

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 17 avril 2012**  
**Par Mlle Lardé Perrine**

---

**LA GAMMA-SECRETASE:**

**Nouvelle cible thérapeutique de la Maladie d'Alzheimer**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Michel LUYCKX, Professeur de Pharmacie Clinique,  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

**Assesseur :** Thierry DINE, Professeur de Pharmacie Clinique,  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

**Membre extérieur :** Jessica DELEFORGE, Pharmacien



## Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse  
B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel: 03.20.96.40.40 - Fax: 03.20.96.43.64



**Université Lille 2**  
**Droit et Santé**

### Université Lille 2 – Droit et Santé

|                      |                                     |
|----------------------|-------------------------------------|
| Président :          | Professeur Christian SERGHERAERT    |
| Vice- présidents :   | Madame Stéphanie DAMAREY            |
|                      | Professeur Marie-Hélène FOSSE-GOMEZ |
|                      | Professeur Régis MATRAN             |
|                      | Professeur Salem KACET              |
|                      | Professeur Paul FRIMAT              |
|                      | Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE   |
|                      | Professeur Patrick PELAYO           |
|                      | Madame Claire DAVAL                 |
|                      | Madame Irène LAUTIER                |
|                      | Monsieur Larbi AIT-HENNANI          |
|                      | Monsieur Rémy PAMART                |
| Secrétaire général : | Monsieur Pierre-Marie ROBERT        |

### Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

|                                         |                              |
|-----------------------------------------|------------------------------|
| Doyen :                                 | Professeur Luc DUBREUIL      |
| Vice-Doyen, 1 <sup>er</sup> assesseur : | Professeur Damien CUNY       |
| Assesseurs :                            | Mme Nadine ROGER             |
|                                         | Professeur Philippe CHAVATTE |
| Chef des services administratifs :      | Monsieur André GENY          |

### Liste des Professeurs des Universités :

| Civ. | NOM             | Prénom        | Laboratoire                        |
|------|-----------------|---------------|------------------------------------|
| M.   | ALIOUAT         | El Moukhtar   | Parasitologie                      |
| Mme  | AZAROUAL        | Nathalie      | Physique                           |
| M.   | BAILLEUL        | François      | Pharmacognosie                     |
| M.   | BERTHELOT       | Pascal        | Chimie Thérapeutique 1             |
| M.   | CAZIN           | Jean-Louis    | Pharmacologie – Pharmacie clinique |
| M.   | CHAVATTE        | Philippe      | Chimie Thérapeutique               |
| M.   | COURTECUISSÉ    | Régis         | Sciences végétales et fongiques    |
| M.   | CUNY            | Damien        | Sciences végétales et fongiques    |
| Mlle | DELBAERE        | Stéphanie     | Physique                           |
| M.   | DEPREZ          | Benoît        | Chimie Générale                    |
| Mme  | DEPREZ          | Rebecca       | Chimie Générale                    |
| M.   | DUPONT          | Frédéric      | Sciences végétales et fongiques    |
| M.   | DURIEZ          | Patrick       | Physiologie                        |
| M.   | GARÇON          | Guillaume     | Toxicologie                        |
| Mlle | GAYOT           | Anne          | Pharmacotechnie Industrielle       |
| M.   | GESQUIERE       | Jean-Claude   | Chimie Organique                   |
| M.   | GOOSSENS        | Jean François | Chimie Analytique                  |
| Mme  | GRAS            | Hélène        | Chimie Thérapeutique 3             |
| M.   | LEMDANI         | Mohamed       | Biomathématiques                   |
| Mme  | LESTAVEL        | Sophie        | Biologie Cellulaire                |
| M.   | LUC             | Gerald        | Physiologie                        |
| Mme  | MELNYK          | Patricia      | Chimie Générale                    |
| Mme  | MUHR – TAILLEUX | Anne          | Biochimie                          |

|      |                    |                 |                                     |
|------|--------------------|-----------------|-------------------------------------|
| Mme  | PAUMELLE-LESTRELIN | Réjane          | Biologie Cellulaire                 |
| Mme  | PERROY – MAILLOLS  | Anne Catherine  | Droit et déontologie pharmaceutique |
| Mlle | ROMOND             | Marie Bénédicte | Bactériologie                       |
| Mme  | SAHPAZ             | Sevser          | Pharmacognosie                      |
| M.   | SIEPMANN           | Juergen         | Pharmacotechnie Industrielle        |
| M.   | STAELS             | Bart            | Biologie Cellulaire                 |
| M    | TARTAR             | André           | Chimie Organique                    |
| M.   | VACCHER            | Claude          | Chimie Analytique                   |
| M.   | VION               | Daniel          | Droit et déontologie pharmaceutique |

### Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

| Civ. | NOM        | Prénom    | Laboratoire                          |
|------|------------|-----------|--------------------------------------|
| M.   | BROUSSEAU  | Thierry   | Biochimie                            |
| M    | BRUNET     | Claude    | Pharmacologie                        |
| Mme  | CAPRON     | Monique   | Immunologie                          |
| M.   | DINE       | Thierry   | Pharmacie clinique                   |
| M.   | DUBREUIL   | Luc       | Bactériologie et Virologie Cliniques |
| M.   | DUTHILLEUL | Patrick   | Hématologie                          |
| M.   | GAMOT      | André     | Chimie Analytique                    |
| M.   | GRESSIER   | Bernard   | Pharmacologie                        |
| M.   | LHERMITTE  | Michel    | Toxicologie                          |
| M.   | LUYCKX     | Michel    | Pharmacie clinique                   |
| M.   | ODOU       | Pascal    | Pharmacie Galénique                  |
| M.   | DEPREUX    | Patrick   | Chimie Organique (ICPAL)             |
| M.   | BONTE      | Jean-Paul | Chimie Analytique et (ICPAL)         |

### Liste des Maîtres de Conférences

| Civ.  | NOM         | Prénom       | Laboratoire                  |
|-------|-------------|--------------|------------------------------|
| Mme   | AGOURIDAS   | Laurence     | Chimie Générale              |
| Mme   | ALIOUAT     | Cécile Marie | Parasitologie                |
| Mme   | AUMERCIER   | Pierrette    | Biochimie                    |
| Mme   | BANTUBUNGI  | Kadiombo     | Biologie cellulaire          |
| Mme   | BARTHELEMY  | Christine    | Pharmacie Galénique          |
| M.    | BEGHYN      | Terence      | Chimie Thérapeutique 3       |
| Mme   | BEHRA       | Josette      | Bactériologie                |
| M.    | BERTHET     | Jérôme       | Physique                     |
| M.    | BERTIN      | Benjamin     | Immunologie                  |
| M.    | BLANCHEMAIN | Nicolas      | Pharmacotechnie industrielle |
| M.    | BOCHU       | Christophe   | Physique                     |
| M.    | BOUTILLON   | Christophe   | Chimie Organique             |
| M.    | BRIAND      | Olivier      | Biochimie                    |
| Mme   | CACHERA     | Claude       | Biochimie                    |
| M.    | CARATO      | Pascal       | Chimie Thérapeutique 2       |
| M.    | CARNOY      | Christophe   | Immunologie                  |
| Mme   | CARON       | Sandrine     | Biologie cellulaire          |
| Mlle  | CHABÉ       | Magali       | Parasitologie                |
| Mlle  | CHARTON     | Julie        | Chimie Organique             |
| M     | CHEVALIER   | Dany         | Toxicologie                  |
| M.    | COCHELARD   | Dominique    | Biomathématiques             |
| Mlle  | DANEL       | Cécile       | Chimie Analytique            |
| Mme   | DEMANCHE    | Christine    | Parasitologie                |
| Mlle  | DEMARQUILLY | Catherine    | Biomathématiques             |
| Melle | DUMONT      | Julie        | Biologie cellulaire          |
| M.    | FARCE       | Amaury       | Chimie Thérapeutique 2       |
| Mlle  | FLAMENT     | Marie-Pierre | Pharmacotechnie Industrielle |

|       |               |                  |                                     |
|-------|---------------|------------------|-------------------------------------|
| Mlle  | FLIPO         | Marion           | Chimie Organique                    |
| Mme   | FOULON        | Catherine        | Chimie Analytique                   |
| Melle | GARAT         | Anne             | Toxicologie                         |
| M.    | GELEZ         | Philippe         | Biomathématiques                    |
| M.    | GERVOIS       | Philippe         | Biochimie                           |
| Mme   | GOFFARD       | Anne             | Virologie                           |
| Mme   | GRAVE         | Béatrice         | Toxicologie                         |
| Mme   | GROSS         | Barbara          | Biochimie                           |
| Mme   | HANNOTHIAUX   | Marie-Hélène     | Toxicologie                         |
| Mme   | HELLEBOID     | Audrey           | Physiologie                         |
| M.    | HENNEBELLE    | Thierry          | Pharmacognosie                      |
| M.    | HERMANN       | Emmanuel         | Immunologie                         |
| M.    | KAMBIA        | Kpakpaga Nicolas | Pharmacologie                       |
| M.    | KARROUT       | Youness          | Pharmacotechnie Industrielle        |
| Mlle  | LALLOYER      | Fanny            | Biochimie                           |
| M.    | LEBEGUE       | Nicolas          | Chimie thérapeutique 1              |
| Mme   | LIPKA         | Emmanuelle       | Chimie Analytique                   |
| Mme   | LORIN-LECOEUR | Marie            | Chimie Analytique                   |
| Mme   | MARTIN        | Françoise        | Physiologie                         |
| M.    | MOREAU        | Pierre Arthur    | Sciences végétales et fongiques     |
| Melle | MUSCHERT      | Susanne          | Pharmacotechnie industrielle        |
| Mme   | NEUT          | Christel         | Bactériologie                       |
| Mme   | PINÇON        | Claire           | Biomathématiques                    |
| M.    | PIVA          | Frank            | Pharmacie Galénique                 |
| Mme   | POMMERY       | Nicole           | Toxicologie                         |
| M.    | RAVAUX        | Pierre           | Biomathématiques                    |
| Melle | RIVIERE       | Céline           | Pharmacognosie                      |
| Mme   | ROGER         | Nadine           | Immunologie                         |
| M.    | ROUMY         | Vincent          | Pharmacognosie                      |
| M.    | SERGHARAERT   | Eric             | Droit et déontologie pharmaceutique |
| Mme   | SIEPMANN      | Florence         | Pharmacotechnie Industrielle        |
| Mlle  | SINGER        | Elisabeth        | Bactériologie                       |
| M.    | TAGZIRT       | Madjid           | Hématologie                         |
| Mme   | THUILLIER     | Pascale          | Hématologie                         |
| Mme   | VANHOUTTE     | Geneviève        | Biochimie                           |
| Mme   | VITSE         | Annie            | Parasitologie                       |
| M.    | WILLAND       | Nicolas          | Chimie organique                    |
| M.    | YOUS          | Saïd             | Chimie Thérapeutique 1              |
| <hr/> |               |                  |                                     |
| M.    | FURMAN        | Christophe       | Pharmacobiochimie (ICPAL)           |
| Mme   | GOOSSENS      | Laurence         | Chimie Organique (ICPAL)            |
| M.    | MILLET        | Régis            | Chimie Thérapeutique (ICPAL)        |

#### Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

| Civ. | NOM      | Prénom          | Laboratoire        |
|------|----------|-----------------|--------------------|
| Mme  | ALLORGE  | Delphine        | Toxicologie        |
| Mme  | BALDUYCK | Malika          | Biochimie          |
| M.   | DECAUDIN | Bertrand        | Pharmacie Clinique |
| Mme  | ODOU     | Marie Françoise | Bactériologie      |

#### Professeurs Agrégés

| Civ. | NOM        | Prénom  | Laboratoire                         |
|------|------------|---------|-------------------------------------|
| Mme  | MAYES      | Martine | Anglais                             |
| M.   | MORGENROTH | Thomas  | Droit et déontologie pharmaceutique |



### Professeurs Certifiés

| Civ. | NOM      | Prénom    | Laboratoire |
|------|----------|-----------|-------------|
| M.   | HUGES    | Dominique | Anglais     |
| Mlle | FAUQUANT | Soline    | Anglais     |
| M.   | OSTYN    | Gaël      | Anglais     |

### Professeurs Associé - mi-temps

| Civ. | NOM    | Prénom | Laboratoire                         |
|------|--------|--------|-------------------------------------|
| M.   | ABADIE | Eric   | Droit et déontologie pharmaceutique |

### Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

| Civ. | NOM      | Prénom    | Laboratoire                             |
|------|----------|-----------|-----------------------------------------|
| Mme  | BERTOUX  | Elisabeth | Pharmacie Clinique - Biomathématiques   |
| M.   | CREN     | Yves      | Information Médicale - Biomathématiques |
| M.   | FIEVET   | Pierre    | Information Médicale                    |
| M.   | FRIMAT   | Bruno     | Pharmacie Clinique                      |
| M.   | MASCAUT  | Daniel    | Pharmacie Clinique                      |
| M.   | WATRELOS | Michel    | Droit et déontologie pharmaceutique     |
| M.   | ZANETTI  | Sébastien | Biomathématiques - Pharmacie virtuelle  |

### AHU

| Civ. | NOM    | Prénom  | Laboratoire         |
|------|--------|---------|---------------------|
| M.   | LANNOY | Damien  | Pharmacie Galénique |
| M.   | SIMON  | Nicolas | Pharmacie Galénique |



## ***Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille***

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX  
Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64  
<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises  
dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**

*A toi, Mamie,*

*Ta joie de vivre, ta curiosité éternelle, tes souvenirs se sont envolés à cause de cette maladie. Dans ton regard, je sais qu'au fond de toi, ton Amour est resté intact. Tu me manques.*

*A mon Président de Thèse,  
Monsieur le Professeur Michel Luyckx,*

*Il y a déjà 4 ans, vous avez accepté de m'encadrer pour la réalisation de cette thèse. Je vous suis très reconnaissante pour votre aide et votre patience. Permettez-moi de vous adresser mes remerciements et toute ma gratitude.*

*A mes assesseurs,  
Monsieur le Professeur Thierry Dine,*

*Merci d'avoir accepté de juger mon travail. Veuillez-recevoir mes sincères remerciements.*

*A Jessica,*

*Tu m'as guidée, conseillée lors de mes premiers pas de Pharmacien. Je te remercie d'avoir accepté avec beaucoup de gentillesse de participer à ce jury. A notre amitié.*

*A David,*

*Notre rencontre marque le début de nos études. Durant toutes ces années, tu m'as conseillée, encouragée et même supportée dans les moments difficiles. Merci pour ton soutien, ta patience, mais surtout pour l'Amour que tu m'offres chaque jour à tes côtés. Je t'aime.*

*Enfin, je remercie ma famille pour son soutien lors de l'élaboration de cette thèse et durant toutes ces années d'études.*

*Ainsi que mes amis et mes collègues pour leur écoute, leurs conseils et leurs encouragements.*



## **SOMMAIRE**

|                                                   |           |
|---------------------------------------------------|-----------|
| <b>TABLE DES ABREVIATIONS</b>                     | <b>13</b> |
| <b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b>                    | <b>15</b> |
| <b>INTRODUCTION</b>                               | <b>18</b> |
| <b>1. La Maladie d'Alzheimer</b>                  | <b>20</b> |
| <b>1.1. Définition</b>                            | <b>20</b> |
| <b>1.2. Epidémiologie</b>                         | <b>20</b> |
| <b>1.3. Facteurs de risque</b>                    | <b>22</b> |
| 1.3.1. Age                                        | 22        |
| 1.3.2. Sexe féminin                               | 22        |
| 1.3.3. Antécédents familiaux et génétiques        | 23        |
| 1.3.4. Faible niveau d'éducation                  | 23        |
| 1.3.5. Terrain vasculaire                         | 23        |
| 1.3.6. Autres                                     | 23        |
| <b>1.4. Facteurs de protection</b>                | <b>23</b> |
| 1.4.1. Activités et réseau social                 | 23        |
| 1.4.2. Nutrition                                  | 24        |
| 1.4.3. Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS) | 24        |
| 1.4.4. Autres                                     | 24        |
| <b>1.5. Physiopathologie</b>                      | <b>26</b> |
| 1.5.1. Lésions (point de vue histopathologique)   | 26        |
| 1.5.1.1. Dégénérescences Neurofibrillaires        | 26        |
| 1.5.1.2. Plaques séniles                          | 27        |
| 1.5.1.3. Atrophie cérébrale                       | 28        |
| 1.5.2. Biochimie de la MA                         | 29        |
| 1.5.2.1. Amyloïdogénèse                           | 29        |
| 1.5.2.2. Hyperphosphorylation de la protéine tau  | 33        |
| 1.5.2.3. Inflammation                             | 34        |
| 1.5.2.4. Stress oxydatif                          | 34        |
| 1.5.2.5. Excitation toxique                       | 35        |
| 1.5.2.6. Neurotransmission                        | 36        |
| 1.5.3. Génétique                                  | 37        |
| 1.5.4. Conclusion                                 | 38        |
| <b>1.6. Tableau clinique</b>                      | <b>40</b> |
| 1.6.1. Troubles cognitifs                         | 40        |
| 1.6.1.1. Troubles de la mémoire                   | 40        |
| 1.6.1.2. Troubles du langage                      | 41        |
| 1.6.1.3. Troubles praxiques                       | 41        |
| 1.6.1.4. Troubles gnosiques                       | 41        |
| 1.6.1.5. Troubles de l'orientation                | 42        |
| 1.6.1.6. Troubles intellectuels                   | 42        |
| 1.6.2. Troubles psycho-comportementaux            | 42        |
| 1.6.3. Autres troubles somatiques                 | 42        |
| 1.6.4. Evolution de la maladie                    | 43        |
| 1.6.4.1. Stade préclinique                        | 43        |
| 1.6.4.2. Stade initial                            | 43        |
| 1.6.4.3. Stade intermédiaire                      | 43        |
| 1.6.4.4. Stade tardif                             | 43        |

|                                                                                  |           |
|----------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.7. Diagnostic</b>                                                           | <b>45</b> |
| 1.7.1. Entretien                                                                 | 45        |
| 1.7.2. Examens cliniques                                                         | 45        |
| 1.7.3. Examens biologiques                                                       | 48        |
| 1.7.4. Neuro-imagerie                                                            | 49        |
| 1.7.5. Autres examens paracliniques                                              | 50        |
| <b>1.8. Traitements actuels des troubles cognitifs</b>                           | <b>51</b> |
| 1.8.1. Anticholinestérasiques                                                    | 51        |
| 1.8.1.1. Mécanisme d'action                                                      | 51        |
| 1.8.1.2. Efficacité clinique                                                     | 52        |
| 1.8.1.3. Posologie                                                               | 52        |
| 1.8.1.4. Effets indésirables                                                     | 53        |
| 1.8.2. Antiglutamatergiques                                                      | 53        |
| 1.8.2.1. Mécanisme d'action                                                      | 53        |
| 1.8.2.2. Efficacité clinique                                                     | 54        |
| 1.8.2.3. Posologie                                                               | 54        |
| 1.8.2.4. Effets indésirables                                                     | 54        |
| <b>2. Pharmacologie de la <math>\gamma</math>-secrétase</b>                      | <b>56</b> |
| <b>2.1. Structure de l'enzyme</b>                                                | <b>56</b> |
| 2.1.1. Préséniline                                                               | 57        |
| 2.1.2. Nicastrine                                                                | 58        |
| 2.1.3. Aph-1                                                                     | 59        |
| 2.1.4. Pen-2                                                                     | 59        |
| <b>2.2. Assemblage du complexe et localisation au sein de la cellule</b>         | <b>60</b> |
| 2.2.1. Assemblage                                                                | 60        |
| 2.2.2. Localisation                                                              | 60        |
| <b>2.3. Activité</b>                                                             | <b>63</b> |
| 2.3.1. Protéolyse intramembranaire régulée                                       | 63        |
| 2.3.1.1. Définition                                                              | 63        |
| 2.3.1.2. Mécanisme de RIP par la $\gamma$ -secrétase                             | 63        |
| 2.3.1.3. Modulation de l'activité $\gamma$ -secrétase par le taux de cholestérol | 64        |
| 2.3.2. Production du peptide A $\beta$                                           | 65        |
| 2.3.3. Production d'AICD                                                         | 66        |
| 2.3.3.1. Présentation                                                            | 66        |
| 2.3.3.2. Mécanisme de translocation au noyau                                     | 66        |
| 2.3.3.3. Gènes cibles                                                            | 67        |
| 2.3.3.4. Dégradation                                                             | 69        |
| 2.3.4. Régulation de l'activité $\gamma$ -secrétase                              | 69        |
| 2.3.5. Activité indépendante des présénilines                                    | 71        |
| <b>2.4. Spécificité</b>                                                          | <b>72</b> |
| 2.4.1. Notch                                                                     | 74        |
| 2.4.1.1. Mécanisme d'action                                                      | 74        |
| 2.4.1.2. Fonctions physiologiques                                                | 77        |
| 2.4.2. Cadhérines et protocadhérines                                             | 80        |
| 2.4.3. CD44                                                                      | 81        |
| 2.4.4. Ephrine-B2                                                                | 81        |
| 2.4.5. DCC                                                                       | 83        |
| 2.4.6. ErbB4                                                                     | 83        |

|                                                                                       |            |
|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>3. Médicaments en essais cliniques actifs sur la <math>\gamma</math>-secrétase</b> | <b>86</b>  |
| <b>3.1. Inhibiteurs de <math>\gamma</math>-secrétase (GSI)</b>                        | <b>87</b>  |
| 3.1.1. LY450139 / Sémagacestat (Laboratoire Eli Lilly)                                | 88         |
| 3.1.1.1. Phase préclinique                                                            | 88         |
| 3.1.1.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 88         |
| 3.1.1.3. Essais cliniques de Phase II                                                 | 90         |
| 3.1.1.4. Essais cliniques de Phase III                                                | 94         |
| 3.1.2. MK-0752 (Laboratoire Merck)                                                    | 95         |
| 3.1.2.1. Phase préclinique                                                            | 95         |
| 3.1.2.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 95         |
| 3.1.3. GSI-953 / Bégacestat (Laboratoire Wyeth)                                       | 96         |
| 3.1.3.1. Phase préclinique                                                            | 96         |
| 3.1.3.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 99         |
| 3.1.4. BMS-708163 / Avagacestat (Laboratoire Bristol-Myers Squibb)                    | 101        |
| 3.1.4.1. Phase préclinique                                                            | 101        |
| 3.1.4.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 102        |
| 3.1.4.3. Essais cliniques de Phase II                                                 | 104        |
| 3.1.5. PF-3084014 (Laboratoire Pfizer)                                                | 105        |
| 3.1.5.1. Phase préclinique                                                            | 105        |
| 3.1.5.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 107        |
| <b>3.2. Modulateurs de <math>\gamma</math>-secrétase (GSM)</b>                        | <b>109</b> |
| 3.2.1. MPC-7869 / R-flurbiprofène / Tarenflurbil / FLURIZAN® (Laboratoire Myriad)     | 110        |
| 3.2.1.1. Phase préclinique                                                            | 110        |
| 3.2.1.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 111        |
| 3.2.1.3. Essais cliniques de Phase II                                                 | 111        |
| 3.2.1.4. Essais cliniques de Phase III                                                | 112        |
| 3.2.2. E2012 (Laboratoire Eisai)                                                      | 113        |
| 3.2.2.1. Phase préclinique                                                            | 113        |
| 3.2.2.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 113        |
| 3.2.3. CHF 5074 (Laboratoire Chiesi)                                                  | 114        |
| 3.2.3.1. Phase préclinique                                                            | 114        |
| 3.2.3.2. Essais cliniques de Phase I                                                  | 117        |
| <b>CONCLUSION</b>                                                                     | <b>121</b> |
| <b>BIBLIOGRAPHIE</b>                                                                  | <b>123</b> |

