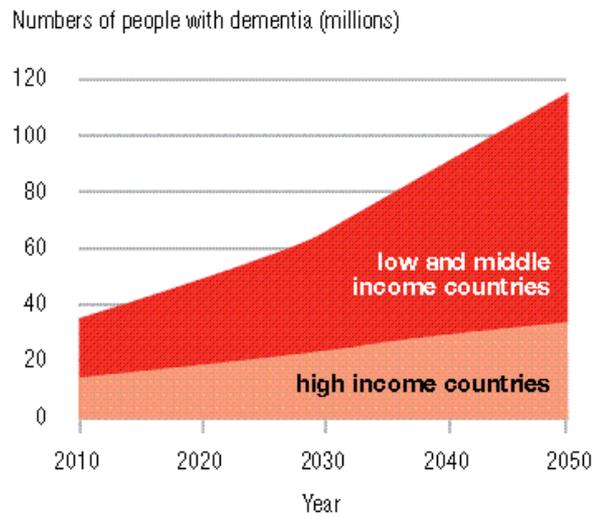


Figure 3 The growth in numbers of people with dementia in high income countries and low and middle income countries



Annexe 2: fig 2: Estimation de la prévalence des personnes âgées de plus de 60 ans souffrant de démences en europe occidentale. Fig 3: l'augmentation de la population souffrant de démences dans les pays développés (high income) et ceux en voie de développement (low and middle income).

Mini-Mental State (MMS)

Version consensuelle du GRECO, 1998

Date :

NOM :

Prénom :

*Je vais vous poser quelques questions pour apprécier comment fonctionne votre mémoire.
Les unes sont très simples, les autres un peu moins. Vous devez répondre du mieux que vous pouvez*