## **TABLE DES ABREVIATIONS**

|                    |                                                                                |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| ♦ Aβ               | peptide amyloïde ou peptide Aβ                                                 |
| ♦ ACE              | Angiotensin Converting Enzyme                                                  |
| ♦ ACh              | AcétylCholine                                                                  |
| ♦ ADAM             | A Disintegrin And Metalloprotease                                              |
| ♦ AICD             | APP IntraCellular Domain                                                       |
| ♦ AINS             | Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens                                            |
| ♦ AMM              | Autorisation de Mise sur le Marché                                             |
| ♦ Aph-1            | Anterior Pharynx-defective-1                                                   |
| ♦ ApoE             | Apolipoprotéine E                                                              |
| ♦ APP              | Amyloid Precursor Protein                                                      |
| ♦ AVQ              | Activités de la Vie Quotidienne                                                |
| ♦ BACE             | β-site APP Cleaving Enzyme                                                     |
| ♦ bHLH             | basic Helix-Loop-Helix                                                         |
| ♦ CBF1             | C protein Binding Factor 1                                                     |
| ♦ CBP              | CREB Binding Protein                                                           |
| ♦ CDK8             | Cyclin-Dependant Kinase-8                                                      |
| ♦ Cdkn1a           | Cyclin-Dependant Kinase Inhibitor 1a protein                                   |
| ♦ C <sub>max</sub> | Concentration plasmatique maximale                                             |
| ♦ COX              | Cyclo-OXygénase                                                                |
| ♦ CREB             | cAMP-dependant Response Element Binding protein                                |
| ♦ Csk              | C-terminal Src Kinase                                                          |
| ♦ CSL              | CBF1-Su(H)-Lag1                                                                |
| ♦ DCC              | Deleted in Colorectal Cancer                                                   |
| ♦ DNF              | Dégénérescences NeuroFibrillaires                                              |
| ♦ DSL              | Delta-Serrate-Lag2                                                             |
| ♦ ECE              | Endothelin Converting Enzyme                                                   |
| ♦ EGF              | Epidermal Growth Factor                                                        |
| ♦ GPR3             | « orphan » G-Protein-coupled Receptor 3                                        |
| ♦ GSAP             | Gamma-Secretase Activating Protein                                             |
| ♦ GSI              | Inhibiteurs de γ-sécrétase                                                     |
| ♦ GSK3             | Glycogen Synthase Kinase-3                                                     |
| ♦ GSM              | Modulateurs de γ-sécrétase                                                     |
| ♦ HAS              | Haute Autorité de Santé                                                        |
| ♦ Herp             | HES related Repressor Protein                                                  |
| ♦ Hes              | Hairy Enhancer of Split                                                        |
| ♦ IADL             | Instrumental Activities of Daily Living                                        |
| ♦ IC <sub>50</sub> | Inhibitory Concentration 50                                                    |
| ♦ ICAD             | International Conference on Alzheimer's Disease                                |
| ♦ ICD              | IntraCellular Domain                                                           |
| ♦ I-CliPs          | Intramembrane-Cleaving Protéases                                               |
| ♦ IDE              | Insulin Degrading Enzyme                                                       |
| ♦ IDENTITY         | Interrupting Alzheimer's Dementia by EvaluatiNg Treatment of amyloid paThologY |

|                   |                                                                                     |
|-------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| ♦IRM              | Imagerie par Résonance Magnétique                                                   |
| ♦LCR              | Liquide Céphalo-Rachidien                                                           |
| ♦LEF-1            | Lymphocyte-Enhancer Factor-1                                                        |
| ♦MA               | Maladie d'Alzheimer                                                                 |
| ♦MALDI-TOF        | Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight                          |
| ♦MCI              | Mild Cognitive Impairment                                                           |
| ♦MMEL             | Membrane Metallo-Endopeptidase Like                                                 |
| ♦MMSE             | Mini Mental State Examination                                                       |
| ♦MP               | Membrane Plasmique                                                                  |
| ♦NCT              | Nicestrine                                                                          |
| ♦NEP              | Néprilysine                                                                         |
| ♦NICD             | Notch IntraCellular Domain                                                          |
| ♦NMDA             | N-Méthyl-D-Aspartate                                                                |
| ♦NPI              | NeuroPsychiatric Inventory                                                          |
| ♦NRARP            | Notch-Regulated Ankyrin-Repeat Protein                                              |
| ♦Pen-2            | Presenilin enhancer-2                                                               |
| ♦PHF              | Paires de Filaments Hélicoïdaux                                                     |
| ♦PLD1             | PhosphoLipase D1                                                                    |
| ♦pre-Ta           | pre-T-cell receptor alpha chain                                                     |
| ♦PS               | Plaques Séniles                                                                     |
| ♦PS1/PS2          | Préséniline 1 ou 2                                                                  |
| ♦PS-NTF           | Presenilin N-terminal Fragment                                                      |
| ♦PS-CTF           | Presenilin C-terminal Fragment                                                      |
| ♦Rer1p            | Retrieval to ER 1 protein                                                           |
| ♦RIP              | Protéolyse Intramembranaire Régulée                                                 |
| ♦ROS              | Reactive Oxygen Species                                                             |
| ♦S2P              | Site-2-protéase                                                                     |
| ♦SILK             | Stable Isotope Labeling Kinetic                                                     |
| ♦SNC              | Système Nerveux Central                                                             |
| ♦SPCD             | Symptômes Psychologiques et Comportementaux des Démences                            |
| ♦SPECT            | Single Photon Emission Computed Tomography ou Tomographie à Emission Monophotonique |
| ♦SPP              | Signal Peptide Peptidase                                                            |
| ♦T <sub>1/2</sub> | Temps de demi-vie                                                                   |
| ♦TACE             | Tumor necrosis Alpha Converting Enzyme                                              |
| ♦TEP              | Tomographie à Emission de Positons                                                  |
| ♦Tip60            | Tap-Interactive Protein of 60 kDa                                                   |
| ♦T <sub>max</sub> | Temps d'obtention de la concentration plasmatique maximale                          |

## **TABLE DES ILLUSTRATIONS**

|                     |                                                                                                        |     |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tableau I</b>    | Estimation du nombre de démences en 2004 en France<br>métropolitaine                                   | 21  |
| <b>Tableau II</b>   | Examens biologiques de base                                                                            | 48  |
| <b>Tableau III</b>  | Examens biologiques complémentaires                                                                    | 48  |
| <b>Tableau IV</b>   | Posologie des différents anticholinestérasiques                                                        | 52  |
| <b>Tableau V</b>    | Substrats de la $\gamma$ -secrétase, produits de clivage et fonctions<br>respectives                   | 72  |
| <b>Tableau VI</b>   | Comparaison des différents inhibiteurs de $\gamma$ -secrétase                                          | 108 |
|                     |                                                                                                        |     |
| <b>Figure I</b>     | Prévalence de la MA selon le sexe et l'âge                                                             | 21  |
| <b>Figure II</b>    | Incidence de la MA selon l'âge                                                                         | 22  |
| <b>Figure III</b>   | Schéma étiologique proposé pour la MA                                                                  | 25  |
| <b>Figure IV</b>    | Dégénérescences neurofibrillaires                                                                      | 26  |
| <b>Figure V</b>     | Vue sagittale interne d'un hémisphère cérébral                                                         | 26  |
| <b>Figure VI</b>    | Séquence d'apparition des DNF au cours de la MA                                                        | 27  |
| <b>Figure VII</b>   | Plaques séniles                                                                                        | 27  |
| <b>Figure VIII</b>  | Coupe transversale du cerveau                                                                          | 28  |
| <b>Figure IX</b>    | Schéma de l'APP                                                                                        | 29  |
| <b>Figure X</b>     | Maturation physiopathologique de l'APP                                                                 | 29  |
| <b>Figure XI</b>    | Voie amyloïdogénique de maturation de l'APP à travers<br>les différents compartiments intracellulaires | 31  |
| <b>Figure XII</b>   | Formation des plaques séniles                                                                          | 32  |
| <b>Figure XIII</b>  | Formation des PHF                                                                                      | 33  |
| <b>Figure XIV</b>   | Fonctionnement normal d'une synapse glutamatergique                                                    | 35  |
| <b>Figure XV</b>    | Fonctionnement d'une synapse glutamatergique dans la MA                                                | 36  |
| <b>Figure XVI</b>   | Hypothèse de la cascade amyloïde                                                                       | 39  |
| <b>Figure XVII</b>  | Progression des symptômes de la MA                                                                     | 44  |
| <b>Figure XVIII</b> | MMSE                                                                                                   | 46  |
| <b>Figure XIX</b>   | IRM comparative entre un cerveau sain et un cerveau atteint<br>par la MA                               | 49  |
| <b>Figure XX</b>    | TEP comparative entre un cerveau sain et de MA légère et<br>sévère                                     | 49  |
| <b>Figure XXI</b>   | Mécanisme d'action des anticholinestérasiques                                                          | 51  |
| <b>Figure XXII</b>  | Mécanisme d'action de la Mémantine                                                                     | 53  |
| <b>Figure XXIII</b> | Structure du « complexe $\gamma$ -secrétase »                                                          | 56  |
| <b>Figure XXIV</b>  | Assemblage séquentiel du complexe $\gamma$ -secrétase dépendant<br>des présénilines                    | 60  |
| <b>Figure XXV</b>   | Assemblage et trafic intracellulaire du complexe $\gamma$ -secrétase                                   | 62  |
| <b>Figure XXVI</b>  | Mécanisme réactionnel d'hydrolyse par une aspartyl protéase                                            | 64  |

|                       |                                                                                                                                                                            |     |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure XXVII</b>   | Positionnement du complexe $\gamma$ -secrétase actif et du fragment C99 au coeur de la membrane                                                                            | 65  |
| <b>Figure XXVIII</b>  | Multiples clivages intramembranaires générés par la $\gamma$ -secrétase                                                                                                    | 66  |
| <b>Figure XXIX</b>    | Cibles transcriptionnelles d'AICD                                                                                                                                          | 68  |
| <b>Figure XXX</b>     | Régulation du complexe $\gamma$ -secrétase par différents partenaires de liaison                                                                                           | 69  |
| <b>Figure XXXI</b>    | Schéma des principaux domaines du récepteur Notch                                                                                                                          | 75  |
| <b>Figure XXXII</b>   | Voie de signalisation Notch                                                                                                                                                | 76  |
| <b>Figure XXXIII</b>  | Processus d'inhibition latérale                                                                                                                                            | 78  |
| <b>Figure XXXIV</b>   | Voie de signalisation de la N-cadhérine                                                                                                                                    | 81  |
| <b>Figure XXXV</b>    | Signalisation induite suite au clivage de l'éphrineB2 par la $\gamma$ -secrétase                                                                                           | 82  |
| <b>Figure XXXVI</b>   | Voie de signalisation de ErbB4                                                                                                                                             | 84  |
| <b>Figure XXXVII</b>  | Mécanisme d'action des inhibiteurs (GSI) et des modulateurs (GSM) de $\gamma$ -secrétase                                                                                   | 86  |
| <b>Figure XXXVIII</b> | Mécanisme d'action des inhibiteurs et des modulateurs de $\gamma$ -secrétase vis à vis de Notch                                                                            | 87  |
| <b>Figure XXXIX</b>   | Structure du LY450139                                                                                                                                                      | 88  |
| <b>Figure XL</b>      | Schéma de la technique SILK mesurant la production et la clairance d'A $\beta$ dans le SNC                                                                                 | 90  |
| <b>Figure XLI</b>     | Diagramme de l'essai de phase IIb du LY450139                                                                                                                              | 92  |
| <b>Figure XLII</b>    | Evolution du taux du peptide A $\beta$ 40 dans le plasma chez l'homme en fonction de différentes doses de LY450139 comparé au placebo durant les 6h après l'administration | 93  |
| <b>Figure XLIII</b>   | Nouvelle voie métabolique non-amyloïdogénique de l'APP                                                                                                                     | 94  |
| <b>Figure XLIV</b>    | Structure du MK-0752                                                                                                                                                       | 95  |
| <b>Figure XLV</b>     | Structure du GSI-953                                                                                                                                                       | 96  |
| <b>Figure XLVI</b>    | Inhibition de la production du peptide A $\beta$ en fonction de la concentration en GSI-953 in vitro                                                                       | 97  |
| <b>Figure XLVII</b>   | Efficacité du GSI-953 dans la réduction d'A $\beta$ chez des souris transgéniques Tg2576                                                                                   | 98  |
| <b>Figure XLVIII</b>  | Effets du GSI-953 à différents dosages sur les taux d'A $\beta$ 40 plasmatiques chez des humains en fonction du temps                                                      | 100 |
| <b>Figure XLIX</b>    | Structure du BMS-708163                                                                                                                                                    | 101 |
| <b>Figure L</b>       | Inhibition de la production du peptide A $\beta$ 42 et de Notch en fonction de la concentration en BMS-708163 in vitro                                                     | 102 |
| <b>Figure LI</b>      | Evolution des taux des peptides A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42 dans le LCR chez l'homme en fonction de différentes doses de BMS-708163                                       | 103 |
| <b>Figure LII</b>     | Structure du PF-3084014                                                                                                                                                    | 105 |

|                     |                                                                                                                                                                                                                                               |     |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figure LIII</b>  | Variation des concentrations d'A $\beta$ dans le cerveau et le plasma de cobayes, ainsi que des lymphocytes B suite à de fortes doses de PF-3084014                                                                                           | 106 |
| <b>Figure LIV</b>   | Variation des taux d'A $\beta$ dans le cerveau, le LCR et le plasma de souris transgéniques suite à l'administration de différentes doses de PF-3084014                                                                                       | 107 |
| <b>Figure LV</b>    | Structure du R-flurbiprofène                                                                                                                                                                                                                  | 110 |
| <b>Figure LVI</b>   | Effets indésirables du Flurizan survenus au cours de la Phase II                                                                                                                                                                              | 112 |
| <b>Figure LVII</b>  | Structure du E2012                                                                                                                                                                                                                            | 113 |
| <b>Figure LVIII</b> | Structure du CHF 5074                                                                                                                                                                                                                         | 114 |
| <b>Figure LIX</b>   | Inhibition de la production d'A $\beta$ 42 (A) et d'A $\beta$ 40 (B) par le CHF 5074 in vitro                                                                                                                                                 | 115 |
| <b>Figure LX</b>    | Taux d'A $\beta$ 40 et d'A $\beta$ 42 dans le cerveau et le plasma de souris transgéniques après administration chronique du CHF 5074                                                                                                         | 116 |
| <b>Figure LXI</b>   | Analyse immunohistochimique de PS marquées avec un anticorps, dans le cortex frontal (images A à C) et l'hippocampe (D à F) de souris transgéniques traitées depuis 6 mois avec du CHF 5074 ou de l'ibuprofène et comparée au groupe contrôle | 117 |
| <b>Figure LXII</b>  | Progression en parallèle de la MA au niveau neurobiologique, des biomarqueurs et de la clinique                                                                                                                                               | 119 |



## **INTRODUCTION**

La Maladie d'Alzheimer, diagnostiquée pour la première fois en 1906 par un neuropsychiatre allemand « Aloïs Alzheimer », est déclarée « plus importante crise sociale et médicale du 21<sup>e</sup> siècle » devant l'augmentation du nombre de malades et du coût engendré pour la société...

La Maladie d'Alzheimer qui touche actuellement plus de 600000 malades en France (850000 personnes pour les démences), représente ainsi la première cause de démence dans les pays développés, avec une femme sur quatre et un homme sur cinq après 85 ans.

Les prévisions ne sont pas optimistes en raison du vieillissement de la population : le nombre de personnes atteintes aura doublé d'ici 2030 et aura plus que triplé à l'horizon 2050, portant à plus de 115 millions de cas attendus dans le monde.

En 2006, le coût annuel total lié à la Maladie d'Alzheimer en France était évalué à 4,5 milliard d'euros. En 2010, dans le monde : 462 milliard d'euros...

La Maladie d'Alzheimer nécessite une prise en charge globale et multidisciplinaire. Elle implique l'intervention des proches, des professionnels médicaux et paramédicaux, des institutions, engendrant des coûts importants pour la société. Le Plan Alzheimer mis en place par le gouvernement de 2008 à 2012, a comme objectif la mise en place de mesures axées sur la création de structures d'accueil, le diagnostic et la recherche scientifique.

Cette pathologie neurodégénérative est malheureusement encore irréversible et incurable. Les médicaments actuellement sur le marché ne font que retarder l'évolution de la maladie. D'ailleurs, la Haute Autorité de Santé a réalisé une réévaluation de ces molécules car leur efficacité est discutée, le service médical rendu serait faible.

La recherche scientifique avance et les perspectives d'un traitement curatif se rapprochent à grands pas. Une des cibles potentielles se nomme la Gamma-sécrétase. Il s'agit d'une enzyme clé dans la physiopathologie de la Maladie d'Alzheimer, responsable de la production du peptide A $\beta$ .

Il sera abordé les généralités sur la maladie, la pharmacologie de cette enzyme et les médicaments actuellement en essais cliniques. Deux classes de médicaments se distinguent par leur mécanisme d'action : les inhibiteurs de gamma-sécrétase, ayant comme inconvénient d'agir aussi sur d'autres substrats ; et les modulateurs de gamma-sécrétase.

# **Partie 1**

## **La Maladie d'Alzheimer**

# **1. La Maladie d'Alzheimer**

## **1.1. Définition**

La Maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative d'évolution progressive et irréversible, caractérisée par des lésions particulières du cortex cérébral : plaques séniles et dégénérescences neurofibrillaires [1].

Elle se manifeste par une altération progressive de la mémoire puis des autres fonctions cognitives, ayant un retentissement significatif sur la vie professionnelle, sociale et familiale ; des troubles psychocomportementaux et neurologiques sont le plus souvent associés ; et l'évolution se fait vers une perte d'autonomie. Elle caractérise donc un syndrome démentiel [1,2,3].

On distingue deux types de MA :

- les formes familiales, d'origine génétique, à début précoce (entre 30 et 65 ans) et d'évolution rapide, concernant moins de 1% des cas et appelées « Maladies d'Alzheimer vraies » ou « Démences préséniles » ;
- les formes sporadiques à début tardif (plus de 65 ans), se distinguant par une hétérogénéité clinique, concernant plus de 99% des cas de MA et appelées « Démences séniles type Maladie d'Alzheimer » [2].

## **1.2. Epidémiologie**

### ➤ *Le vieillissement de la population*

En 2007, les plus de 60 ans représentaient 13,1 millions d'individus en France (source Insee), sur une population totale de 61,9 millions : soit une personne sur cinq (21,2%). On estime qu'en 2050, ce chiffre atteindra les 22,4 millions, soit 32% de la population française (en émettant l'hypothèse que nous serons environ 70 millions), ce qui fera une personne sur trois. Cela laisse présager une augmentation des cas de MA [1].

### ➤ *Les démences*

Grâce notamment aux données de l'étude Paquid réalisée depuis 1989, une estimation du nombre de personnes atteintes de démence en France en 2004 a été réalisée (Tableau I). Il y aurait donc plus de 850 000 cas chez les plus de 65 ans [4].

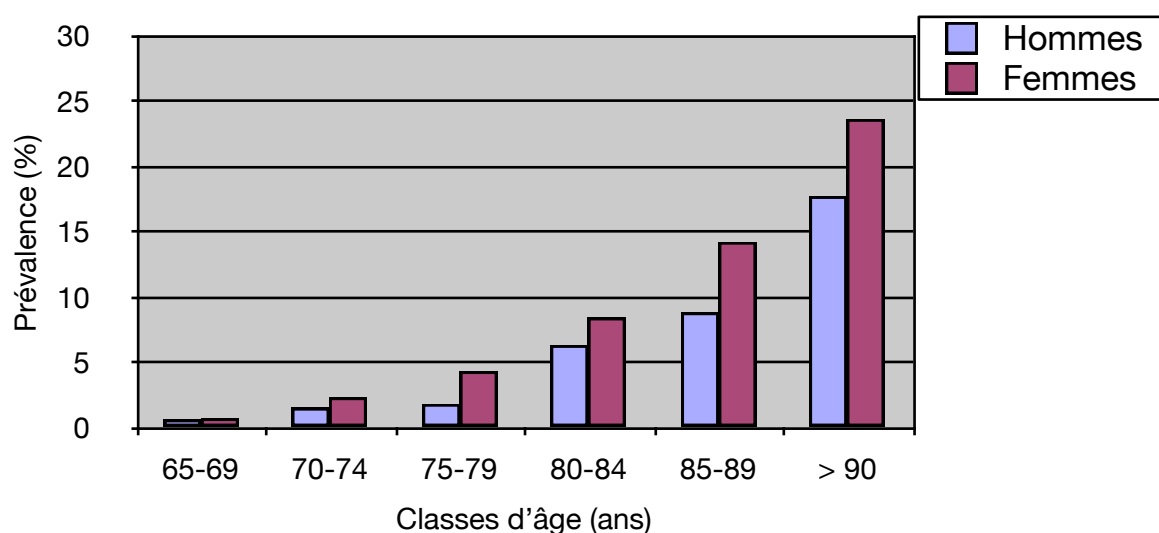
| Age                  | Hommes        | Femmes        | TOTAL         |
|----------------------|---------------|---------------|---------------|
| 65-69                | 9149          | 16561         | 25710         |
| 70-74                | 19711         | 44816         | 64527         |
| 75-79                | 65798         | 71349         | 137147        |
| 80-84                | 40491         | 121165        | 161656        |
| 85-89                | 71217         | 164112        | 235329        |
| > 90                 | 31841         | 200452        | 232293        |
| <b>Total &gt; 65</b> | <b>238207</b> | <b>618455</b> | <b>856662</b> |
| <b>Total &gt; 75</b> | <b>209347</b> | <b>557078</b> | <b>766425</b> |

**Tableau I** : Estimation du nombre de démences en 2004 en France métropolitaine [4]

Le terme « démence » (ou syndrome démentiel) regroupe les démences dégénératives (dont la MA est la cause la plus fréquente avec un taux de 75%), les non dégénératives (représentées majoritairement par les démences vasculaires) et les mixtes [2]. La MA est donc la forme la plus commune de démence chez les personnes âgées.