Coter 0 ou 1

<p>Orientation dans le temps "Quelle est la date complète d'aujourd'hui ?" Si la réponse est incorrecte ou incomplète, posez les questions restées sans réponse, dans l'ordre suivant :</p>	<p>11 En quelle année sommes-nous ? <input type="checkbox"/></p> <p>12 En quelle saison ? <input type="checkbox"/></p> <p>13 En quel mois ? <input type="checkbox"/></p> <p>14 Quel jour du mois ? <input type="checkbox"/></p> <p>15 Quel jour de la semaine ? <input type="checkbox"/></p>
Score <input type="checkbox"/> / 5	
ORIENTATION DANS LE TEMPS • (1 point par réponse juste – maximum : 5 points)	
<p>Orientation dans l'espace "Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous nous trouvons"</p>	<p>16 Quel est le nom de l'hôpital (de l'établissement, du cabinet) où nous sommes ? <input type="checkbox"/></p> <p>17 Dans quelle ville se trouve-t-il ? <input type="checkbox"/></p> <p>18 Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ? <input type="checkbox"/></p> <p>19 Dans quelle province ou région administrative est situé ce département ? <input type="checkbox"/></p> <p>20 A quel étage sommes-nous ? <input type="checkbox"/></p>
Score <input type="checkbox"/> / 5	
ORIENTATION DANS L'ESPACE • (1 point par réponse juste – maximum : 5 points)	
<p>"Je vais vous dire trois mots. Je voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir, car je vous les redemanderai tout à l'heure" "Répétez les trois mots"</p>	<p>21 Cigare <input type="checkbox"/></p> <p>22 Fleur <input type="checkbox"/></p> <p>23 Porte <input type="checkbox"/></p> <p>(ou citron, clé, ballon)</p>
Score <input type="checkbox"/> / 3	
APPRENTISSAGE • (1 point par mot répété correctement – maximum : 3 points)	
<p>"Voulez-vous compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois"</p> <p>Pour tous les sujets, même pour ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander : "Voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers" Le score correspond au nombre de lettres dans la bonne position, mais ce chiffre ne doit pas figurer dans le score global</p>	<p>24 93 <input type="checkbox"/></p> <p>25 86 <input type="checkbox"/></p> <p>26 79 <input type="checkbox"/></p> <p>27 72 <input type="checkbox"/></p> <p>28 65 <input type="checkbox"/></p>
Score <input type="checkbox"/> / 5	
ATTENTION • (1 point par soustraction exacte – maximum : 5 points)	
<p>"Pouvez-vous me dire quels étaient les trois mots que je vous ai demandés de répéter et de retenir tout à l'heure ?"</p>	<p>29 Cigare <input type="checkbox"/></p> <p>30 Fleur <input type="checkbox"/></p> <p>31 Porte <input type="checkbox"/></p>
Score <input type="checkbox"/> / 3	
RAPPEL • (1 point par mot rappelé – maximum 3 points)	
<p>22 Montrer un crayon. "Quel est le nom de cet objet ?" (1 point si la réponse est bonne) <input type="checkbox"/></p> <p>23 Montrer une montre. "Quel est le nom de cet objet ?" (1 point si la réponse est bonne) <input type="checkbox"/></p> <p>24 "Ecoutez bien et répétez après moi : pas de mais, de si, ni de et" (1 point seulement si la répétition est parfaitement correcte) <input type="checkbox"/></p> <p>25 Poser une feuille de papier blanc sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant : "Ecoutez bien, et faites ce que je vais vous dire": "Prenez cette feuille de papier avec la main droite" (1 point si consigne exécutée) <input type="checkbox"/></p> <p>26 "Pliez-le en deux" (1 point si consigne exécutée) <input type="checkbox"/></p> <p>27 "Et jetez-la par-terre" (1 point si consigne exécutée) <input type="checkbox"/></p> <p>28 Tendre une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractères "FERMEZ LES YEUX" et dire au sujet : "Faites ce qui est écrit" <input type="checkbox"/></p> <p>29 Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo en disant : "Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière." (1 point si au moins un sujet et un verbe) Cette phrase doit être écrite spontanément. Elle doit contenir un sujet, un verbe et avoir un sens <input type="checkbox"/></p>	<p>Score <input type="checkbox"/> / 8</p>
LANGAGE	
<p>30 Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander : "Voulez-vous recopier ce dessin ?" <input type="checkbox"/></p>	<p>Score <input type="checkbox"/> / 1</p>
PRAXIES CONSTRUCTIVES • (1 point si tous les angles sont présents ainsi que l'intersection de 2 côtés différents)	
SCORE TOTAL <input type="checkbox"/> / 30	

Annexe 3: Mini Mental State

TEST de l'HORLOGE**MODALITES et CONSIGNES de PASSATION**

Donner au sujet une feuille de papier sur laquelle est découpé le cadran d'une horloge et lire :

« Voici le cadran d'une horloge... J'attends que vous le complétiez. Marquez tous les nombres qui indiquent les heures. »

Quand le sujet a placé les nombres, demander :

« Maintenant, douillez les aiguilles qui indiquent quatre heures moins vingt. »

Si le sujet ne comprend pas les consignes, elles peuvent être répétées ou reformulées, mais aucune aide ne doit être apportée. Il n'y a pas de limite de temps. Au cours de l'épreuve, le sujet ne doit pas regarder sa montre ni celle de l'examinateur.

NOTATION :

Compter 1 point si les nombres sont présents. Si 0 à 11 manque un nombre ou des zéros 1 et 12, 30 y a des nombres autres que de 1 à 12 ou si des nombres supérieurs (20) sont présents.

Compter 1 point si les nombres sont dans le bon ordre (les nombres doivent toujours être en position croissante : ils peuvent en pas atteindre 12).

Compter 1 point si les nombres sont en position correcte (les nombres doivent être disposés dans le bon cadran).

Compter 1 point si les deux aiguilles sont présentes (des traits, pointes ou nombres écrits sont nécessaires).

Compter 1 point si l'heure « 4 » est indiquée (par une flèche ou un cercle).

Compter 1 point si les minutes « moins vingt » sont indiquées (par une flèche ou un cercle).