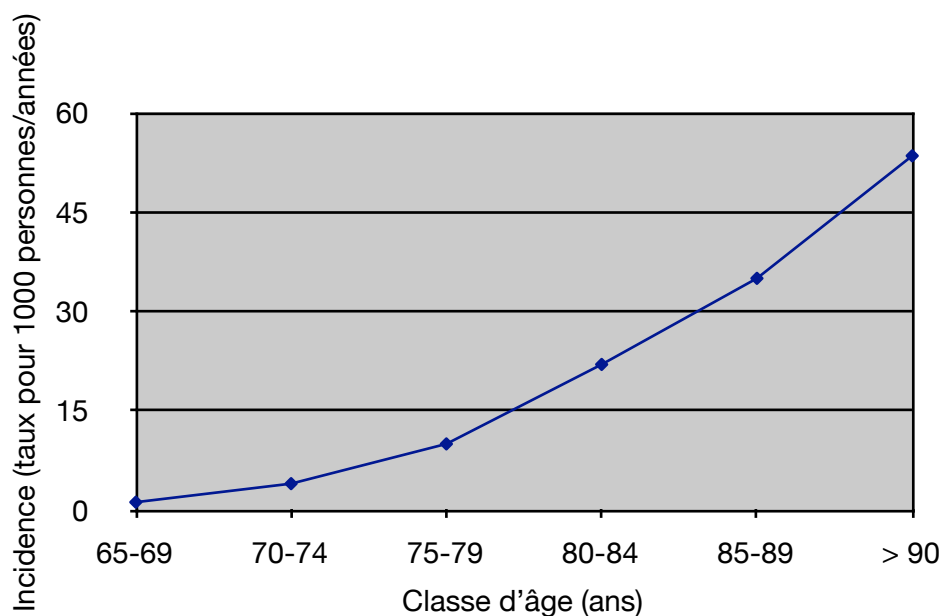
➤ *La Maladie d'Alzheimer en particulier*

La prévalence de la MA est estimée à 4,4% de la population de plus de 65 ans, c'est-à-dire environ 600 000 personnes atteintes en France (selon les données de l'étude européenne du groupe Euroderm). On constate que ce taux augmente avec l'âge (1 personne sur 6 est atteinte après 85 ans) et qu'il est plus élevé chez les femmes que chez les hommes après 70 ans (Figure I) [5]. Mais, il y a probablement un dénombrement incertain lié au diagnostic précoce difficile...



**Figure I** : Prévalence de la MA selon le sexe et l'âge [5]

L'incidence de la MA est estimée à 130 000 nouveaux cas par an en France. Le taux passe de 1,2/1000 personnes-années entre 65 et 69 ans à 53,5/1000 personnes-années après 90 ans (Figure II) [5].



**Figure II : Incidence de la MA selon l'âge [1]**

### ➤ Conclusion

En raison du vieillissement de la population, les démences (et en particulier la MA) sont devenues un problème majeur de santé publique. Et du fait d'une meilleure prise en charge, la durée de la maladie ainsi que le nombre de personnes atteintes ne cesseront d'augmenter. Une estimation à l'échelle mondiale, montre que le nombre de cas de démence serait de 35,6 millions (en 2010) avec 4,6 millions de nouveaux cas par an ; ce qui porte à plus de 115 millions de cas attendus d'ici 2050 [1,6] !

## 1.3. Facteurs de risque

### 1.3.1. Age

L'âge demeure le principal facteur de risque de MA sporadique (sans caractère familial). En analysant l'évolution de l'incidence, on remarque que celle-ci double par tranche d'âge de 5 ans à partir de 65 ans. L'avancement de l'âge représente donc un facteur de risque majeur [7,8].

### 1.3.2. Sexe féminin

Les femmes ont un risque plus élevé de développer la MA, particulièrement après 80 ans (selon les données de prévalence). On estime qu'il y aurait un homme pour 1,5 à 2 femmes. Cette différence peut s'expliquer par une espérance de vie supérieure, mais également par un déficit oestrogénique en période de post-ménopause (car les oestrogènes ont des propriétés anti-oxydantes, antiapoptotiques et neurotrophiques) [1,2,8].

### 1.3.3. Antécédents familiaux et génétiques

Des antécédents familiaux de démence augmentent le risque de développer la MA. Plusieurs études ont montré que le risque était multiplié de 2 à 4 par rapport à la population générale lorsqu'un des parents au premier degré présentait une démence [2,8].

Outre l'existence d'antécédents familiaux, plusieurs mutations génétiques ont été associées à la MA. Dans les formes « familiales » de MA, des mutations sur les chromosomes 21, 14 et 1 ont été retrouvées, la transmission se faisant selon un mode autosomique dominant (*voir chapitre 1.5.3*).

Une autre mutation sur le chromosome 19 a été décrite : celle-ci concerne le gène de l'Apolipoprotéine E (ApoE), impliquée dans le transport du cholestérol. Celui-ci présente 3 allèles ( $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ ,  $\epsilon 4$ ). L'isoforme ApoE4 (présent chez 15% de la population caucasienne) est un facteur de risque de MA tardive, qu'elle soit familiale ou sporadique, car il va favoriser l'agrégation du peptide amyloïde (principal constituant des plaques séniles) et modifier l'homéostasie du cholestérol au niveau du cerveau. Des études ont montré que le risque était multiplié par 3 chez les sujets hétérozygotes et par 12 chez les homozygotes. Inversement, l'ApoE2 (7%) semble être un facteur protecteur [1,2,8].

### 1.3.4. Faible niveau d'éducation

Certaines études ont montré qu'un bas niveau d'éducation était corrélé à un risque plus élevé de développer une MA. Mais, deux hypothèses se posent : avoir un haut niveau d'étude serait associé à une plus grande capacité de réserve cérébrale permettant de mieux résister à la maladie, ou il s'agirait peut-être d'un biais diagnostique défini par de moins bons résultats aux tests neuropsychologiques pour ceux ayant un bas niveau d'étude [1,7].

### 1.3.5. Terrain vasculaire

Les facteurs de risque vasculaires (impliqués dans la démence vasculaire), sont considérés comme des facteurs de risque de démence de type Alzheimer mais certaines études sont contradictoires. Parmi ces facteurs de risque, on peut citer : l'hypertension artérielle, l'athérosclérose, le diabète, les dyslipidémies, l'hypoperfusion cérébrale chronique due aux maladies coronariennes, et le tabac [1,8].

### 1.3.6. Autres

D'autres facteurs de risques ont été évoqués mais les résultats sont discordants selon les études. Néanmoins, certains se distinguent comme les antécédents de traumatismes crâniens, la dépression ou une concentration élevée d'Aluminium dans l'eau de boisson [1,8].

## **1.4. Facteurs de protection**

### 1.4.1. Activités et réseau social

La pratique régulière d'activités physiques, mentales et sociales semble avoir un effet favorable sur le déclin des fonctions cognitives et donc sur la survenue de la MA [1]. En illustration, voici le résultat de quelques études :

- entre un sujet ayant un seul type d'activité physique et un autre plus de 4 types différents, le risque de développer une démence est diminué par 2 ;
- « les activités qui nécessitent une planification des tâches et l'initiative » comme certaines activités de loisirs (voyager, jardiner, bricoler, tricoter) sont associées à un risque moindre de démence ;

- une faible richesse du réseau social augmente le risque de démence de 60% ;
- enfin, le statut marital joue un rôle protecteur dans la survenue de la MA car le risque est multiplié par 2 si le sujet vit seul [8].

#### 1.4.2. Nutrition

Tout d'abord, concernant les radicaux libres et leur rôle dans le processus du vieillissement : il est prouvé aujourd'hui qu'ils ont des effets délétères sur le métabolisme cérébral et donc une implication dans la physiopathologie de la MA. C'est pourquoi une consommation de nutriments anti-oxydants montre en général un effet bénéfique sur l'apparition de celle-ci. Par exemple, une consommation modérée de vin aurait un effet protecteur sur le risque de MA. Pour les anti-oxydants consommés dans l'alimentation comme la vitamine E, C, les caroténoïdes ou le sélénium (trouvés dans les fruits, les légumes ou les céréales), les études sont plus controversées, c'est pourquoi la prise d'anti-oxydants en prévention du vieillissement cérébral n'est pas encore préconisée.

Ensuite, concernant les acides gras : suivant leur nature ils vont influencer positivement ou négativement sur le risque de survenue de MA. La consommation d'acides gras poly-insaturés oméga-3, apportés par les poissons, a un effet protecteur sur le déclin cognitif prouvé par plusieurs études dont l'étude Paquid (ceci s'explique par des effets anti-thrombotiques et anti-athérosclérose). A l'inverse, une consommation élevée en acides gras poly-insaturés oméga-6 ou en acides gras saturés, trouvés dans la charcuterie, la viande, le fromage..., augmenterait le risque de développer une MA (par leurs effets vasoconstricteurs et pro-thrombotiques).

Enfin, concernant les folates et les vitamines B12 et B6 : certaines études montrent qu'une carence pourrait entraîner une élévation du taux d'homocystéine (facteur de risque vasculaire notamment au niveau des artères cérébrales) et donc une augmentation du risque de survenue de MA [1,7,8].

#### 1.4.3. Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens (AINS)

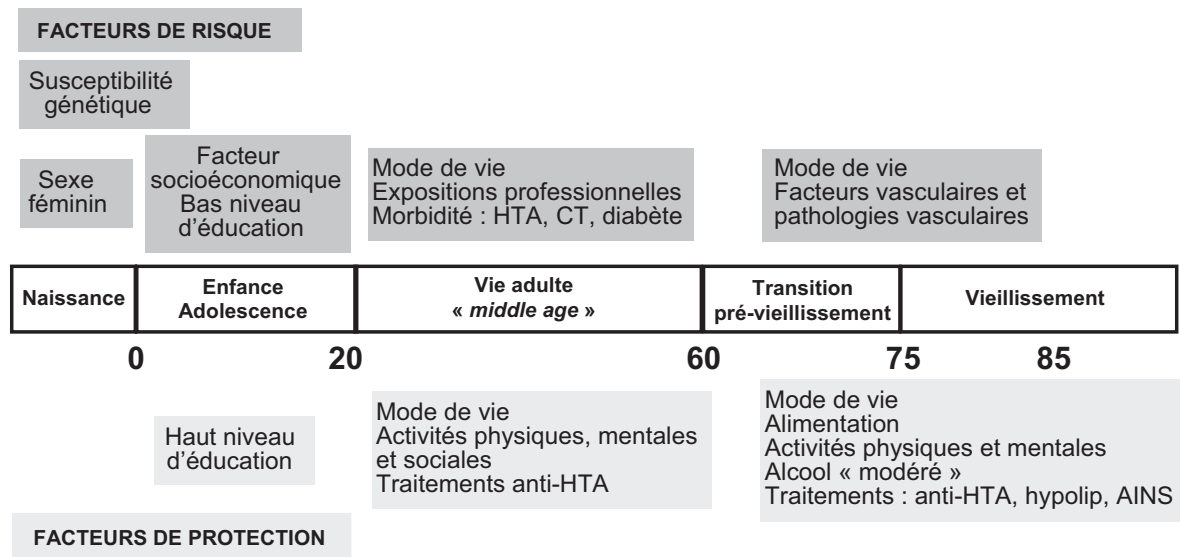
La prise régulière (à long terme) d'AINS pourrait avoir un rôle protecteur et réduire le risque de MA, selon certaines études rétrospectives. Ceci serait dû à l'implication d'un mécanisme inflammatoire, décrit au contact des plaques séniles et donc en faveur de survenue de MA. Cependant, les essais cliniques n'étant pas concluants (rapport bénéfice/risque insatisfaisant à cause de la toxicité rénale et gastro-intestinale), l'utilisation d'AINS en prévention n'est pas encore envisagée [1,7].

#### 1.4.4. Autres

D'autres traitements sembleraient, selon certaines études, avoir un effet protecteur contre le déclin des fonctions cognitives : il s'agit du traitement hormonal substitutif de la ménopause, des anti-hypertenseurs (inhibiteurs calciques), ainsi que des hypolipémiants (statines). Mais les résultats d'autres études sont contradictoires... Des essais cliniques sont en cours et permettront peut-être de conclure [1,8].

➤ *Conclusion*

La MA est une pathologie multifactorielle résultant de l'interaction de facteurs génétiques et environnementaux extrêmement divers (Figure III).



**Figure III : Schéma étiologique proposé pour la MA [1]**

Les résultats de toutes ces études épidémiologiques nous permettent de faire des hypothèses physiopathogéniques, cependant aucune ne conclue aujourd'hui que corriger ces facteurs puisse être une approche préventive ou curative à l'égard de cette maladie. On ne peut donc que conseiller l'adoption d'une bonne hygiène de vie.



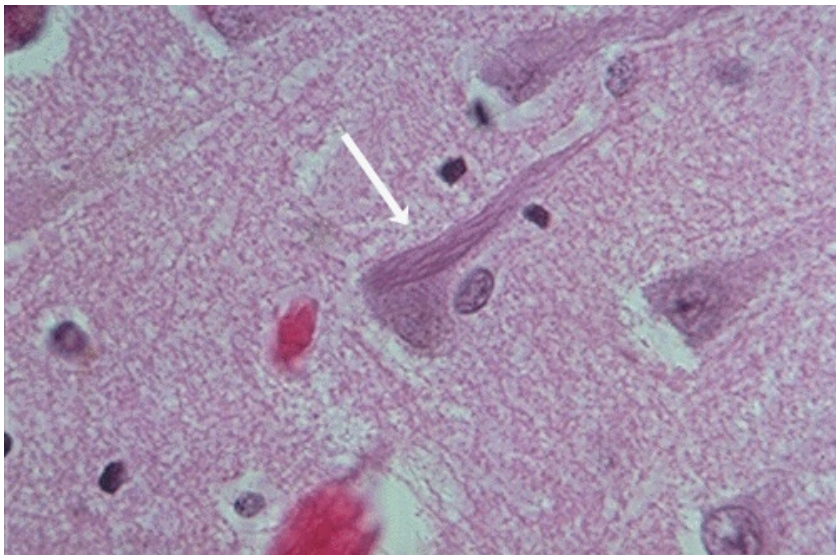
## 1.5. Physiopathologie

### 1.5.1. Lésions (point de vue histopathologique)

Des changements structuraux du cerveau sont à l'origine de la MA. On observe des Dégénérescences NeuroFibrillaires (DNF) et des Plaques Séniles (PS) (lésions positives), ainsi qu'une atrophie cérébrale (lésion négative). Les deux premières lésions sont essentielles au diagnostic de certitude de MA, c'est-à-dire qu'il n'existe pas de MA sans PS et DNF associées mais celles-ci peuvent néanmoins être retrouvées seules dans d'autres affections neurodégénératives et même au cours du vieillissement normal [1,7].

#### 1.5.1.1. Dégénérescences Neurofibrillaires

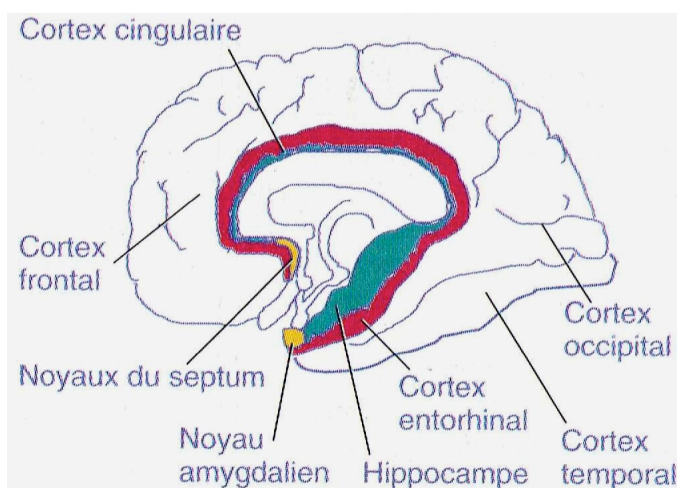
Les DNF sont des lésions intraneuronales constituées de protéines Tau anormalement phosphorylées. On observe alors, dans les corps cellulaires et les prolongements neuritiques des neurones, une accumulation de Paires de Filaments appariés en Hélice (PHF) (Figure IV).



**Figure IV :** Dégénérescences neurofibrillaires.

*Enchevêtrement de filaments, de 20 nanomètres de diamètre, ayant une conformation spatiale hélicoïdale et occupant la quasi-totalité du cytoplasme périnucléaire du neurone (microscopie optique) [9]. (voir flèche blanche)*

La topographie de ces lésions (Figure V) ainsi que leur chronologie d'apparition (Figure VI) suivent un schéma globalement identique.



**Figure V :** Vue sagittale interne d'un hémisphère cérébral [7].

Suivant « les 10 stades de la pathologie tau », la progression des DNF intéresse successivement les régions suivantes :

- le cortex entorhinal (ainsi que les noyaux du septum et le noyau basal de Meynert) ;
- l'hippocampe et l'amygdale ;
- puis progressivement toutes les aires corticales : associatives d'abord (situées dans le lobe temporal, pariétal et frontal) puis primaires dans les stades les plus sévères (aires motrices et sensorielles) [1,7].

Les trois premiers stades sont communs avec le vieillissement normal, ce qui ne permet pas de le différencier d'une MA débutante.

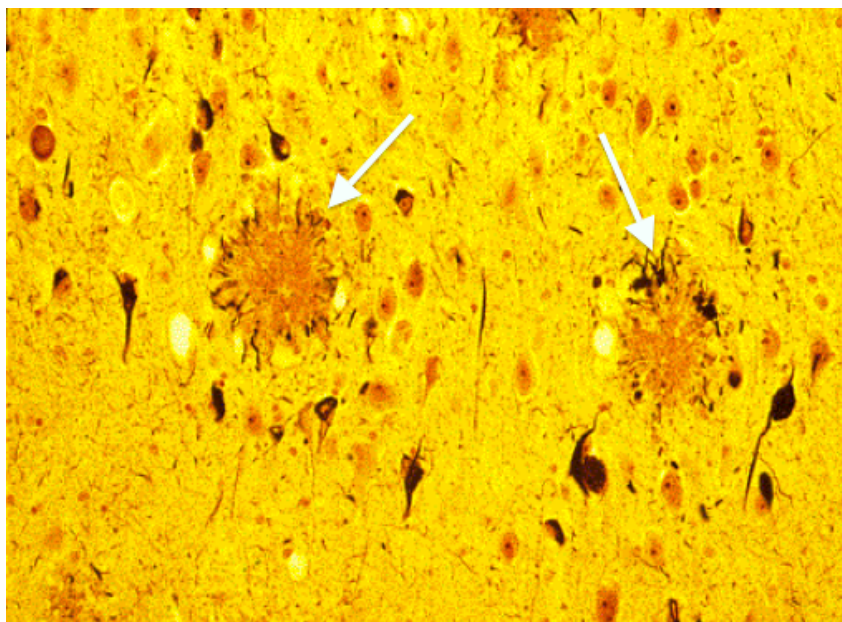


**Figure VI :** Séquence d'apparition des DNF au cours de la MA [1].

Sur le plan clinique, il est intéressant de noter que les lésions de DNF sont corrélées aux symptômes (ce qui n'est pas le cas pour les PS). C'est-à-dire que l'atteinte du cortex entorhinal est considérée comme un stade préclinique, l'atteinte limbique (hippocampe et amygdale) est à mettre en relation avec les troubles de la mémoire et les troubles psychocomportementaux précoces, enfin l'atteinte du cortex associatif est liée à la symptomatologie aphaso-apraxy-agnosique [2].

#### 1.5.1.2. Plaques séniles

Les PS, contrairement aux DNF, sont des lésions extraneuronales. Elles sont sphériques, compactes ; composées de protéine  $\beta$  amyloïde sous forme fibrillaire en leur centre (fibrilles de 5 à 10 nanomètres) et d'une couronne de prolongements nerveux axonaux chargés de protéine Tau, associée à des cellules gliales et des macrophages (Figure VII).



**Figure VII :** Plaques séniles. Dépôts sphériques et compacts d'amyloïde entourés d'un halo de neurites dystrophiques qui contiennent des DNF (marquage à l'argent de Bielschowsky). Cette section de l'amygdale d'un patient atteint de MA illustre les deux lésions histopathologiques de la maladie [10]. (voir flèches blanches)

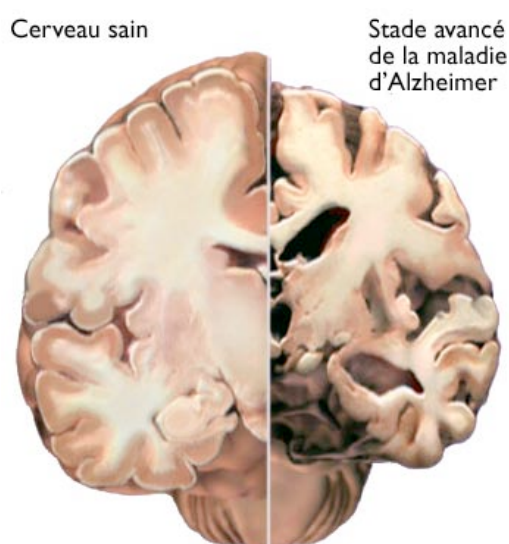
Ce type de PS est la plus classique : il s'agit de la « plaque mature » où la protéine  $\beta$  amyloïde se présente sous forme insoluble. Mais il existe aussi un autre type de PS dit « plaque primitive ou immature » constituée essentiellement d'un dépôt de protéine  $\beta$  amyloïde, sous forme soluble, et pouvant se présenter également en amas diffus de taille variable (c'est pourquoi on l'appelle aussi « plaque amyloïde ») [7].

Au niveau de la topographie, contrairement aux DNF, les PS peuvent être retrouvées dans la substance grise de nombreuses aires corticales quelque soit le stade de la maladie : autrement dit elles n'ont pas de topographie sélective. Sur le plan clinique, on observe une faible corrélation entre le nombre de PS et/ou de dépôts de protéine  $\beta$  amyloïde et le degré d'évolution de la maladie [7]. Ces derniers points remettent en cause l'hypothèse de la cascade amyloïde selon laquelle les PS sont à l'origine de la MA...

#### 1.5.1.3. Atrophie cérébrale

L'atrophie cérébrale observée dans la MA est l'expression macroscopique d'une perte synaptique et d'une mort neuronale. Elle représente l'aboutissement ultime des processus régressifs de cette maladie, il y a donc une corrélation avec la symptomatologie clinique (lorsqu'un patient commence à manifester des troubles mnésiques : un tiers des neurones ont déjà disparu !) [7].

A l'examen post-mortem, on observe habituellement une atrophie corticale associée à une dilatation des ventricules (Figure VIII). Cette atrophie corticale n'est pas homogène, elle évolue selon le même schéma que les DNF : l'hippocampe, l'amygdale et le lobe temporal sont principalement touchés (c'est pourquoi certains auteurs pensent que les DNF seraient à l'origine de ce changement structurel du cerveau) [1,2].