Compter 1 point si les aiguilles sont dans des positions correctes (le sujet peut indiquer que l'aiguille des heures est plus petite).

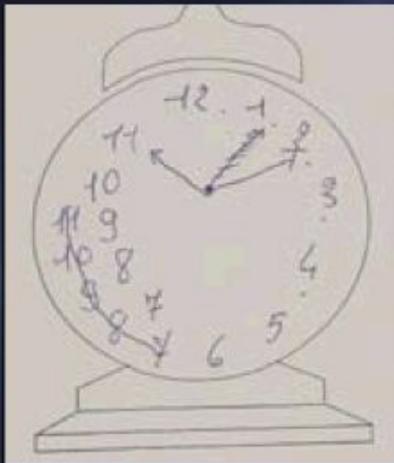
NORMES

Le score total maximal est de 7. A titre indicatif, un score inférieur à 4 est probablement anormal.

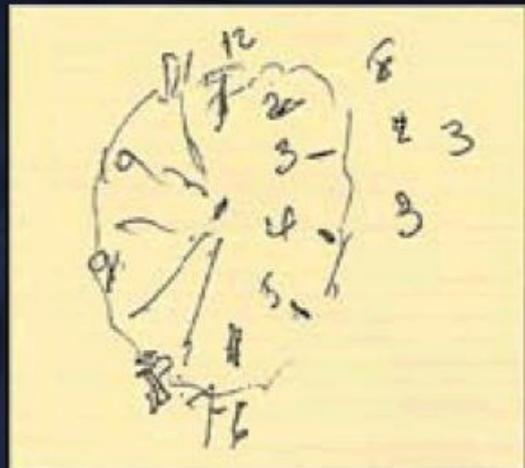
Annexe 4: Test de l'horloge

Le test de l'horloge

Troubles attentionnels



Maladie d'Alzheimer



Medecinews - 2007

Annexe 5: Résultat du test de l'horloge chez un patient souffrant de MA (droite).

Questionnaire IADL

Capacité à utiliser le téléphone :

- Je me sers du téléphone de ma propre initiative, cherche et compose les numéros, etc.....
- Je compose un petit nombre de numéros bien connus.....
- Je réponds au téléphone mais n'appelle pas.....
- Je suis incapable d'utiliser le téléphone.....

Faire les courses :

- Je fais toutes mes courses de façon indépendante.....
- Je fais seulement les petits achats tout seul.....
- J'ai besoin d'être accompagné, quelle que soit la course.....
- Je suis totalement incapable de faire les courses.....

Préparation des repas :

- Je prévois, prépare et sers des repas de façon indépendante.....
- Je les prépare si on me fournit les ingrédients.....
- Je suis incapable de réchauffer des plats déjà préparés.....
- J'ai besoin qu'on me prépare et serve les repas.....

Entretien de la maison :

- J'entretiens la maison seul ou avec une aide occasionnelle, par exemple pour les gros travaux
- Je ne fais que les petits travaux d'entretien quotidiens (vaisselle, lit, petit bricolage, etc).....
- Je fais les petits travaux mais sans parvenir à garder un niveau de propreté suffisant.....
- J'ai besoin d'aide pour toutes les tâches d'entretien de la maison.....
- Je ne peux pas participer du tout à l'entretien de la maison.....

Lessive :

- Je fais toute ma lessive personnelle ou la porte moi-même au pressing.....
- Je lave les petites affaires.....
- Toute la lessive doit être faite par d'autres personnes.....

Moyen de transport :

- Je peux voyager seul et de façon indépendante (par les transports en commun ou avec ma propre voiture).....
- Je peux me déplacer seul en taxi, pas en autobus.....
- Je peux prendre les transports en commun si je suis accompagné.....
- Transport limité au taxi ou à la voiture en étant accompagné.....
- Je ne me déplace pas du tout.....

Responsabilité pour la prise des médicaments :

- Je m'occupe moi-même de la prise : dosage et horaire.....
- Je peux les prendre moi-même, s'ils sont préparés et dosés à l'avance.....
- Je suis incapable de les prendre moi-même.....