**Figure VIII :** Coupe transversale du cerveau.

*Comparaison entre un cerveau sain et celui à un stade avancé de MA où l'on peut observer les conséquences de la disparition d'un nombre infini de cellules nerveuses (rétrécissement du cortex, particulièrement marqué dans l'hippocampe, et dilatation ventriculaire) [11].*

La perte neuronale pourrait donc être provoquée par les DNF elles-mêmes car celles-ci sont retrouvées en grand nombre, à l'état de « fantôme », dans les mêmes régions. Lorsque les neurones, dont les DNF occupaient le cytoplasme, meurent : la membrane neuronale est rompue mais les DNF subsistent dans le milieu extracellulaire sous la forme de DNF « fantômes » grâce à leur insolubilité [1,7].

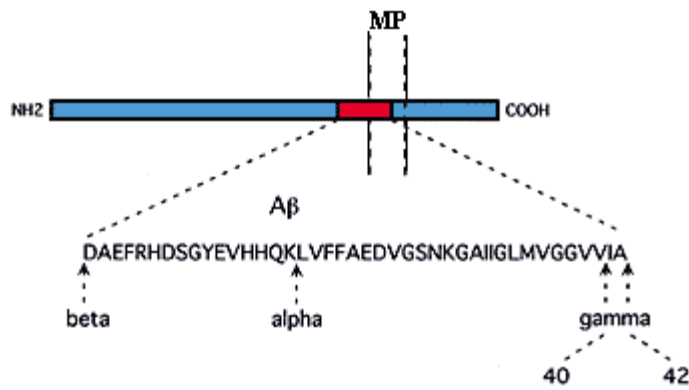


## 1.5.2. Biochimie de la MA

### 1.5.2.1. Amyloïdogénèse

Le peptide amyloïde ( $A\beta$ ) qui compose les PS, est issu du clivage d'une protéine précurseur des peptides amyloïdes (« Amyloid Precursor Protein » ou APP).

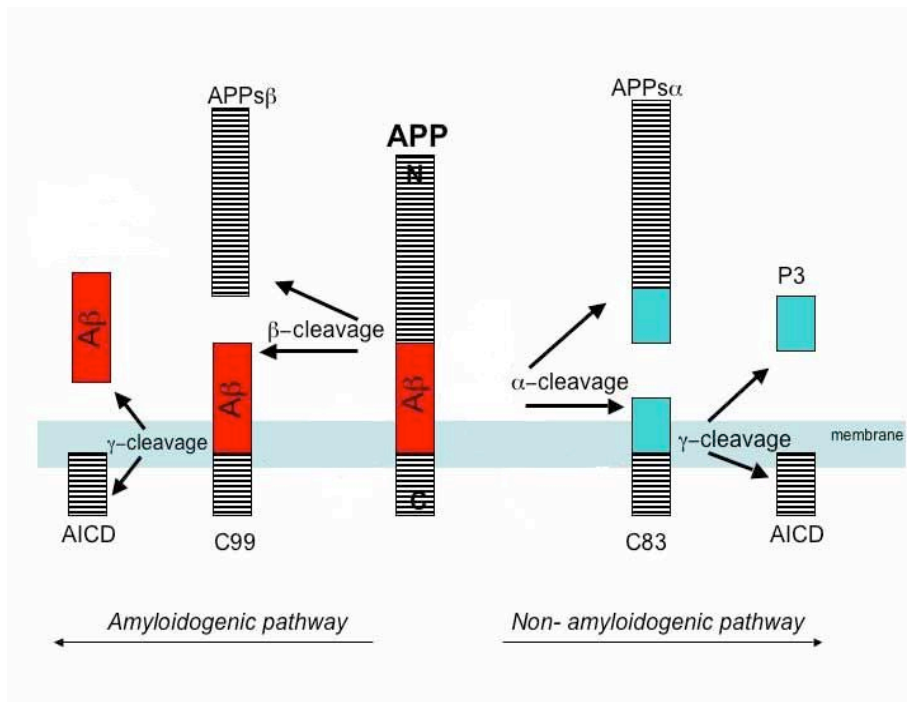
L'APP est une protéine transmembranaire de type I, d'environ 700 acides aminés, retrouvée au niveau de nombreuses cellules de l'organisme humain (mais plus abondamment au niveau des cellules nerveuses), aussi bien chez une personne saine que chez une personne malade (Figure IX). Après avoir été produite à partir du gène situé sur le chromosome 21 dans le noyau, l'APP va être transportée selon la voie de sécrétion du réticulum endoplasmique à l'appareil de Golgi puis à la membrane plasmique, où elle subira différents clivages enzymatiques [10].



**Figure IX :** Schéma de l'APP.

L'extrémité N terminale se situe dans le milieu extracellulaire ou dans le lumen du réticulum endoplasmique ou de l'appareil de Golgi et l'extrémité C terminale du côté du cytoplasme (MP = membrane plasmique). La séquence de l' $A\beta$  est agrandie et les sites de clivage par les différentes enzymes y sont indiqués [12].

En effet, il existe deux voies de maturation de l'APP : la voie « non-amyloïdogénique » et la voie « amyloïdogénique » (Figure X).



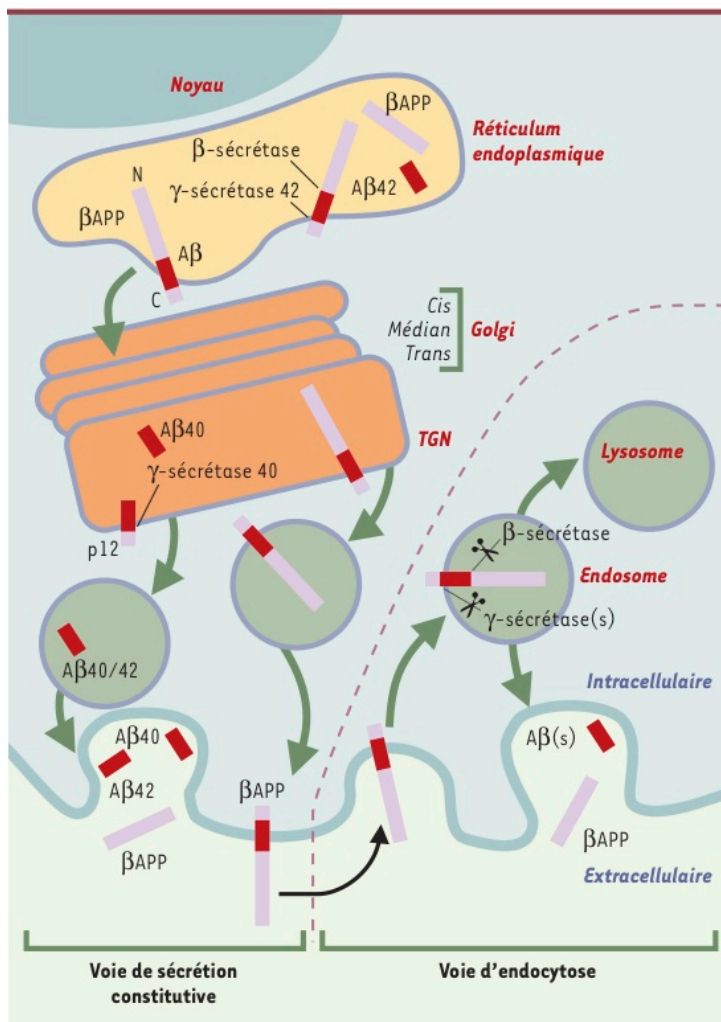
**Figure X :** Maturation physiopathologique de l'APP.

A droite, la voie non-amyloïdogénique faisant intervenir l' $\alpha$  et la  $\gamma$  sécrétase. Et à gauche, la voie amyloïdogénique avec la  $\beta$ - et la  $\gamma$ -sécrétase [13].

La première ne produit pas de peptides amyloïdes, elle débute par l'action d'une  $\alpha$  « alpha » sécrétase qui clive l'APP au milieu de la séquence de l'A $\beta$  (entre les acides aminés 16 et 17). Plusieurs  $\alpha$ -sécrétases peuvent agir : ADAM9, ADAM10 (A Disintegrin And Metalloprotease) ou ADAM17 (appelé aussi TACE pour Tumor necrosis Alpha Converting Enzyme) ; ces enzymes sont toutes des métalloprotéases appartenant à la famille des disintégrines. Suite à cette première coupure, deux fragments sont libérés : APP $\alpha$  et C83. Puis le fragment C83 subit un second clivage par une  $\gamma$  « gamma » sécrétase libérant ainsi deux nouveaux fragments : P3 (N-terminal peptide de 3 kDa ou A $\beta$ 17-40 ou 17-42) et AICD (APP IntraCellular Domain de 6 kDa).

La voie « amyloïdogénique » quant à elle débute par l'action d'une  $\beta$  « bêta » sécrétase qui clive la protéine APP à l'une des extrémités de la séquence d'A $\beta$  (côté N-terminal au niveau du premier acide aminé de A $\beta$ ) afin de générer deux fragments : l'APP $\beta$  et C99. Cette enzyme, la  $\beta$ -sécrétase (appelée aussi BACE1 pour  $\beta$ -site APP Cleaving Enzyme), est majoritaire dans le cerveau ; c'est pourquoi il s'agit du principal responsable de la production du peptide  $\beta$  amyloïde neuronal. Cette coupure côté N-terminal peut aussi se faire au niveau du 11<sup>ème</sup> acide aminé et génère alors des peptides amyloïdes plus courts que l'on retrouve principalement au niveau des PS. Il existe également une autre protéine ayant une activité  $\beta$ -sécrétase appelée BACE2, mais étant peu présente au niveau cérébral, son rôle dans la production du peptide A $\beta$  reste anecdotique.

Ensuite, intervient la même  $\gamma$ -sécrétase que dans la voie « non-amyloïdogénique » (ou plus précisément le complexe  $\gamma$ -sécrétase). L'activité de cette enzyme sur le fragment C99 (ou C89) va libérer deux nouveaux fragments : le peptide A $\beta$  (environ 4kDa) ainsi que AICD. Mais ce peptide A $\beta$ , suivant la nature de la coupure par la  $\gamma$ -sécrétase, peut être de 40 (A $\beta$ 40) ou de 42 acides aminés (A $\beta$ 42) : selon une proportion de 90% pour A $\beta$ 40 et de 10% pour A $\beta$ 42. Ceci est dû à une différence d'épaisseur de membrane entre les organites intracellulaires : la membrane du réticulum endoplasmique est plus importante que celle du trans-golgi ; et comme la  $\gamma$ -sécrétase clive toujours au milieu du domaine transmembranaire, dans le réticulum endoplasmique cette coupure se fait donc plus vers l'extrémité C-terminale entre les acides aminés 42 et 43 du peptide A $\beta$ . Une partie de l'APP peut échapper à ces clivages intracellulaires, mais sera à nouveau internalisée vers les endosomes afin d'être tout de même clivée et de libérer le peptide A $\beta$  (Figure XI) [1,7,10,14].



**Figure XI** : Voie amyloïdogénique de maturation de l'APP à travers les différents compartiments intracellulaires [14].

Il est intéressant de noter que les différents fragments libérés ne sont pas dénués d'activité. APP $\alpha$  et APP $\beta$  (libérés dans l'espace extracellulaire ou dans le lumen) auraient un rôle neurotrophique : ils agiraient comme facteurs neuroprotecteurs contre la toxicité engendrée par le peptide A $\beta$  ; et APP $\alpha$  stimulerait l'acétylcholine-transférase (synthétisant l'acétylcholine), ce qui limiterait l'atteinte du système de neurotransmission cholinergique. AICD (libéré dans le cytosol) quant à lui, serait un facteur de transcription (*voir chapitre 2.3.3*) qui modulerait l'expression et l'activité d'une enzyme de dégradation du peptide A $\beta$  : la Népilylsine (NEP). Enfin concernant le fragment P3, son rôle dans la MA ainsi que sa fonction physiologique sont encore indéterminés [15,16,17].

Le peptide A $\beta$  alors libéré dans l'espace extracellulaire du parenchyme cérébral, va adopter différentes structures secondaires. Tout d'abord sous forme monomérique (non neurotoxique), puis en petits oligomères (les plus toxiques) : ces deux formes étant encore solubles. Il s'assemblera ensuite en feuillets  $\beta$  plissés pour former des protofibrilles et des fibrilles insolubles.

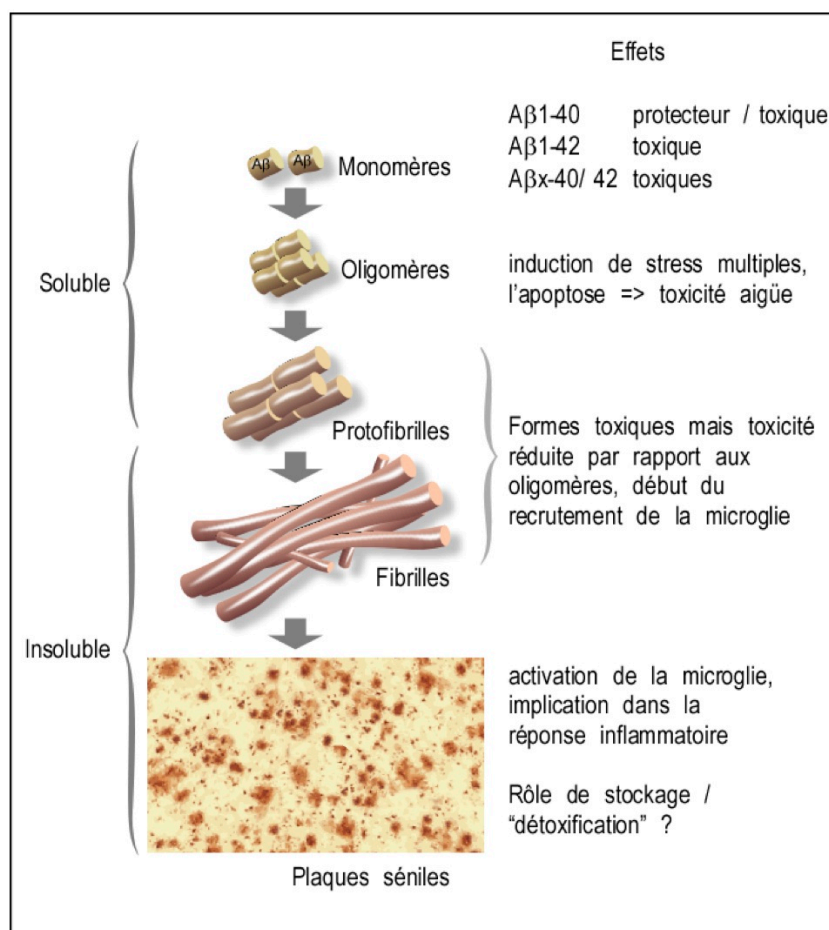
Sa localisation variera selon sa longueur : A $\beta$ 42 constituera plutôt les dépôts diffus car étant sous forme longue donc plus hydrophobe, l'agrégation sera plus rapide et par conséquent plus toxique. Ces dépôts seront retrouvés précocement que ce soit chez une personne malade ou saine. Par contre A $\beta$ 40 constituera plutôt le cœur des PS car étant sous forme courte, l'agrégation sera donc plus lente. Il existe aussi les formes tronquées (à l'extrémité N-

terminale) du peptide A $\beta$ , très largement minoritaires mais qui sembleraient les plus pathogènes.

Curieusement, A $\beta$ 40 à doses faibles restera plutôt sous forme monomérique et aura un rôle protecteur du à une activité anti-oxydante et par son action limitant l'agrégation d'A $\beta$ 42. Mais si son taux dépasse un certain seuil, l'association en oligomères puis en fibrilles dévoilera son rôle toxique.

La toxicité du peptide A $\beta$  diffère donc selon sa longueur et par conséquent son état d'agrégabilité, mais aussi selon sa conformation (Figure XII) [1,10,15].

Il a été observé, au voisinage des PS, des lésions des dendrites et des axones. Ceci est du à la toxicité du peptide A $\beta$  (induisant la synthèse de gènes apoptotiques et pro-inflammatoires) qui provoque une perturbation des connexions neuronales et une mort cellulaire.



**Figure XII : Formation des plaques séniles.**

*Représentation schématisée des différentes conformations du peptide A $\beta$  et de leurs toxicités associées [15].*

Le peptide A $\beta$ , en plus d'être le constituant des PS, est aussi retrouvé au niveau des parois des vaisseaux sanguins du Système Nerveux Central (SNC), ce qui limite l'apport des substrats énergétiques du cerveau, aggravant l'apparition des PS et des DNF: ce phénomène est appelé « angiopathie amyloïde ».

Ce peptide circule normalement dans le liquide céphalo-rachidien et le sang, mais sa concentration a tendance à diminuer avec l'évolution de la maladie car il est capté progressivement par les PS.

Il a également d'autres fonctions : par exemple dans l'homéostasie calcique, le métabolisme du cholestérol ou dans les mécanismes de survie cellulaire [1,7,15].

Physiologiquement, on observe un équilibre entre production et dégradation du peptide A $\beta$ . Celui-ci étant produit tout au long de notre vie, il sera également éliminé : dans un premier temps, il subira une dégradation enzymatique par la Néprilysine (NEP) ou l'ECE (Endothelin Converting Enzyme) ou l'IDE (Insulin Degrading Enzyme) ou l'ACE (Angiotensin Converting Enzyme) ou la MMEL (Membrane Metallo-Endopeptidase Like) ou la Plasmine. Puis dans un second temps, ses fragments seront éliminés du SNC vers le sang à travers la barrière hémato-encéphalique.

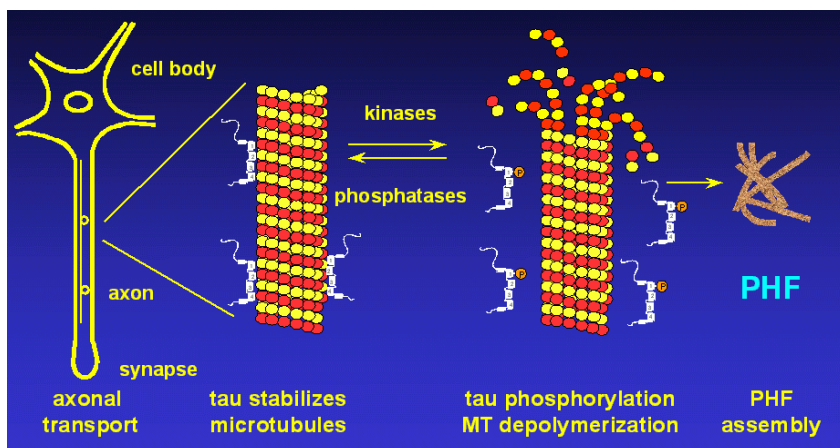
Lors du vieillissement pathologique, cet équilibre est rompu car les capacités de dégradation enzymatique du peptide A $\beta$  sont réduites (par opposition : dans les formes familiales de MA, il s'agit de la production du peptide A $\beta$  qui est augmentée du fait des mutations génétiques). L'expression de certaines enzymes de dégradation (dont la NEP) diminue avec l'âge et cette diminution est plus marquée dans certaines zones atteintes de la MA. C'est pourquoi les PS apparaissent lentement alors que la production de peptide amyloïde se fait tout au long de notre vie [1,15].

#### 1.5.2.2. Hyperphosphorylation de la protéine tau

Physiologiquement, après avoir été produite à partir du gène situé sur le chromosome 17 dans le noyau, la protéine tau va subir différentes modifications post-traductionnelles. La principale étant la phosphorylation, on peut citer également : l'ubiquitination, la glycation, la glycosylation, l'oxydation et la protéolyse. Par la suite, elle aura comme rôle la polymérisation et la stabilisation des microtubules (filaments du cytosquelette neuronal).

La protéine tau « non phosphorylée » interagit avec la tubuline et permet son assemblage en microtubules, alors que la protéine tau « phosphorylée » conduit au désassemblage des microtubules à l'autre extrémité. L'équilibre entre ces deux formes permet un transport intraneuronal et axonal correct essentiel au bon fonctionnement des neurones.

Lorsqu'on observe un déséquilibre de la balance « kinase/phosphatase » (soit une augmentation de l'activité kinase qui phosphoryle, soit une diminution de l'activité phosphatase qui déphosphoryle), la protéine tau sera hyperphosphorylée mais aussi phosphorylée anormalement : c'est-à-dire qu'il y aura plus de sites normaux de phosphorylation qui seront phosphorylés et apparition de nouveaux sites de phosphorylation. La conséquence de ce changement est l'association incorrecte de la protéine tau avec les microtubules, ce qui perturbe le fonctionnement des neurones et favorise son agrégation en dimères puis en Paires de Filaments Hélicoïdaux (PHF). Ce processus d'accumulation intraneuronale de conglo mérats de filaments anormaux, est appelé DNF. A terme, celui-ci entraînera la mort neuronale (Figure XIII).



**Figure XIII : Formation des PHF.**

Représentation schématique du rôle de la protéine tau dans la stabilisation des microtubules. Et conséquences de la phosphorylation anormale de cette protéine [18].



Les DNF sont retrouvées au cours du vieillissement normal (principalement dans la région hippocampique), mais lorsque le nombre de neurones et le nombre de régions atteintes dépassent un certain seuil, le vieillissement devient alors pathologique : le malade sera atteint d'une « tauopathie ». Si les DNF sont associées aux PS, il s'agira de MA [1,7,19,20].

#### 1.5.2.3. Inflammation

A l'origine, l'inflammation dans le cerveau de patients atteints de MA est un probable moyen de défense contre les dépôts amyloïdes car on observe au niveau des PS, une accumulation de cellules microgliales activées (macrophages et monocytes circulants du cerveau) qui ont le rôle de phagocyter et de détruire le peptide A $\beta$  insoluble.

Le processus est le suivant : A $\beta$  active le complément attirant les cellules microgliales et les astrocytes sur le site de dépôts des fibrilles. Il va ensuite se lier à des récepteurs membranaires (ex : RAGE) entraînant l'activation de facteurs de transcription nucléaires (ex : NF $\kappa$ B) qui vont activer ces cellules. Celles-ci secréteront de nombreux facteurs neurotoxiques comme des chimiokines, des cytokines pro-inflammatoires (ex : IL-1, IL-6, TNF $\alpha$ , TGF $\beta$ ), des espèces réactives de l'oxygène (ROS pour Reactive Oxygen Species), des protéases...

Ce mécanisme induit une réponse inflammatoire chronique qui participe à la neurodégénérescence de la MA par différents moyens :

- une neurotoxicité directe par libération de substances toxiques, ayant comme effet à terme la mort neuronale ;
- la stimulation de la synthèse d'APP, l'augmentation de l'expression de BACE 1 et la stimulation de l'activité  $\gamma$ -secrétase par les cytokines pro-inflammatoires, favorisant la libération d'A $\beta$  et donc la création d'un cercle infernal ;
- une conformation fibrillaire des peptides A $\beta$  favorisée par le complément et certaines protéines secrétées par les astrocytes ;
- une modification des kinases et des phosphatases, impliquées dans l'hyperphosphorylation de la protéine tau, par les cytokines pro-inflammatoires [10,21,22].

#### 1.5.2.4. Stress oxydatif

Au cours de différents processus métaboliques, il y a production de radicaux libres (ou ROS) dans toutes les cellules de l'organisme ; mais des mécanismes de défenses sont présents : des anti-oxydants naturels (vitamines A, C, E...) et une détoxification enzymatique (catalase, superoxyde dismutase...). Le fonctionnement des neurones dépend aussi du maintien de cet équilibre.

Lors de la MA, la production de ROS augmente fortement et à l'inverse, les mécanismes de défense sont défaillants (à cause d'une malnutrition par exemple) : les neurones se retrouvent donc dans un état de « stress oxydatif » et deviennent vulnérables aux lésions induites par les radicaux libres.

L'augmentation de ROS (dont l'anion superoxyde, les radicaux hydroxyls, le peroxyde d'hydrogène...) provient de différentes sources :

- les dépôts fibrillaires d'A $\beta$  provoquent des réactions d'oxydation et de peroxydation lipidique, à l'origine de ROS ;
- le peptide A $\beta$  entraîne l'activation de la microglie, produisant ainsi du monoxyde d'azote capable de réagir avec l'anion superoxyde ;

- le fer dont la concentration augmente à proximité des PS, favorise la production de radicaux libres...

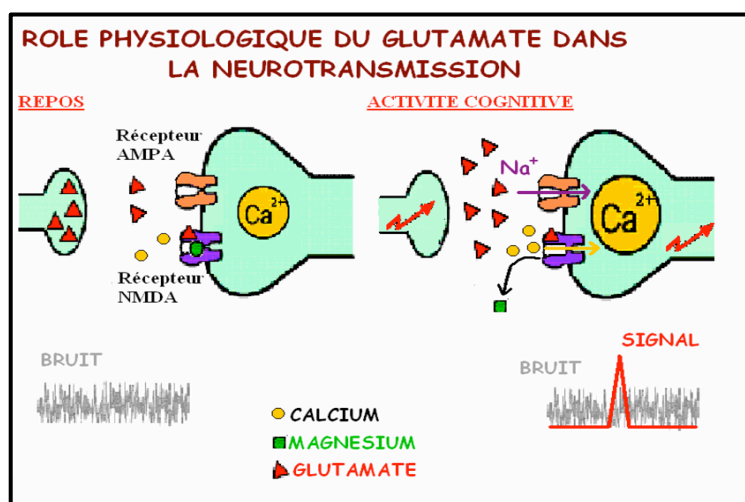
Ces ROS sont très toxiques et endommagent de nombreux composants cellulaires : les membranes, les protéines et même l'ADN ; et par conséquent ils entraînent la mort neuronale par apoptose. Ils ont aussi un rôle dans la dégénérescence neuronale car on peut observer un effet pro-agrégant sur A $\beta$  mais aussi sur tau, ainsi qu'un effet pro-inflammatoire par activation de NF $\kappa$ B [7,10,17].

#### 1.5.2.5. Excitation toxique

Le glutamate (acide glutamique) est le plus puissant neuromédiateur excitateur du SNC. Physiologiquement, il se lie à un récepteur glutamatergique post-synaptique, dont le plus courant est le récepteur NMDA (N-Méthyl-D-Aspartate) couplé à un canal ionique membranaire voltage-dépendant perméable au calcium.

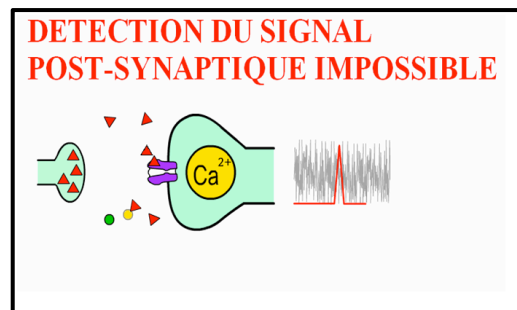
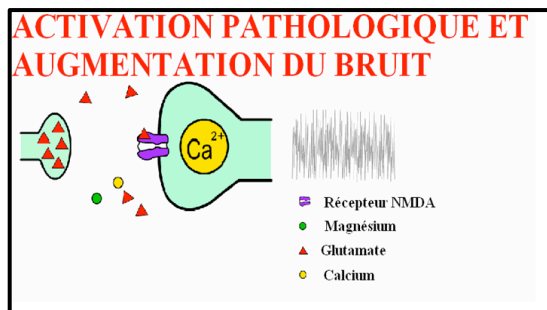
Au repos, le neurone post-synaptique est polarisé et des ions Mg<sup>2+</sup> bloquent le canal ionique des récepteurs NMDA. La concentration intracellulaire de Ca<sup>2+</sup> dans le neurone post-synaptique est faible, ainsi, le bruit de fond l'est aussi.

En cas d'activation, le neurone pré-synaptique libère transitoirement du glutamate qui va activer les récepteurs AMPA (voisins des NMDA), ceux-ci permettant l'entrée d'ions Na<sup>+</sup> et provoquant une dépolarisation de la membrane post-synaptique. Cette dépolarisation, à son tour, provoque le départ des ions Mg<sup>2+</sup>. Le canal ionique n'étant plus bloqué, il y a entrée des ions Ca<sup>2+</sup> dans le neurone post-synaptique et augmentation de la concentration cytosolique. Ce qui déclenche une cascade de signaux (Figure XIV).



**Figure XIV :** Fonctionnement normal d'une synapse glutamatergique [23].

Plusieurs facteurs dans la MA, vont perturber ce mécanisme : tout d'abord, le peptide A $\beta$  et les ROS réduisent la recapture synaptique du glutamate, et les ROS favorisent sa libération secondaire, ce qui provoque une surcharge en glutamate dans la fente synaptique (même au repos) et par conséquent, l'hyperstimulation de son récepteur (trop forte ou trop prolongée). Ceci va entraîner une entrée massive de calcium dans les neurones capable de déclencher des cascades de signaux inappropriés créant un bruit de fond important. En cas d'activation par le neurone pré-synaptique, le signal résultant n'est plus détecté car confondu avec le bruit de fond (Figure XV).



**Figure XV :** Fonctionnement d'une synapse glutamatergique dans la MA.  
Au repos et lors d'une activité cognitive [23].

Cette surcharge en calcium est à l'origine de la mort neuronale par apoptose due à la dégradation des membranes cellulaires, à la désorganisation du cytosquelette, à l'altération des fonctions mitochondriales, à l'activation de gènes mais également à la fragmentation de l'ADN... Ce phénomène, appelé « excitotoxicité », est le moyen par lequel les acides aminés excitateurs provoquent une neurodégénérescence.

Il faut savoir aussi que physiologiquement, le glutamate est impliqué dans les processus de mémorisation, d'apprentissage et de motricité ; c'est pourquoi toute altération de la neurotransmission glutamatergique sera associée à une diminution des fonctions cognitives [10,17,23,24].

#### 1.5.2.6. Neurotransmission

Le perte neuronale caractérisant la MA touche particulièrement et précocement les neurones cholinergiques. Parmi les structures cholinergiques, le noyau basal de Meynert (assurant l'innervation cholinergique du cortex) est très lésé : il perd jusqu'à 70 – 80% de sa population neuronale. A ce niveau, mais aussi au niveau du néocortex et de l'hippocampe, le déficit de certains marqueurs caractéristiques de cette affection est observé : il s'agit de l'acétylcholine (neuromédiateur) et de l'acétylcholine transférase (enzyme de synthèse). Par contre, les récepteurs cholinergiques (muscariniques et nicotiniques) sont relativement préservés. La cause de cette déplétion en neuromédiateur est, selon certaines études, le peptide Aβ : étant donné que celui-ci est neurotoxique pour les neurones cholinergiques, qu'il bloque (sous sa forme soluble) le relargage d'AcétylCholine (ACh) et qu'il est aussi capable (sous sa forme agrégée) de bloquer le flux de choline indispensable à la synthèse d'ACh.

Le système cholinergique est impliqué dans les processus mnésiques (dont l'apprentissage), l'attention et dans des phénomènes neuropsychiatriques comme hallucination, apathie ou désinhibition. On peut aussi noter que l'hippocampe a un rôle majeur dans la mémorisation, c'est pourquoi l'atteinte des neurones cholinergiques à ce niveau explique que la MA se manifeste dès le début par des troubles mnésiques. Une corrélation a été montrée entre intensité des troubles cognitifs, déficit en acétylcholine transférase corticale, lésions du noyau basal de Meynert et nombre de DNF : c'est ce qu'on appelle la « théorie cholinergique » de la MA.

Les atteintes cérébrales de la MA ont aussi des répercussions sur d'autres systèmes de neuromédiation : le système noradrénergique (impliqué dans l'attention, l'analyse élaborée d'une information et l'éveil cortical) et le système sérotoninergique (impliqué dans les processus cognitifs et le sommeil). Concernant le système dopaminergique (impliqué dans la motricité et le comportement), il est relativement respecté dans la MA, mais particulièrement touché dans la maladie de Parkinson [7,17].

### 1.5.3. Génétique

La composante génétique de la MA est assez complexe. Dans les formes « sporadiques », le gène de l'ApoE n'est qu'un facteur de susceptibilité (*voir chapitre 1.3.3*). Alors que dans les formes « familiales », trois gènes ont été clairement identifiés. Des mutations sur ceux-ci seront forcément responsables du développement d'une MA précoce car la transmission se faisant selon un mode autosomique dominant.

Le premier gène, impliqué dans certaines formes familiales de MA, à avoir été découvert est celui de l'APP situé sur le chromosome 21. Environ trente mutations ont été identifiées, responsables de 15 à 20% des cas : parmi les plus courantes, on peut citer les mutations « Dutch », « Flemish » ou « Arctic »... Celles-ci entraînent le changement d'un ou deux acides aminés sur la protéine APP et sont presque toujours situées au niveau ou à proximité des sites d'action des secrétases. Ce qui interfère donc avec le processus de protéolyse. Ce gène a été découvert, entre autre, grâce aux patients atteints de trisomie 21 (ou syndrome de Down) développant très précocement des lésions de type Alzheimer.

Le second gène identifié est celui de la Préséniline 1 (PS1) situé sur le chromosome 14. PS1 est une protéine appartenant au complexe  $\gamma$ -secrétase (*voir chapitre 2*). Plus de 170 mutations ont déjà été révélées à ce jour, responsables d'environ 70% des cas de formes familiales. PS1 seule joue aussi le rôle de canal calcique (de fuite) donc sa forme mutée modifie ses capacités et entraîne une surcharge en calcium dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi, à l'origine de l'apoptose. Elle augmente également la sensibilité des cellules aux agents pro-apoptotiques.

Le troisième gène découvert est celui de la Préséniline 2 (PS2), situé sur le chromosome 1. Une dizaine de mutations seulement ont été identifiées pour l'instant. La PS2 mutée a aussi un rôle pro-apoptotique.

Les mutations pouvant intervenir sur ces trois gènes, auront des conséquences semblables : une production de peptide A $\beta$  augmentée, un ratio A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 augmenté en faveur d'A $\beta$ 42 (plus toxique) et enfin la mort neuronale. Attention, pour certaines mutations, il n'a pas encore été mis en évidence de pathogénicité !

Dans 10% des cas de formes familiales de MA, la mutation causale n'est pas connue (des études tendent à prouver un lien avec les chromosomes 9, 10 et 12).

On peut noter qu'il existe bien des mutations de la protéine tau, mises en cause dans de nombreuses maladies neurodégénératives mais jamais à l'origine de MA. Ce qui confirme l'importance du peptide A $\beta$  au centre du processus pathologique [1,7,10,15].

#### 1.5.4. Conclusion

La physiopathologie de la MA est très complexe. Comment tous ces mécanismes interagissent entre eux et dans quel ordre interviennent-ils, pour aboutir à la symptomatologie clinique de la MA ? L'étude des trois lésions élémentaires (PS, DNF et atrophie cérébrale) a permis de formuler deux hypothèses étiopathologiques : la « cascade amyloïde » et la « dégénérescence du cytosquelette neuronal ». Malheureusement nos connaissances s'avèrent partielles et certains cas de MA restent inexpliqués car celle-ci étant spécifiquement humaine, les modèles de recherche actuels (animaux ou cellulaires) demeurent insuffisants [7,25].

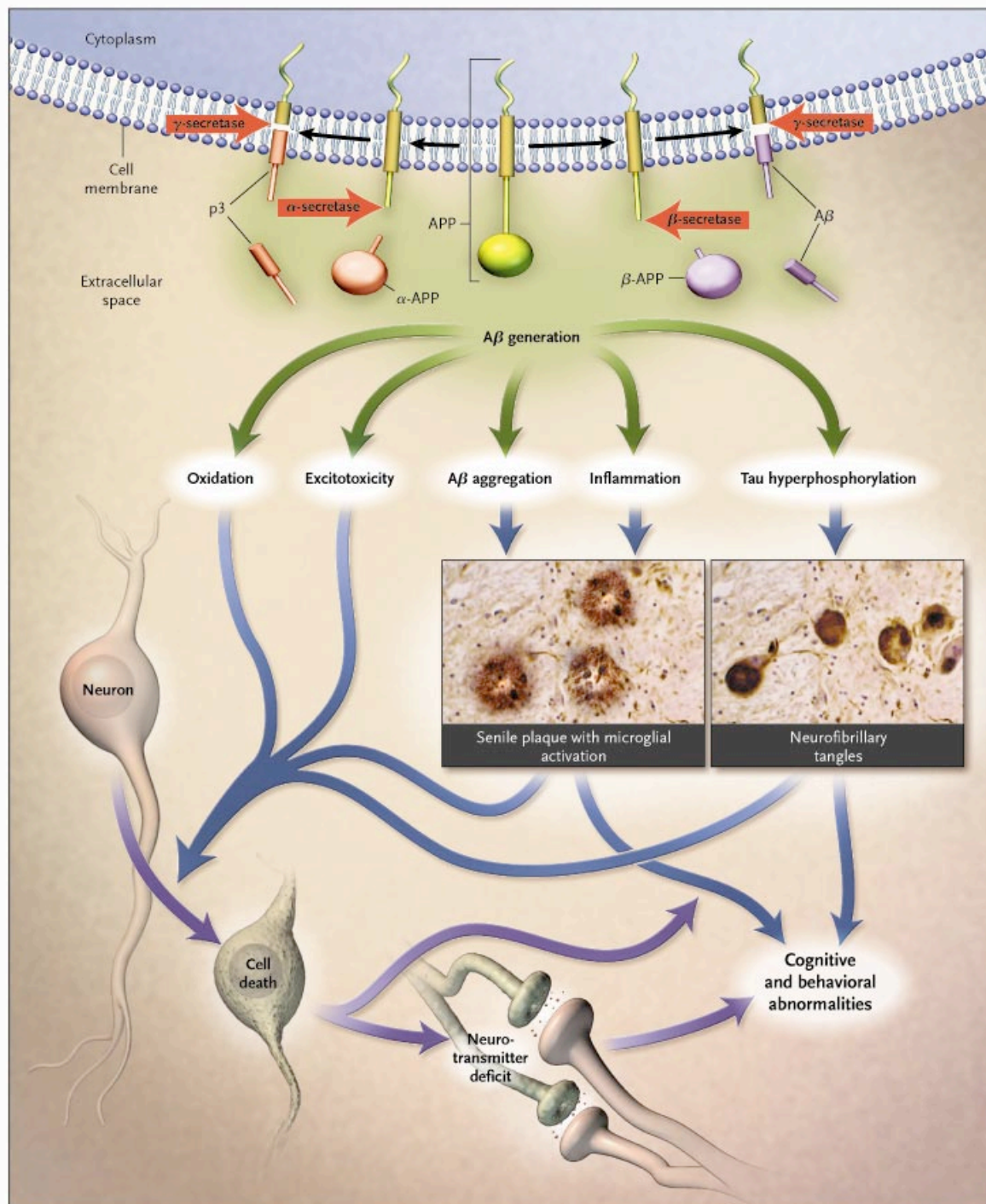
La théorie de la « cascade amyloïde » repose sur le rôle central des dépôts de peptide A $\beta$  (Figure XVI). L'argument majeur en faveur de cette hypothèse est l'origine génétique des formes familiales de MA : des mutations différentes sur des gènes de protéines différentes ont en commun la modulation de la production de ce peptide. Concernant les formes sporadiques, l'origine exacte n'est pas connue : il s'agit d'une origine multifactorielle (peut-être en partie due à un stress neuronal ?). Dans les deux cas, on observe la formation de dépôts amyloïdes dans le cerveau des patients, aboutissant au déclenchement de la cascade :

- activation des astrocytes et des cellules microgliales entraînant une réaction inflammatoire ;
- production de radicaux libres ;
- rupture de l'homéostasie ionique neuronale causant un phénomène d'excitotoxicité ;
- perte synaptique et déficit en neurotransmetteurs ;
- synthèse de protéines de dégradation (caspases) entraînant l'apoptose neuronale.

Il existe une relation directe entre l'accumulation extracellulaire du peptide A $\beta$  et l'accumulation intracellulaire de la protéine tau : selon des études in vitro, A $\beta$  entraîne une accumulation de calcium intracellulaire qui va activer une protéase (la calpaïne) capable d'agir sur les kinases hyperphosphorylant la protéine tau ; A $\beta$  entraîne également l'augmentation de la production de ROS qui favorisent l'hyperphosphorylation et la dimérisation de tau.

Les DNF et la mort neuronale résulteraient donc de la neurotoxicité du peptide A $\beta$ . La mort cellulaire par apoptose serait induite de deux façons différentes : soit le peptide A $\beta$  agirait en se liant aux récepteurs de mort (voie extrinsèque) ; soit celui-ci (qui selon des études récentes, en plus de constituer les PS, pourrait s'accumuler dans le cytoplasme des cellules) induirait un stress mitochondrial (voie intrinsèque).

Cependant, bien que cette hypothèse de la « cascade amyloïde » soit actuellement la plus acceptée, certaines observations la contredisent : les lésions de DNF sont mieux corrélées aux zones de perte neuronale et synaptique ainsi qu'aux stades de démence ; et lors du vieillissement normal de nombreuses PS peuvent être présentes sans forcément de DNF associées [1,7,25] !



**Figure XVI :** Hypothèse de la cascade amyloïde [3].

Une seconde théorie est alors née : celle de la « dégénérescence du cytosquelette neuronal » suggérant un rôle central de la protéine tau. Lors du vieillissement physiologique, on observe que certaines régions du cerveau deviennent plus vulnérables (cortex entorhinal, hippocampe, noyau basal de Meynert...). Les DNF pourraient alors plus rapidement toucher les neurones de ces zones. Il en découlerait ainsi une succession d'événements (ralentissement du transport axonal, déstabilisation du cytosquelette, perte synaptique, baisse de libération de neurotransmetteurs...) aboutissant à la mort neuronale. Dans ce cas-ci, l'accumulation du peptide A $\beta$  résulterait de la désagrégation du réticulum endoplasmique et de l'appareil de

Golgi. Un argument en faveur de cette hypothèse est ressorti d'études in vitro : des neurones dépourvues de protéine tau deviennent résistantes à la toxicité du peptide A $\beta$ , ce qui prouve que la présence de tau est nécessaire. Cependant, dans d'autres démences, on peut observer des DNF seules sans la présence de peptide A $\beta$  associée [7].

Ces deux théories étant controversées, nous nous dirigeons de plus en plus vers une vision intégrée de la cascade neuropathologique. Il existerait un seuil de tolérance à des facteurs génétiques et environnementaux qui diminuerait avec l'âge, les cellules vulnérables à la MA auraient probablement de base un seuil de tolérance plus bas que d'autres cellules. Au début, ces facteurs se combineraient pour influencer indépendamment la cascade amyloïde et la pathologie tau, cependant des phénomènes d'adaptation compensatrice s'opèreraient avec des mécanismes de réparation et de défense. Puis à partir d'un niveau critique, une synergie entre les deux processus dégénératifs favoriserait leurs atteintes neurologiques (renforcée par des phénomènes inflammatoires, stress oxydatif, etc...). Le cortex cérébral serait envahi selon un chemin de connexions nerveuses très précis et hiérarchisé ; au fur et à mesure, cela provoquerait une altération de toutes les fonctions cognitives pour finalement aboutir à la démence [7,26].

## **1.6. Tableau clinique**

La symptomatologie clinique de la MA se caractérise par des troubles cognitifs associés à des troubles du comportement. Le début de la maladie est insidieux et marqué le plus souvent par des troubles mnésiques d'installation progressive.

### **1.6.1. Troubles cognitifs**

#### **1.6.1.1. Troubles de la mémoire**

Les troubles mnésiques apparaissent très précocement mais peuvent rester longtemps inaperçus car mis sur le compte du vieillissement normal ou dissimulés par les patients eux-mêmes. L'entourage du malade commence à s'inquiéter quand celui-ci présente une désorientation et une perturbation de la vie quotidienne (oubli de rendez-vous, de trajets, d'informations importantes récemment apprises, par exemple au téléphone). Ces troubles, constituant le principal motif de consultation, portent tout d'abord sur le passé récent puis progressivement concernent les acquisitions anciennes.

On distingue différents types de mémoires :

- la plus rapidement altérée est la mémoire à long terme « épisodique » : elle permet d'enregistrer des événements personnels dans un contexte spatio-temporel précis (mariage, naissance de ses enfants, accident de voiture...). Cela se traduit par une capacité d'apprentissage de plus en plus réduite et une diminution des capacités de rappel d'informations apprises ultérieurement, bien sûr les souvenirs les plus anciens seront mieux préservés ;
- la mémoire à long terme « sémantique » sera touchée progressivement. Il s'agit de la mémoire des connaissances générales (calcul, langue, histoire, géographie...). En début d'évolution elle reste intacte, ensuite on observe une dégradation car les informations sont plus difficiles d'accès (ce qui se traduit par une incompréhension de la signification des mots, une incapacité à réaliser des appariements catégoriels ou fonctionnels) et enfin dans le stade tardif, l'altération profonde de la compréhension du langage montre une perte des règles de grammaire ;



- la mémoire à long terme « procédurale » sera relativement préservée. Elle permet de cuisiner, de faire du vélo, de jouer au tennis... Autrement dit, il s'agit de la mémoire des habiletés cognitives et gestuelles, des automatismes ;
- quant à la mémoire à court terme, celle qui permet de garder une information le temps de l'utiliser (un numéro de téléphone le temps de le composer), son atteinte est assez hétérogène suivant les patients mais survient généralement assez tôt.