Capacité à gérer son budget :

- Je suis totalement autonome (gérer le budget, faire des chèques, payer les factures, etc).....
- Je me débrouille pour les dépenses au jour le jour mais j'ai besoin d'aide pour gérer mon budget à plus long terme (pour planifier les grosses dépenses).....
- Je suis incapable de gérer l'argent nécessaire à payer mes dépenses au jour le jour.....

Score total

IM-XXX-V1 2008

5

Questionnaire ADL

Toilette (lavabo, bain, douche) :

- Besoin d'aucune aide ----- 1
Besoin d'aide pour une partie du corps (dos ou jambes) ----- 1/2
Besoin d'aide pour la toilette de plusieurs parties du corps ou toilette impossible ----- 0

Habillage (prend ses vêtements dans l'armoire ou les tiroirs, sous-vêtements et vêtements d'extérieurs compris ; utilise boutons et fermeture éclair) :

- Besoin d'aucune aide ----- 1
Besoin d'une aide uniquement pour lacer ses chaussures ----- 1/2
Besoin d'aide pour prendre ses vêtements ou s'habiller ou rester partiellement ou complètement déshabillé ----- 0

Aller aux WC (pour uriner ou déféquer, s'essuyer et se rhabiller) :

- Besoin d'aucune aide (aide possible pour se rendre aux WC : canne, fauteuil roulant, ..., utilise lui-même le bassin) ----- 1
Besoin d'une aide ----- 1/2
Ne va pas aux WC ou n'utilise pas le bassin ----- 0

Locomotion :

- Besoin d'aucune aide pour entrer et sortir du lit, s'asseoir ou se lever d'une chaise (peut utiliser un support comme une canne ou un déambulateur) ----- 1
Besoin d'une aide ----- 1/2
Ne quitte pas le lit ----- 0

Continence :

- Contrôle complet des urines et des selles ----- 1
Accidents occasionnels ----- 1/2
Incontinence totale, nécessité de sondage ou de surveillance permanente ----- 0

Alimentation :

- Besoin d'aucune aide ----- 1
Besoin d'aide pour couper la viande ou beurrer le pain ----- 1/2
Besoin d'aide complète ou alimentation artificielle ----- 0

5

IM-XXX-V1 2008

Vu, le Président du jury,

Signature ⇨

Mme Edith BIGOT

Vu, le Directeur de thèse,

Signature ⇨

M. Thierry PATRICE

Vu, le Directeur de l'UFR,

Nom - Prénoms : Aillet Lorena Adriana

Titre de la thèse : Maladie d'Alzheimer, diagnostique et thérapeutique:
implication du stress oxydatif

Résumé de la thèse : La maladie d'Alzheimer est une démence multifactorielle dont les origines sont encore incertaines. Notre société vieillissante voit en elle l'un de ses pires avenir. La thérapeutique actuelle ne contre en aucune façon son évolution d'où un élargissement du panel de molécules testées, parmi lesquelles on trouve des molécules anti-oxydantes. Que sont elles? Pourquoi agiraient elles? Quel est le rôle du stress oxydatif dans le développement de cette pathologie?
Nous allons donc définir ici ce que nous savons de la maladie d'Alzheimer, du stress oxydatif, de leur relation et de ce que nous pourrions en tirer à l'avenir.

MOTS CLÉS

MALADIE D'ALZHEIMER, STRESS OXYDATIF, ESPECES REACTIVES DE L'OXYGENE, ANTIOXYDANTS, TEST PATROL.

JURY

PRÉSIDENT : Mme Edith BIGOT, Maître de conférences en Biochimie
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS : M. Thierry PATRICE, Professeur de Physiologie
Faculté de Pharmacie de Nantes
Mme Sonia FORCE, Pharmacien d'officine
2, place Delorme 44000 Nantes

Adresse de l'auteur : 24, rue Soweto Cavani
96000 Mamoudzou