Les troubles mnésiques sont bien corrélés à la progression des DNF dans le SNC : l'hippocampe (touché précocement) est primordial dans l'apprentissage d'informations épisodiques nouvelles, les régions néocorticales (dont le lobe temporal) ont un rôle majeur dans le stockage d'informations anciennes (sémantiques), par contre le cervelet et les noyaux gris impliqués dans la mémoire procédurale seront épargnés (sauf en fin d'évolution) [2,27,28].

#### 1.6.1.2. Troubles du langage

Les troubles du langage sont observés dans 50% des cas dès le début de la maladie. Ils concernent : d'une part l'atteinte du langage oral, dénommée « aphasie », où il manque des mots dans le langage spontané (difficultés à trouver le mot juste) puis le discours devient incohérent pouvant aller jusqu'au mutisme ; et d'autre part l'atteinte du langage écrit, initialement une « dysorthographe » (par exemple, baptême devient batême, oignon devient oinion...) puis apparition d'une « dysgraphie » (ratures, utilisation préférentielle de lettres capitales, problèmes dans l'agencement des lettres...) et évolution vers une « agraphie » (écriture illisible). La lecture cependant est relativement préservée (tout au moins au stade initial). Ces troubles du langage sont à l'origine d'une diminution de la compréhension [2,27,29,30].

#### 1.6.1.3. Troubles praxiques

Les troubles praxiques, se manifestent par l'incapacité à effectuer des mouvements adaptés malgré la force musculaire (dire au revoir, envoyer un baiser...), l'impossibilité à manipuler des objets usuels reconnus (téléphone, couverts, appareils électroménagers, télécommande, ciseaux, stylo), la difficulté de réalisation de gestes simples élémentaires de la vie quotidienne (comme la toilette, l'habillage : erreurs dans le positionnement des vêtements, gilet à l'envers...mais les gestes fins comme le boutonnage sont préservés). Ces « apraxies » n'inaugurent pratiquement jamais la MA ; néanmoins, on les observe constamment au cours de l'évolution rendant le moindre geste quotidien très difficile à réaliser [2,27].

#### 1.6.1.4. Troubles gnosiques

Les troubles gnosiques se caractérisent par l'impossibilité de reconnaître des objets ou des messages, autrement dit, il s'agit de la perception. On distingue l'« agnosie visuelle », l'« agnosie auditive » et l'« astéréognosie » (le toucher). Ces troubles portent aussi progressivement sur la reconnaissance de soi et des autres (« prosopagnosie ») : le patient ne reconnaît plus ses proches ni lui-même (dans le miroir ou sur des photos), l'entourage est perçu comme étranger et génère un comportement agressif de la part du patient. Concernant la perception de la maladie (« anosognosie »), au stade initial ceci entraîne chez certains une anxiété ou un syndrome dépressif puis le patient perd assez vite conscience de ses troubles. Par contre la perception de la douleur est toujours là mais la personne est incapable de la décrire, ni de la localiser : elle n'a pas mal, elle est mal [2,27,31].

L'ensemble de ces trois derniers troubles (langage, praxie, gnosie) définit le syndrome aphaso-apraxy-agnosique caractéristique de la MA.



#### 1.6.1.5. Troubles de l'orientation

Au début, il s'agira plutôt d'une désorientation temporelle (ne pas se rappeler de la date du jour, de la saison) car en fait chez les patients atteints de MA tout est concentré sur le moment présent et la personne peut vivre son passé sur l'instant (par exemple : dire qu'elle attend sa mère pour aller faire des courses, *alors que celle-ci est décédée*) ! Progressivement, le patient présentera aussi une désorientation spatiale (comme se perdre dans la rue, ne pas retrouver sa chambre) illustrée plus tard par un comportement d'errance, de déambulation incessante. Ces pertes de repères sont exacerbées par les changements d'habitudes, dont l'entrée en institution [31].

#### 1.6.1.6. Troubles intellectuels

L'altération des processus intellectuels élaborés se caractérise par l'incapacité à anticiper, planifier et réaliser des tâches plus ou moins complexes, à résoudre des problèmes ; des difficultés face aux notions abstraites, aux décisions... Ces troubles intellectuels (ou troubles des fonctions exécutives et du jugement) ont un certain retentissement sur la vie quotidienne et/ou la vie professionnelle et donc sur l'autonomie du patient [27].

### 1.6.2. Troubles psycho-comportementaux

Les perturbations cognitives s'accompagnent habituellement (et sont parfois précédées), d'une détérioration du contrôle émotionnel, du comportement social et de la motivation.

Ces troubles du comportement et ces changements d'humeur (dus directement à des lésions neuropathologiques ou à des étiologies environnementales, psychologiques, somatiques ou iatrogènes) se manifestent par :

- un syndrome dépressif et/ou anxieux (notamment peur d'être abandonné) ;
- des comportements passifs (activité réduite, affectivité émoussée, apathie, indifférence, désintérêt, baisse de motivation) ;
- des comportements hyperactifs (agitation, euphorie, irritabilité, fugue, agressivité) ;
- des perturbations du comportement alimentaire (anorexie ou quelquefois boulimie) ;
- des troubles du rythme veille-sommeil ;
- plus rarement, des troubles psychotiques pouvant apparaître quand la maladie est évoluée (hallucinations, idées délirantes).

Plus de 80% des patients atteints de MA vont présenter ces symptômes. Curieusement, même certains apparemment opposés sont souvent associés entre eux. Difficilement acceptés par la famille, ces troubles sont souvent à l'origine du placement du malade en institution [1,27,28,32].

### 1.6.3. Autres troubles somatiques

D'autres manifestations sont susceptibles d'accompagner le tableau clinique étudié précédemment. Tout d'abord une incontinence sphinctérienne (très fréquente au stade de démence évoluée), des troubles de la déglutition, une épilepsie, des troubles de l'équilibre et de la marche (source de chutes) et enfin des myoclonies et des signes extrapyramidaux (rigidité avec plus ou moins akinésie) [27,28].

#### 1.6.4. Evolution de la maladie

L'évolution moyenne de la MA, à partir du moment où elle est diagnostiquée jusqu'au décès, est de 8,5 ans. Le taux de décès à 1 an se situe à 24%, à 5 ans il est de 72%. Donc 30% des patients vivent plus de 10 ans !

##### 1.6.4.1. Stade préclinique

En amont du diagnostic, la phase préclinique évolue déjà depuis plusieurs années, mais en l'absence de marqueurs diagnostiques facilement utilisables, il est impossible d'en préciser la durée. Durant cette période, les lésions histologiques sont silencieuses et confinées au cortex entorhinal. Généralement asymptomatique, on peut néanmoins observer quelques retentissements perceptibles : comme dans l'utilisation du téléphone, des moyens de transport, la prise des médicaments, la gestion du budget... [1,2].

Un certain nombre de patients (environ 10% des sujets de plus de 65 ans) présentent avant le stade initial, des troubles de la mémoire isolés sans démence. Cet état d'attente pourrait correspondre au « Mild Cognitive Impairment » (MCI) constituant un facteur de risque d'évolution vers la MA (12% par an des patients atteints initialement de MCI la développeront, pour les autres leur MCI peut se stabiliser ou même régresser). Ce qui le différencie d'une MA avérée, est : d'une part la plainte mnésique émanant du patient, et d'autre part le fonctionnement cognitif global restant satisfaisant. Par contre, les résultats des tests mnésiques sont anormaux pour leur âge [27,33].

##### 1.6.4.2. Stade initial

Le stade initial de la MA, durant généralement entre 2 et 4 ans, constitue la phase pré-démentielle. Le patient commence à présenter des troubles mnésiques, des difficultés à communiquer, des modifications du comportement ; cependant il peut encore accomplir la majorité des activités quotidiennes.

##### 1.6.4.3. Stade intermédiaire

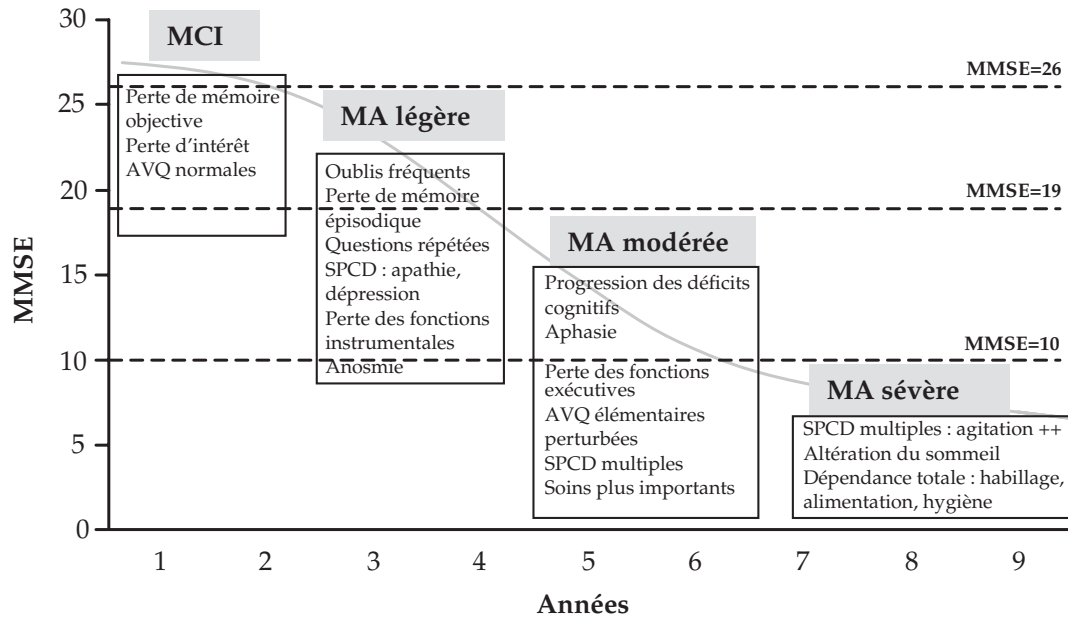
Le stade intermédiaire se déroule sur une période de 3 à 5 ans. Le syndrome démentiel se précise et la situation se détériore (quand les lésions ont atteint le néocortex). On observe un syndrome amnésique et aphaso-apraxy-agnosique, une désorientation et le plus souvent une perte d'autonomie : le patient a besoin d'assistance (pour l'habillage, la toilette, l'incontinence, les repas...). Le maintien à domicile ne peut s'organiser qu'avec l'aide soutenue de l'entourage.

##### 1.6.4.4. Stade tardif

Le stade tardif est souvent synonyme de placement en institution. A ce degré d'évolution, la démence est majeure, la communication impossible, les troubles psycho-comportementaux sérieux et la dépendance totale (état grabataire). En phase terminale, on observe une altération de l'état général et des troubles de la conscience avant le décès [1,27].

### ➤ Conclusion

Les tableaux cliniques rencontrés sont potentiellement extrêmement hétérogènes mais avec une progression hiérarchisée des lésions neuropathologiques, un tableau typique des stades évolutifs peut être décrit (Figure XVII). La prise en charge des patients atteints de MA est donc complexe et évolutive dans le temps.



**Figure XVII : Progression des symptômes de la MA [1].**

(MMSE = Mini Mental State Examination ; MCI = Mild Cognitive Impairment ; MA = Maladie d'Alzheimer ; AVQ = Activités de la vie quotidienne ; SPCD = Symptômes psychologiques et comportementaux des démences)

## 1.7. Diagnostic

Le diagnostic de MA n'est posé malheureusement que chez 50% des patients atteints. Ceci est dû à un manque de recours aux soins par les malades et leurs familles, mais aussi à un défaut de mise en place de procédures diagnostiques par le médecin en cas de plainte cognitive. De plus, il se passe en moyenne 3 ans entre les premiers symptômes et le diagnostic. L'idéal serait de le poser dès les premiers symptômes et lors d'une consultation mémoire spécialisée, afin de prendre en charge le patient rapidement que ce soit sur le plan thérapeutique comme psychosocial [28]. Selon les recommandations officielles de la Haute Autorité de Santé (HAS), les étapes diagnostiques sont :

### 1.7.1. Entretien

L'interrogatoire du patient et de son entourage est primordial pour évaluer les troubles cognitifs, comportementaux, leur évolution et leur incidence sur les activités quotidiennes. L'histoire du patient aura aussi son importance : antécédents médicaux, traitements médicamenteux, niveau d'éducation, activité professionnelle... Mais également, ses antécédents familiaux de MA ou d'autres démences [27,34].

### 1.7.2. Examens cliniques

Outre l'examen clinique général comportant le poids, un examen cardio-vasculaire, un examen neurologique (le plus souvent normal dans les formes débutantes et modérées de MA), le niveau de vigilance (dans le but de différencier MA et confusion mentale), la recherche de comorbidités et de déficits sensoriels (visuel ou auditif) et moteurs ; le praticien précisera la nature et l'importance des troubles grâce à des tests psychométriques et des échelles d'évaluation.

#### ➤ *Mini Mental Status Examination (MMSE), Version GRECO (Figure XVIII)*

Ce test sert à réaliser une évaluation cognitive globale. Considéré comme un outil de dépistage et de suivi, il est très simple et rapide d'utilisation et universellement connu. Sa cotation se fait sur 30 (1 point par réponse correcte), l'interprétation des résultats est la suivante : 25-20 « démence légère », 19-16 « modérée », 15-10 « modérément sévère », 9-3 « sévère » et inférieur à 3 « très sévère ». Ce test a toutefois ses limites : un patient dément peut avoir un score supérieur à 25 et inversement un score bas ne signifie pas forcément que le patient est dément, il peut s'agir d'une dépression, d'une confusion ou d'un niveau intellectuel bas tout simplement. C'est pourquoi on prend toujours en considération dans l'interprétation des résultats, l'âge du patient, son niveau socio-culturel, l'état affectif (anxiété, dépression), ainsi que son niveau de vigilance. Le MMSE ne permet donc pas à lui seul de porter le diagnostic de démence et devra ainsi être complété par un test de mémoire (ex : *test des 5 mots de Dubois*) et par un test explorant les fonctions visuo-praxiques et exécutives (ex : *test de l'horloge*) [27,34,35,36].

## Mini Mental State Examination (MMSE) (Version consensuelle du GRECO)

### Orientation

/ 10

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.  
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 :

1. En quelle année sommes-nous ?
2. En quelle saison ?
3. En quel mois ?
4. Quel jour du mois ?
5. Quel jour de la semaine ?

☐  
☐  
☐  
☐  
☐

Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous trouvons.

6. Quel est le nom de l'hôpital où nous sommes ?\*
7. Dans quelle ville se trouve-t-il ?
8. Quel est le nom du département dans lequel est située cette ville ?\*\*
9. Dans quelle province ou région est située ce département ?
10. A quel étage sommes-nous ?

☐  
☐  
☐  
☐  
☐

### Apprentissage

/ 3

Je vais vous dire trois mots ; je vous voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir  
car je vous les redemanderai tout à l'heure.

- |            |    |        |    |          |
|------------|----|--------|----|----------|
| 11. Cigare |    | Citron |    | Fauteuil |
| 12. Fleur  | ou | Clé    | ou | Tulipe   |
| 13. Porte  |    | Ballon |    | Canard   |

☐  
☐  
☐

Répéter les 3 mots.

### Attention et calcul

/ 5

Voulez-vous compter à partir de 100 en retirant 7 à chaque fois ?\*

- |     |    |
|-----|----|
| 14. | 93 |
| 15. | 86 |
| 16. | 79 |
| 17. | 72 |
| 18. | 65 |

☐  
☐  
☐  
☐  
☐

Pour tous les sujets, même pour ceux qui ont obtenu le maximum de points, demander :  
Voulez-vous épeler le mot MONDE à l'envers ?\*\*

### Rappel

/ 3

Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandés de répéter et de retenir tout à l'heure ?

- |            |    |        |    |          |
|------------|----|--------|----|----------|
| 11. Cigare |    | Citron |    | Fauteuil |
| 12. Fleur  | ou | Clé    | ou | Tulipe   |
| 13. Porte  |    | Ballon |    | Canard   |

☐  
☐  
☐

### Langage

/ 8

- |                                                                             |                                      |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Montrer un crayon.                                                          | 22. Quel est le nom de cet objet ?*  |
| Montrer votre montre.                                                       | 23. Quel est le nom de cet objet ?** |
| 24. Ecoutez bien et répétez après moi : « PAS DE MAIS, DE SI, NI DE ET »*** |                                      |

☐  
☐  
☐

Poser une feuille de papier sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant : « Ecoutez bien et faites ce que je vais vous dire :

25. Prenez cette feuille de papier avec votre main droite,
26. Pliez-la en deux,
27. Et jetez-la par terre. »\*\*\*\*

☐  
☐  
☐

Tendre au sujet une feuille de papier sur laquelle est écrit en gros caractère : « FERMEZ LES YEUX » et dire au sujet :  
28. « Faites ce qui est écrit ».

☐

Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo, en disant :

29. « Voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière. »\*\*\*\*\*

☐

### Praxies constructives

/ 1

Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander : 30. « Voulez-vous recopier ce dessin ? »

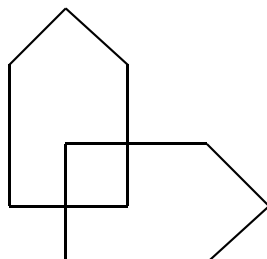
☐

Figure XVIII : MMSE [35].

➤ *Instrumental Activities of Daily Living (IADL)*

Cette échelle permet de faire une évaluation fonctionnelle du patient en appréciant son niveau d'autonomie ou de dépendance dans ses activités de la vie quotidienne [27,35]. De multiples items y sont abordés :

- |                            |                                                    |
|----------------------------|----------------------------------------------------|
| - utilisation du téléphone | - toilette                                         |
| - courses                  | - alimentation                                     |
| - préparation des repas    | - habillage                                        |
| - entretien ménager        | - soins personnels (cheveux, ongles, vêtements...) |
| - lessive                  | - déplacements, locomotion                         |
| - moyens de transport      | - bain                                             |
| - prise des médicaments    |                                                    |
| - gestion de l'argent      |                                                    |

➤ *Neuropsychiatric Inventory (NPI)*

Cette échelle sert à réaliser une évaluation des troubles psycho-comportementaux susceptibles d'être retrouvés dans le cadre de la MA ou d'une autre démence : comme un syndrome dépressif, des troubles affectifs, comportementaux ou d'expression psychiatrique. Douze domaines comportementaux sont pris en compte dans le NPI qui est basé sur l'évaluation de l'accompagnant [27,35].

*Conclusion*

Si les examens s'avèrent normaux malgré la plainte mnésique, une évaluation cognitive comparative sera proposée 6 à 12 mois plus tard.

Si il subsiste un doute sur l'intégrité des fonctions cognitives, un examen neurologique, neuropsychologique et psychiatrique approfondi sera proposé.

Enfin, si le déclin cognitif est avéré (perte d'autonomie caractérisant un syndrome démentiel + score au MMSE inférieur à 24 ou 26 selon le niveau d'études), une prise en charge pluridisciplinaire (médecin généraliste, neurologue, gériatre...) sera mise en place, et des explorations complémentaires seront réalisées : bilan biologique et imagerie cérébrale.

Cette première partie du diagnostic permet de réaliser le diagnostic différentiel entre démences et troubles non démentiels (comme des troubles bénins de la mémoire liés au vieillissement, un trouble cognitif léger « MCI », une dépression, une confusion mentale ou un retard mental) [27,34].

### 1.7.3. Examens biologiques

Dans le cadre du diagnostic de MA, les examens biologiques servent surtout à éliminer d'autres causes de démence [27,34].

Systématiquement (Tableau II), il est recommandé de prescrire :

|                            |                                                                                                                                                  |
|----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Hémogramme                 | éliminer une affection hématologique pouvant avoir des localisations intra-cérébrales                                                            |
| Ionogramme                 | éliminer des troubles électrolytiques susceptibles d'entraîner un syndrome confusionnel                                                          |
| Calcémie et glycémie       | une hypocalcémie et/ou une hypoglycémie peuvent être responsables de signes neurologiques                                                        |
| Créatinine et sa clairance | une insuffisance rénale pourrait augmenter la demi-vie des médicaments sédatifs et donc entraîner des troubles cognitifs                         |
| TSH                        | éliminer une hypothyroïdie responsable d'un ralentissement intellectuel et physique ou une hyperthyroïdie responsable d'un syndrome confusionnel |

**Tableau II : Examens biologiques de base.**

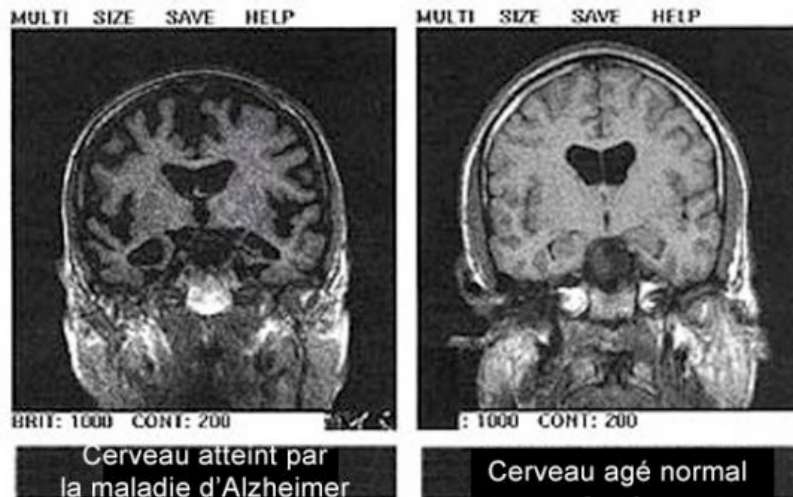
En fonction du contexte clinique (Tableau III), il sera ajouté :

|                                              |                                                                                                                                         |
|----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sérologie syphilitique                       | certaines tableaux démentiels trompeurs peuvent être observés au stade tertiaire de l'infection due à une méningo-encéphalite chronique |
| Sérologie VIH                                | 30% des cas de sida présentent des troubles cognitifs                                                                                   |
| Dosage de la vitamine B12                    | éliminer une carence sévère pouvant engendrer des troubles cognitifs                                                                    |
| Dosage des folates                           | une carence en folates peut entraîner une confusion                                                                                     |
| Bilan hépatique :<br>transaminases, gamma GT | signes de démence alcoolique                                                                                                            |

**Tableau III : Examens biologiques complémentaires.**

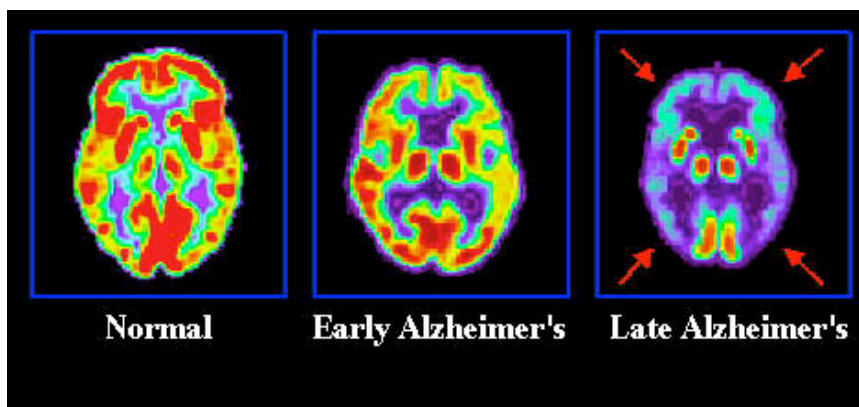
#### 1.7.4. Neuro-imagerie

L'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique) cérébrale constitue l'examen de référence pour le diagnostic étiologique des démences (en cas de contre-indication, il sera remplacé par un scanner). Il permet de faire le diagnostic différentiel entre une MA et une autre cause de démence comme des causes neurochirurgicales (tumeurs, hématome sous-dural chronique) ou des causes vasculaires (AVC). Un des signes évocateurs d'une MA est l'atrophie des structures hippocampiques même à un stade débutant (Figure XIX).



**Figure XIX :** IRM comparative entre un cerveau sain et un cerveau atteint par la MA [37].

La SPECT (Single Photon Emission Computed Tomography ou Tomographie à émission monophotonique) ou la TEP (Tomographie à émission de positons) ne sont utilisées qu'en cas de démence atypique ou s'il subsiste un doute avec une démence fronto-temporale (une des causes de démence dégénérative). Il s'agit d'imageries fonctionnelles (et non morphologiques comme les précédentes) basées sur le débit sanguin cérébral et le métabolisme du glucose et très sensibles au dysfonctionnement et à la perte synaptique. En cas de MA, on observera une image évocatrice d'un hypométabolisme dans les régions temporale et pariétale (Figure XX).



**Figure XX :** TEP comparative entre un cerveau sain et de MA légère et sévère [38].

Le DATscan (scintigraphie cérébrale mesurant la dopamine) n'est envisagé qu'en cas de doute avec une démence à corps de Lewy. Celle-ci représentant la deuxième cause de démence dégénérative. Pas d'atteinte de la dopamine et DATscan normal en cas de MA [27,34].



#### 1.7.5. Autres examens paracliniques

Une analyse du LCR (Liquide Céphalo-Rachidien) par ponction lombaire est recommandée chez les patients ayant une démence atypique ou d'évolution rapide pouvant être le signe d'une maladie inflammatoire, infectieuse ou de maladie de Creutzfeld-Jakob. Chez les patients jeunes, des marqueurs peuvent être recherchés comme les concentrations en protéine tau ou en protéine A $\beta$ 42, ceci n'est pas réalisé en pratique courante mais fait l'objet de recherches cliniques.

Un électroencéphalogramme n'est effectué qu'en cas de suspicion d'encéphalite, de maladie de Creutzfeld-Jakob...

Une étude génétique avec recherche de mutations n'est envisagée que lorsqu'on soupçonne une forme familiale de MA et avec le consentement éclairé du patient [27,34].

#### ➤ *Conclusion*

Pour établir le diagnostic de démence, et plus particulièrement de MA, le praticien va s'aider de critères diagnostiques dont les plus courants sont : le DSM-IV-TR et le NINCDS-ADRDA. Après avoir écarté d'autres types de démences, on obtient 3 niveaux de probabilités du diagnostic : MA possible, MA probable et MA certaine. Le diagnostic de certitude est histologique par biopsies ou lors d'autopsies post-mortem (non réalisées en pratique).

## 1.8. Traitements actuels des troubles cognitifs

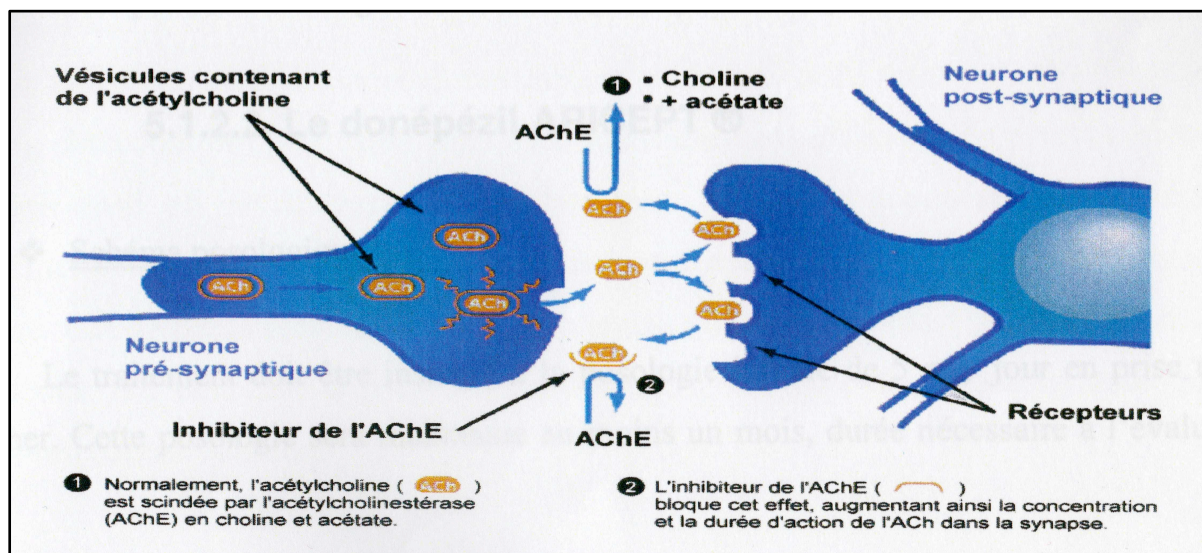
A l'heure actuelle, les traitements proposés aux patients atteints de MA ne sont que symptomatiques. Ils visent à améliorer les troubles cognitifs mais ne bloquent pas l'évolution de la maladie. Ils donnent l'impression de ralentir l'évolution de la MA pendant une certaine période mais dès lors qu'il y a arrêt du traitement, le bénéfice acquis disparaît. Deux classes pharmacologiques de médicaments sont utilisées : les anticholinestérasiques et les antiglutamatergiques. Ils sont souvent associés à des psychotropes dans le but d'améliorer les troubles psycho-comportementaux (non traités ici) [27].

### 1.8.1. Anticholinestérasiques

Donépézil ARICEPT®, Rivastigmine EXELON®, Galantamine REMINYL®

#### 1.8.1.1. Mécanisme d'action

Dans la MA, on a mis en évidence une perte neuronale touchant particulièrement les neurones cholinergiques, provoquant ainsi un déficit en AcétylCholine (ACh) (*voir chapitre 1.5.2.6*). Physiologiquement, l'ACh libérée par les neurones pré-synaptiques, est dégradée par une cholinestérase ; donc pour augmenter sa concentration synaptique dans le cadre d'une MA, il a été mis au point des anticholinestérasiques ou inhibiteurs spécifiques et réversibles de cette cholinestérase. Ces molécules prolongent ainsi l'activité de ce neurotransmetteur sur diverses fonctions cognitives (Figure XXI).



**Figure XXI : Mécanisme d'action des anticholinestérasiques [36].**

Notons qu'il existe en fait deux types de cholinestérases : l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. Bien que toutes deux soient présentes au niveau cérébral, l'acétylcholinestérase est majoritaire. La butyrylcholinestérase a essentiellement une action périphérique, potentiellement responsable des effets indésirables des anticholinestérasiques. Le donépézil et la rivastigmine sont sélectifs de la première alors que la galantamine inhibe les deux types de cholinestérases. Au niveau sélectivité tissulaire, la rivastigmine a une affinité très forte pour l'hippocampe et le cortex [36].

### 1.8.1.2. Efficacité clinique

L'efficacité clinique des différents anticholinestérasiques a été évaluée à l'aide d'outils similaires (ADAS-cog : échelle de performance cognitive, CIBIC ou ADCS-CGIC : impression clinique globale et CDR ou PDS ou ADCS-ADL : échelles des activités de la vie quotidienne...). Les résultats des essais cliniques réalisés sont les suivants :

- bénéfice modeste (mais statistiquement significatif) sur le fonctionnement cognitif ;
- amélioration de l'état clinique global du patient ;
- effets sur les troubles psycho-comportementaux (dont l'apathie) ;
- pas d'effet sur l'évolution de la maladie ;
- existence de patients répondeurs et non-répondeurs ;
- efficacité proportionnelle à l'inhibition de l'acétylcholinestérase et donc à la dose utilisée.

Cependant, ces études versus placebo ont été d'une durée de 6 mois seulement (1 an pour le donépézil) ; et en pratique clinique courante, les patients sont susceptibles de prendre ces médicaments pendant plusieurs années... Mais quelle est leur efficacité à très long terme ?

Cette classe de médicaments a donc obtenu l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans l'indication suivante : « Traitement symptomatique de la maladie d'Alzheimer dans ses formes légères à modérément sévères » (MMSE entre 10 et 26) [39,40].

### 1.8.1.3. Posologie

Les essais cliniques ont démontré que le bénéfice obtenu avec les anticholinestérasiques dépendait de la dose mais par conséquent, les effets indésirables également... On a ainsi pu en déduire les posologies usuelles à utiliser pour chaque molécule (Tableau IV).

|                                                               | <b>Donépézil</b>                                                  | <b>Rivastigmine</b>                                  | <b>Galantamine</b>                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Doses d'entretien (efficaces)</b>                          | 5 à 10 mg/j                                                       | 6 à 12 mg/j                                          | 16 à 24 mg/j                                                                                          |
| <b>Nombre de prises journalière</b>                           | le soir avant le coucher<br>(ou le matin si problèmes de sommeil) | matin et soir au moment du repas                     | matin et soir avant le repas                                                                          |
| <b>Durée minimum des paliers pour l'ascension posologique</b> | 30 jours                                                          | 15 jours                                             | 30 jours                                                                                              |
| <b>Dose initiale</b>                                          | 5 mg/j                                                            | 3 mg/j                                               | 8 mg/j                                                                                                |
| <b>Formes galéniques</b>                                      | comprimé pelliculé ou orodispersible                              | gélule, solution buvable ou dispositif transdermique | comprimé pelliculé, solution buvable ou gélule à libération prolongée (pour une seule prise matinale) |

**Tableau IV : Posologie des différents anticholinestérasiques [41].**

#### 1.8.1.4. Effets indésirables

Les effets indésirables sont communs aux trois médicaments et sont liés à leur action cholinergique périphérique, ainsi qu'à la dose utilisée (plus la posologie augmente, plus l'incidence et la sévérité des effets indésirables augmentent aussi). Les plus fréquents sont : nausées, vomissements, diarrhées, anorexie, perte de poids, insomnie, cauchemars, céphalées, vertiges, hallucinations, crampes musculaires, bradycardie, incontinence urinaire...

Ces effets indésirables ne sont cependant pas équivalents :

- les effets gastro-intestinaux sont plus fréquents avec la rivastigmine ;
- les crampes et les problèmes de sommeil sont plus fréquents avec le donépézil [41].

#### 1.8.2. Antiglutamatergiques

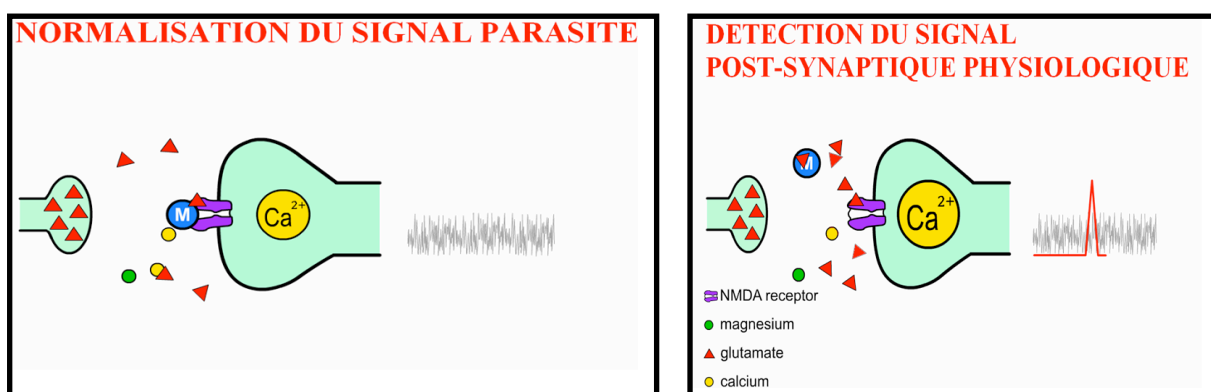
Mémantine EBIXA®

##### 1.8.2.1. Mécanisme d'action

La neurodégénérescence impliquée dans la MA serait due en partie à l'excitotoxicité engendrée par un excès de glutamate au niveau de la synapse (*voir chapitre 1.5.2.5*). Pour contrer ce phénomène responsable d'une diminution des fonctions cognitives, il a été mis au point une nouvelle classe pharmacologique : les antagonistes non compétitifs des récepteurs NMDA, dont le seul représentant (dans le traitement de la MA) est la Mémantine.

La mémantine a une affinité faible à modérée pour le récepteur NMDA. Au repos, chez un patient atteint de MA, la mémantine bloque le canal ionique couplé au récepteur NMDA. Même si on observe une libération soutenue et pathologique de glutamate (qui en l'absence de mémantine, serait capable de déplacer les ions  $Mg^{2+}$ ), la mémantine a une affinité plus forte pour bloquer le canal ionique que les ions  $Mg^{2+}$ . Par conséquent, il n'y a pas d'influx intracellulaire de calcium et le bruit de fond reste alors faible.

En cas d'activation, le neurone pré-synaptique libère transitoirement le glutamate dans la synapse, entraînant une dépolarisation suffisante pour déplacer momentanément la mémantine du canal ionique et laisser le passage aux ions  $Ca^{2+}$ . L'augmentation de la concentration en ions  $Ca^{2+}$  dans le neurone post-synaptique déclenche alors une cascade de signaux détectables (Figure XXII).



**Figure XXII : Mécanisme d'action de la Mémantine.**  
Au repos et lors d'une activation [23].

La mémantine a donc un effet neuroprotecteur en diminuant le bruit de fond et n'interfère pas dans les processus de mémorisation et d'apprentissage : elle prévient l'activation pathologique du récepteur NMDA tout en permettant son activité physiologique [36,23].

#### 1.8.2.2. Efficacité clinique

L'efficacité de la mémantine a été évaluée avec des échelles comparables aux anticholinestérasiques. Des études ont démontré que la mémantine ralentissait le déclin cognitif des patients, elle préserve voire améliore certains actes de la vie quotidienne et montre une amélioration de l'état clinique global des patients. Comme pour les anticholinestérasiques, ces études n'ont été réalisées que sur une durée de 6 mois...

L'AMM a été obtenue dans l'indication suivante : « Traitement symptomatique des formes modérées à sévères de la MA » (MMSE de 3 à 14). Elle est utilisée chez des patients présentant une démence plus évoluée, seule ou en association avec un anticholinestérasique (mais les études n'ont été faites qu'avec le donépézil) [40,42].

#### 1.8.2.3. Posologie

La posologie usuelle recommandée est de 20 mg/j en une seule prise journalière. L'ascension posologique se fait par paliers d'une semaine, la dose initiale est de 5 mg. La mémantine existe sous forme de comprimé pelliculé ou de solution buvable [41].

#### 1.8.2.4. Effets indésirables

La mémantine a montré une très bonne tolérance chez les patients (digestive, urinaire et respiratoire), ce qui conduit à un faible taux d'arrêt du traitement. Les effets indésirables pouvant néanmoins apparaître sont plutôt d'ordre neurologique : céphalées, vertiges, somnolence... Parmi les plus fréquents, on peut citer aussi : hypertension artérielle, dyspnée et constipation [41].

### *Conclusion :*

Le traitement, débuté le plus tôt possible (dès que le diagnostic de MA est posé), permet d'organiser la prise en charge globale du patient et l'accompagnement de sa famille. Aucun essai ne justifie leur utilisation au stade pré-démontiel (MCI). Celui-ci sera poursuivi tant que le bénéfice existe pour le patient.

En pratique, il est possible dans certains cas de prescrire une association entre les deux classes pharmacologiques, notamment dans les stades modérés.

Cependant, ces médicaments utilisés actuellement n'ont qu'une visée symptomatique et n'empêche en rien l'évolution de la maladie. D'où l'intérêt de développer des médicaments capables de la stopper, voire même de la guérir... Il existe plusieurs étapes dans le processus physiopathologique de la MA et donc beaucoup de cibles potentielles. L'une d'elle est la Gamma-sécrétase (enzyme clé du clivage de l'APP) [36,43].

## **Partie 2**

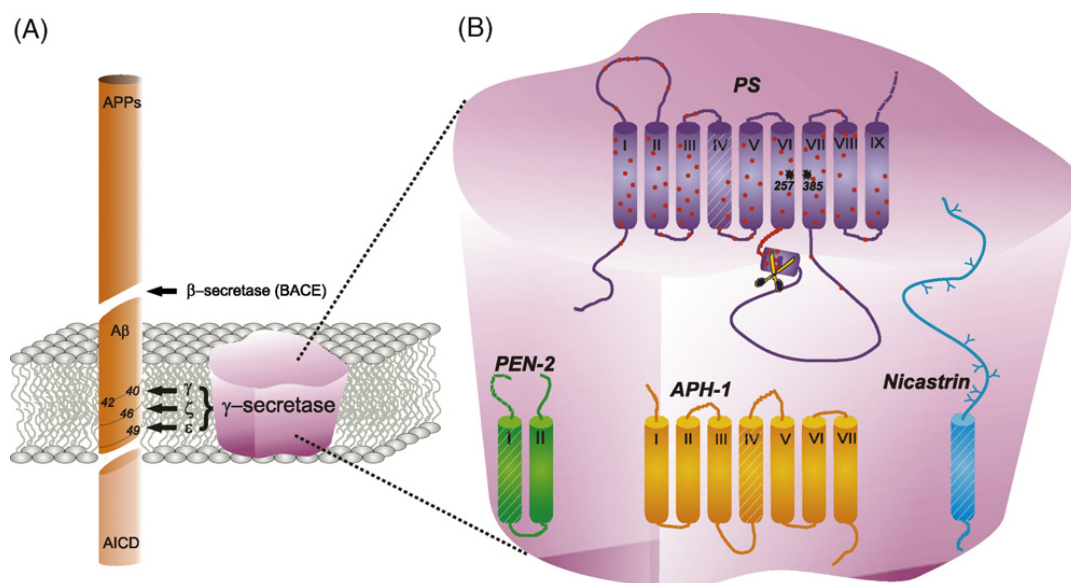
### **Pharmacologie de la $\gamma$ -secrétase**

## 2. Pharmacologie de la $\gamma$ -secrétase

Le peptide A $\beta$ , principal constituant des plaques séniles, est produit à partir de l'APP grâce à l'action de deux enzymes : la  $\beta$  et la  $\gamma$ -secrétase. C'est pourquoi la  $\gamma$ -secrétase constitue une des cibles thérapeutiques actuellement étudiées par les chercheurs. Leur but est d'en découvrir toutes les caractéristiques afin de pouvoir développer des médicaments capables d'interagir avec celle-ci et donc de contrer la production du peptide A $\beta$ .

### 2.1. Structure de l'enzyme

La  $\gamma$ -secrétase n'est pas une seule molécule douée d'une activité enzymatique, mais un complexe macromoléculaire composé de quatre protéines : la préséniline, la nicastrine, Aph-1, et Pen-2, aussi appelé « complexe  $\gamma$ -secrétase dépendant des présénilines ». Chaque membre de ce complexe est nécessaire pour que celui-ci ait une activité de type  $\gamma$ -secrétase (Figure XXIII).



**Figure XXIII :** Structure du « complexe  $\gamma$ -secrétase ».

(A) Voie amyloïdogénique de maturation de l'APP : clivage par la  $\beta$ -secrétase puis à de multiples positions au cœur de la membrane lipidique par la  $\gamma$ -secrétase (voir chapitre 2.3).

(B) Composants du complexe  $\gamma$ -secrétase : les régions hachurées en blanc sont celles impliquées dans les interactions intermoléculaires entre les différentes protéines, les points rouges ● sur la préséniline représentent les mutations responsables de formes familiales de la MA (voir chapitre 1.5.3), les deux étoiles noires ★ sont les deux résidus aspartates formant le site catalytique, le ciseau ✂ est en fait la présénilinase, et les « Y » bleu Y représentent les sites de glycosylation présents sur le domaine extramembranaire de la Nicastrine [44].

### 2.1.1. Préséniline

La préséniline qui compose le complexe  $\gamma$ -secrétase existe sous forme de deux homologues : la Préséniline 1 (PS1) ou la Préséniline 2 (PS2).

Le gène codant pour la PS1 se situe sur le chromosome 14 et s'exprime aussi bien dans le SNC (au niveau des neurones et des cellules gliales) que dans les tissus périphériques. Des mutations sur ce gène (ainsi que sur celui codant pour la PS2), seront responsables de formes familiales de MA (*voir chapitre 1.5.3*). Dans la cellule, une fois exprimée, la PS1 est localisée principalement dans les membranes intracellulaires du noyau, du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi (en plus faible quantité au niveau de la membrane plasmique ainsi qu'au niveau de la membrane des lysosomes).

Cette protéine membranaire de 467 acides aminés et d'un poids moléculaire d'environ 50 kDa comporte neuf domaines transmembranaires : l'extrémité N-terminale ainsi que la boucle entre les domaines 6 et 7 sont cytosoliques, l'extrémité C-terminale se situe dans le lumen.

Mais la PS1 subit un clivage par une présénilase au niveau de sa boucle cytosolique entre les acides aminés 292 et 293 ou 298 et 299 : certaines études sembleraient montrer que ce clivage est intramoléculaire et autocatalytique (autrement dit il s'agirait d'une « endoprotéolyse » : la préséniline elle-même serait la présénilase !). La boucle cytosolique étant clivée, cela génère deux fragments : PS-NTF (30 kDa) et PS-CTF (20 kDa) (presenilin N- et C-terminal fragment) constituant un hétérodimère stable et représentant la forme active de la PS1 au sein du complexe  $\gamma$ -secrétase. Ce processus de maturation est donc nécessaire à l'activité de la  $\gamma$ -secrétase.

Le rôle essentiel de la PS1 est le clivage de l'APP. En effet, les domaines 6 et 7 contiennent chacun un résidu aspartate (aussi dénommé acide aspartique) constituant le site catalytique de ce clivage : il s'agit de l'Asp257 et de l'Asp385. Ces deux résidus sont extrêmement conservés au cours de l'évolution. On peut donc dire que la PS1 est l'aspartyl protéase responsable de l'activité  $\gamma$ -secrétase (*voir chapitre 2.3.1*).

Dans la séquence en acides aminés de la PS1, plusieurs motifs (extrêmement conservés au cours de l'évolution) ayant une fonctionnalité importante ont été identifiés :

- GxGD : ce motif est localisé au niveau du 7ème domaine transmembranaire, il contient comme la succession de lettres l'indique deux résidus Glycine (G) en position 382 et 384, un résidu Aspartate (D) en 385 (celui-là même impliqué dans le clivage de l'APP) et en position 383 (x) on retrouve soit une Leucine rendant possible le clivage d'APP et de Notch (qui est un autre substrat de la  $\gamma$ -secrétase, *voir chapitre 2.4.1*), soit une Phénylalanine ne rendant possible que le clivage de l'APP. L'intégrité de ce motif est essentiel à l'activité de la  $\gamma$ -secrétase ;
- PALP (Proline-Alanine-Leucine-Proline) : ce motif situé au niveau de l'extrémité C-terminale, joue un rôle dans l'endoprotéolyse de la PS1. Il a été identifié également comme signal de rétention du réticulum endoplasmique et permettrait donc l'incorporation de la PS1 au sein du complexe  $\gamma$ -secrétase en retenant la PS1 encore immature à ce niveau ;
- NF (Asparagine-Phénylalanine) : ce motif contenu dans le 4ème domaine transmembranaire côté C-terminal des présénilines serait impliqué dans les interactions avec Pen-2 mais le site correspondant n'a pas encore été identifié ;
- l'extrémité C-terminale de la PS1 se lie à la partie N-terminale du domaine intramembranaire de la Nicastrine afin de former le complexe ;



- au niveau du 9ème domaine transmembranaire, il y aurait un site d'accueil où les substrats se lieraient avant d'entrer dans le site actif de la  $\gamma$ -secrétase [15,44,45,46,47].

Le gène codant pour la PS2 se situe sur le chromosome 1 et s'exprime surtout dans les tissus périphériques. Elle est cependant assez proche de la PS1 : structure et topologie semblables (448 acides aminés, 67% d'homologie dans la séquence en acides aminés), clivage de type présénilase. Même si elle n'est que peu présente au niveau cérébral, la PS2 est aussi impliquée dans la production de peptide amyloïde. Les deux résidus aspartate des domaines transmembranaires 6 et 7 sont l'Asp263 et l'Asp366 [15,45,48].

#### Remarque :

Seule une fraction de cette protéine est intégrée au complexe  $\gamma$ -secrétase, la Préséniline seule possède d'autres fonctions. PS1 seule joue le rôle de canal calcique (de fuite) et serait donc impliquée dans la régulation de l'homéostasie calcique et de la mort cellulaire neuronale (causée par une surcharge en calcium intracellulaire). PS2, très présente au niveau du muscle cardiaque, jouerait un rôle dans la régulation du signal calcique. La Préséniline seule interagit également avec la  $\beta$ -caténine (protéine d'adhésion cellulaire) et pourrait être, en cas de mutations, la cause de certains cancers [47,48,49].

#### 2.1.2. Nicastrine

La Nicastrine (NCT) est une glycoprotéine transmembranaire de type I de 709 acides aminés exprimée de façon ubiquitaire dont le gène se situe sur le chromosome 1. Elle possède un domaine intracellulaire très court (C-terminal) et un long domaine extracellulaire (N-terminal) comportant de nombreux sites de N-glycosylation. Dans la cellule, elle est présente sous forme non glycosylée (environ 80 kDa) au niveau du réticulum endoplasmique où elle subit une première glycosylation (NCT immature, 110 kDa) puis une deuxième au niveau de l'appareil de Golgi (NCT mature, environ 140 kDa). Enfin, sa forme mature est localisée au niveau de l'appareil de Golgi, de la membrane des lysosomes et de la membrane plasmique.

On peut noter que la forme immature de la NCT est associée à la Préséniline « holoprotéine » alors que la forme mature est associée à la Préséniline mature « hétérodimère ».

Dans le réticulum endoplasmique, là où le complexe commence à se former, on peut observer une interaction directe et spécifique avec Aph-1 et PS1 (ou PS2) : la partie N-terminale du domaine intramembranaire de la NCT se lie au motif GxxxG de Aph-1 et à l'extrémité C-terminale de PS1 (ou PS2).

Son rôle est essentiel au sein du complexe  $\gamma$ -secrétase car elle permet la reconnaissance des substrats par l'intermédiaire de son long domaine extracellulaire, on dit que la NCT est un « récepteur de substrats ». Sans la NCT, le complexe se trouve déstabilisé et son activité est fortement réduite.

Mais c'est l'absence de séquence similaire qui a toute son importance ici pour la sélection des substrats (en plus de la barrière spatiale et stérique).

Le fonctionnement de ce « récepteur de substrats » est le suivant :

- le motif DYIGS (acides aminés 336 à 340 : Aspartate-Tyrosine-Isoleucine-Glycine-Sérine) très conservé dans l'évolution et ayant un rôle important dans la reconnaissance des substrats, fait partie d'une séquence appelée DAP située dans le domaine extracellulaire de la NCT ;

- DAP constitue le premier site de liaison des substrats de la  $\gamma$ -secrétase, grâce à l'interaction spécifique entre la chaîne carboxylique du résidu Glutamate Glu333 et le groupe  $\alpha$ -amino de l'extrémité N-terminale des substrats.

Ce résidu Glu333 serait, selon certaines études, aussi impliqué dans l'assemblage et la maturation du complexe [15,44,45].

### 2.1.3. Aph-1

Aph-1 (Anterior Pharynx-defective-1) est une protéine à sept domaines transmembranaires d'environ 30 kDa. Deux homologues existent : Aph-1a porté par le chromosome 1 et s'exprimant de façon ubiquitaire, et Aph-1b porté par le chromosome 15 et majoritairement exprimé dans le cerveau (une duplication de Aph-1b existe avec 96% de similitude, il s'agit de Aph-1c).

Son rôle principal est la stabilisation du complexe. Grâce au segment GxxxG (2 résidus Glycine et 3 résidus x) contenu dans le quatrième domaine transmembranaire d'Aph-1, l'assemblage du complexe peut se réaliser. Aph-1 interagit avec la NCT, la Préséniline et Pen-2.

Elle aurait aussi un rôle dans la régulation de la maturation de la NCT et de la préséniline [15,44,45].

### 2.1.4. Pen-2

Pen-2 (Presenilin enhancer-2) est une protéine de 12 kDa et de 101 acides aminés, exprimée de façon ubiquitaire dont le gène se situe sur le chromosome 19. Celle-ci comporte deux domaines transmembranaires et une boucle cytosolique : ce qui sous-entend que les extrémités N- et C-terminales sont luminales.

L'interaction avec les autres protéines du complexe se fait par l'intermédiaire de l'extrémité C-terminale comportant un motif DYLSF (acides aminés 90 à 94 : Aspartate-Tyrosine-Leucine-Sérine-Phénylalanine).

D'autres points d'interaction ont été trouvés entre Pen-2 et les présénilines :

- un motif (non encore identifié) situé dans le premier domaine transmembranaire côté N-terminal de Pen-2 interagirait avec les présénilines ;
- par ailleurs, un autre motif (non encore identifié) de Pen-2 se lierait au motif NF (Asparagine-Phénylalanine) contenu dans le 4ème domaine transmembranaire côté C-terminal des présénilines.

Le rôle de Pen-2 est un rôle « pivot ». Son incorporation comme dernier élément du complexe permet le passage du complexe  $\gamma$ -secrétase immature du réticulum endoplasmique à l'appareil de Golgi. A cet endroit, Pen-2 aura en charge la maturation de la Préséniline et de la NCT (elle régule entre autre l'endoprotéolyse des Présénilines), le complexe mature sera ainsi stabilisé. Pen-2 est également importante dans l'activité du complexe car elle va optimiser le site actif de la  $\gamma$ -secrétase.

Récemment, il a été découvert un signal de rétention du réticulum endoplasmique situé au niveau de l'extrémité C-terminale du premier domaine transmembranaire de Pen-2 permettant de la retenir à ce niveau afin qu'elle soit incorporée au sein du complexe [15,44,45]

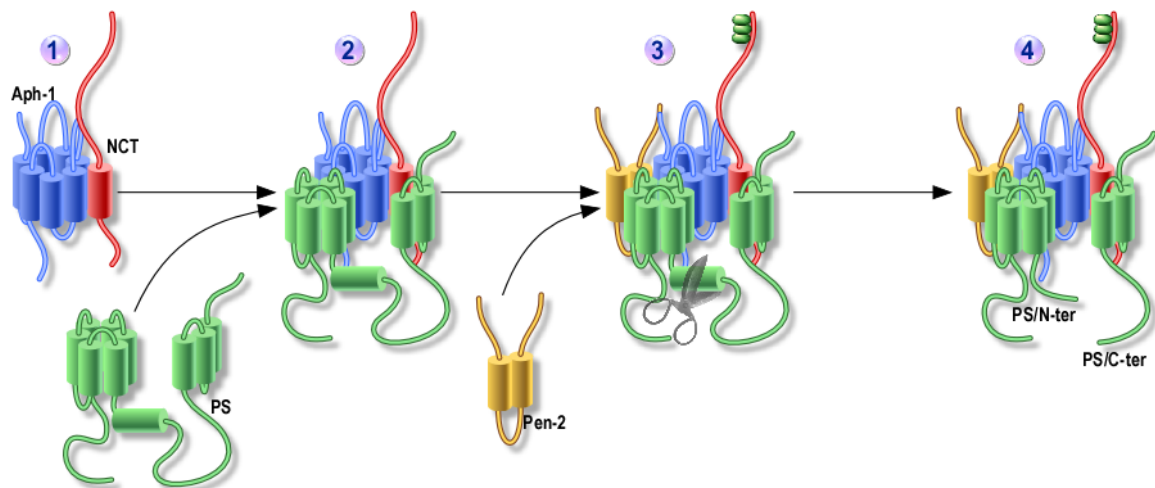
### ➤ Conclusion

L'enzyme a un poids moléculaire théorique de 230 kDa. En tenant compte qu'il peut exister au sein du complexe : soit PS1 ou PS2 et soit Aph-1a ou Aph-1b ou Aph-1c ; nous pouvons donc en conclure qu'il y a six complexes  $\gamma$ -secrétase possibles. Cette hétérogénéité se fait aussi ressentir d'un point de vue fonctionnel car suivant les composants, l'enzyme n'aura pas les mêmes propriétés biochimiques : différences dans l'efficacité même du clivage, spécificités de substrats, différences vis à vis des inhibiteurs de  $\gamma$ -secrétase [44,45,46,48].

## 2.2. Assemblage du complexe et localisation au sein de la cellule

### 2.2.1. Assemblage

L'assemblage des quatre protéines se fait en plusieurs étapes : premièrement la Nicastrine s'associe avec Aph-1, puis ce duo stabilise la Préséniline sous sa forme non clivée, enfin ce complexe à trois membres recrute Pen-2 qui active la maturation de la Préséniline (clivée par une présénilase). Deux fragments N- et C-terminaux sont ainsi formés et s'appariant en hétérodimère, ils forment l'entité biologiquement active des présénilines au sein du complexe (Figure XXIV). Une fois assemblé, le complexe se présente comme une structure sphérique d'environ 8 à 10 nanomètres de diamètre [15,47].



**Figure XXIV** : Assemblage séquentiel du complexe  $\gamma$ -secrétase dépendant des présénilines [15].

### 2.2.2. Localisation

La formation du complexe  $\gamma$ -secrétase a lieu tôt dans la voie de sécrétion. Tous les composants sont synthétisés dans le réticulum endoplasmique, ils vont ensuite s'assembler et former le complexe « immature » toujours à cet endroit, puis le complexe va migrer dans l'appareil de Golgi, où il y aura maturation de la Nicastrine et de la Préséniline : le complexe deviendra ainsi « mature ».

Il faut savoir que les composants seuls ont une courte demi-vie <6h et sont rapidement dégradés par le protéasome ou les lysosomes, alors que le complexe formé mature et stable a une longue demi-vie >24h.

Bien que le complexe soit largement retrouvé dans le réticulum endoplasmique et dans l'appareil de Golgi, l'activité  $\gamma$ -secrétase réside au niveau de la membrane plasmique, des endosomes et des lysosomes ! C'est ce que l'on appelle le « paradoxe spatial ».

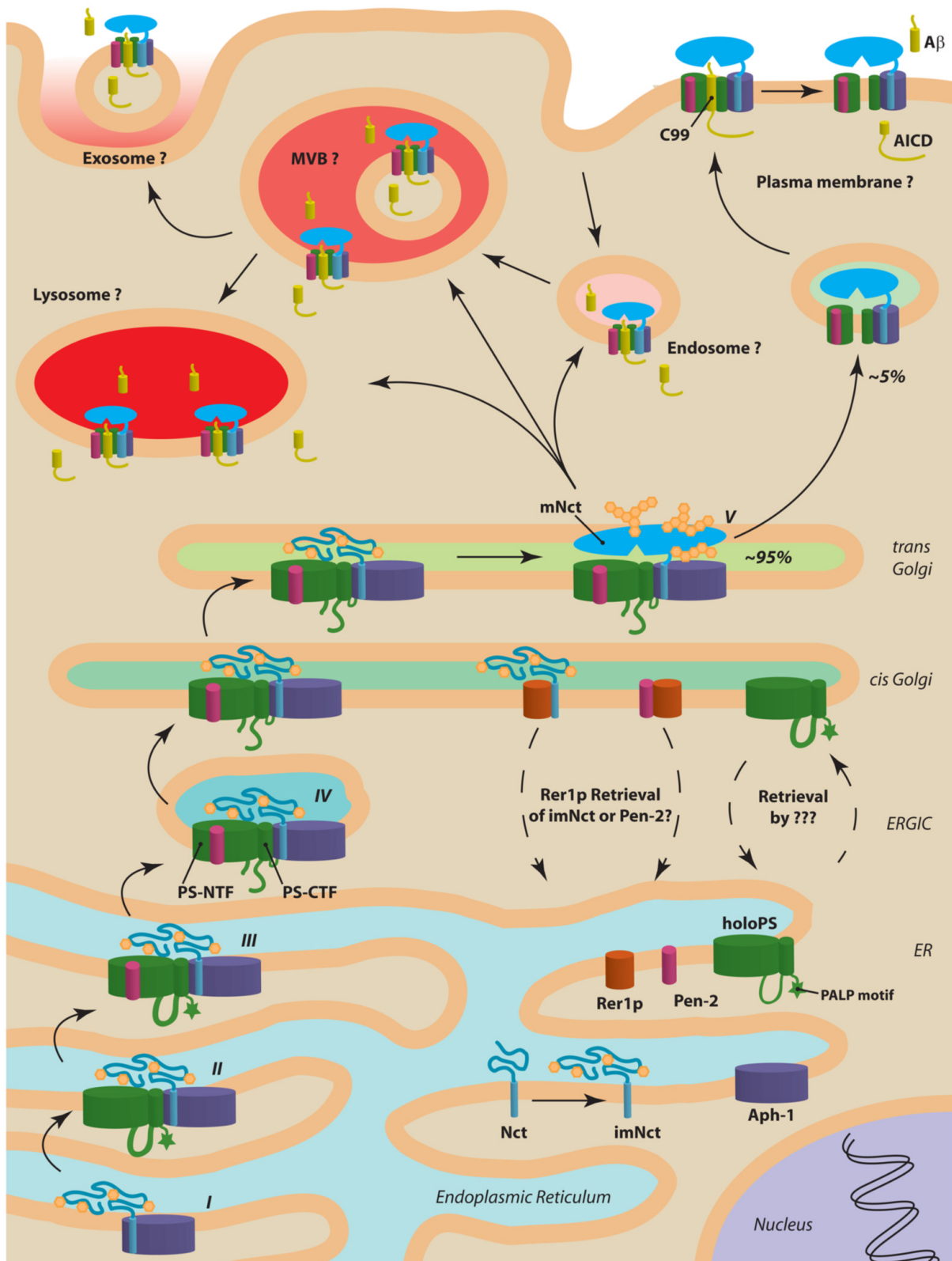
En fait, il existe deux pools de  $\gamma$ -secrétase : un actif localisé au niveau de la membrane plasmique, des endosomes et des lysosomes, représentant seulement 6 à 7% du nombre de  $\gamma$ -secrétase total et un inactif localisé au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi et représentant la majorité.

Le peptide A $\beta$  est donc produit au niveau de la membrane plasmique et selon certaines études au niveau des endosomes proches de la membrane cellulaire et des lysosomes. Le pH acide de ces deux derniers compartiments favoriserait l'oligomérisation du peptide A $\beta$  (pH optimum de 4,5).

Récemment, un modulateur de l'assemblage du complexe  $\gamma$ -secrétase a été identifié : Rer1p (Retrieval to ER 1 protein). Il serait selon les auteurs responsable de l'existence de ces deux pools car il aurait un rôle dans la rétention des composants de la  $\gamma$ -secrétase au niveau du réticulum endoplasmique : il s'agirait d'un régulateur négatif car une diminution en Rer1p provoque une augmentation de l'activité  $\gamma$ -secrétase.

Il interagirait par l'intermédiaire du domaine transmembranaire de la Nicastrine immature, ainsi que par le signal de rétention du réticulum endoplasmique de Pen-2.

Un autre signal de rétention du réticulum endoplasmique avait déjà été découvert : il s'agissait du motif PALP situé au niveau de l'extrémité C-terminale de la Préséniline (Figure XXV) [15,45].



**Figure XXV :** Assemblage et trafic intracellulaire du complexe  $\gamma$ -secrétase [45].  
(MVB = MultiVesicular Bodies = endosome tardif)

## 2.3. Activité

Pour rappel, l'APP possède deux voies de maturation : soit suite à l'action de l' $\alpha$ -secrétase, on obtient APP $\alpha$  et C83, puis la  $\gamma$ -secrétase clive C83 pour donner AICD libéré dans le cytosol et transloqué dans le noyau et P3 relargué dans le milieu extracellulaire ; soit suivant la voie amyloïdogénique, l'APP subit d'abord l'action de la  $\beta$ -secrétase au niveau des endosomes ou des lysosomes produisant APP $\beta$  et C99, puis la  $\gamma$ -secrétase clive C99 pour donner AICD et le peptide A $\beta$  libéré dans le lumen ou l'espace extracellulaire (*voir chapitre 1.5.2.1*).

Donc, le complexe  $\gamma$ -secrétase est à l'origine de la production de trois fragments : le peptide A $\beta$ , AICD et P3. Son rôle précis dans la MA sera abordé dans ce chapitre (en étudiant donc la production du peptide A $\beta$  et d'AICD). Concernant le fragment P3, son rôle dans la MA ainsi que sa fonction physiologique étant encore indéterminés, il ne sera pas abordé.

### 2.3.1. Protéolyse intramembranaire régulée

#### 2.3.1.1. Définition

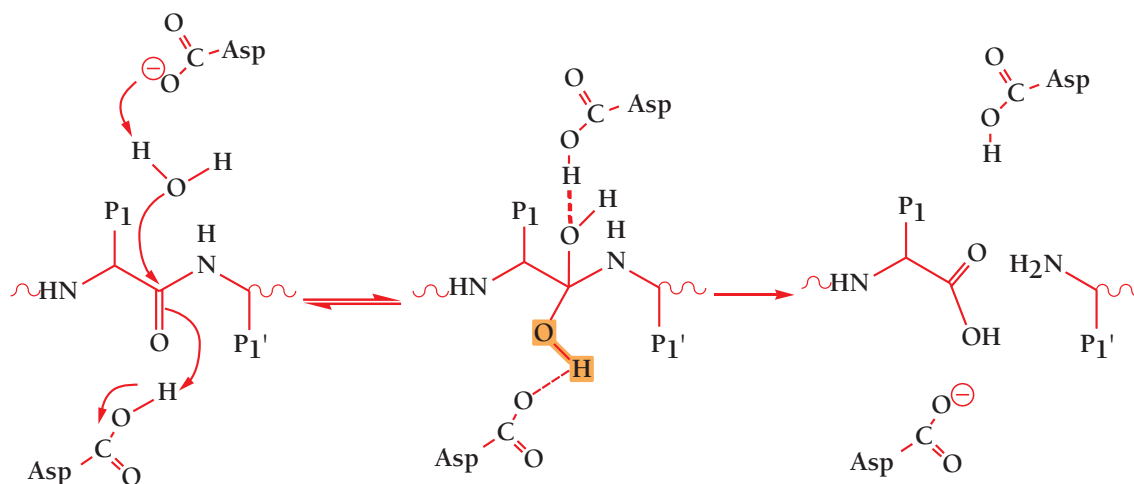
Par définition, la Protéolyse Intramembranaire Régulée (RIP) est un « mécanisme permettant la libération d'un fragment intracellulaire, afin que celui-ci induise un effet biologique à distance ». Une nouvelle classe de protéases responsables de RIP est apparue : I-CliPs (Intramembrane-Cleaving Protéases) comprenant la  $\gamma$ -secrétase, la SPP (Signal Peptide Peptidase), la métalloprotéase S2P (Site-2-protéase) et la sérine protéase Rhomboïde. Leurs points communs sont : le clivage de leur substrat (hydrolyse de protéine sous l'action d'enzyme) au sein de la bicouche lipidique, mais aussi la nécessité d'un clivage extramembranaire préalable du précurseur [48,50].

#### 2.3.1.2. Mécanisme de RIP par la $\gamma$ -secrétase

L'activité  $\gamma$ -secrétase est une protéolyse particulière car le site de clivage de ses substrats se situe au coeur de la membrane, au sein même de la bicouche lipidique dans un environnement hydrophobe peu propice à la protéolyse. Normalement, une protéolyse se fait dans des conditions hydrophiles car l'hydrolyse nécessite de l'eau, c'est à dire dans le cytoplasme ou dans le milieu extracellulaire. Ici, on peut qualifier l'activité  $\gamma$ -secrétase de RIP car la protéolyse est « intramembranaire » et libère AICD, fragment intracellulaire transloqué dans le noyau comme signal transcriptionnel.

Actuellement, des équipes de recherches étudient comment les molécules d'eau, nécessaires à l'hydrolyse des substrats, accèdent au site catalytique. Leurs résultats ont montré que les domaines intramembranaires 6 et 7 de la Préséniline délimiteraient une cavité contenant de l'eau au coeur de la membrane lipidique. Cette chambre centrale (2 à 4 nanomètres de diamètre) serait ouverte des deux côtés de la membrane par de petites ouvertures permettant l'entrée de l'eau.

Au niveau du site actif, les deux résidus aspartate des domaines 6 et 7 se feraient face l'un et l'autre : l'un sous forme protonée (COOH, groupe carboxyl) et l'autre sous forme déprotonée (COO<sup>-</sup>, carboxylate). Il ne manque plus que le substrat (C99 ou C83 dans la MA), positionné au niveau du site actif par l'intermédiaire de la Nicastrine (NCT glycosylée car membre du complexe mature) : le résidu carboxylique du Glu333 situé dans le DAP domaine de la NCT (*voir chapitre 2.1.2*), se lie au groupe  $\alpha$ -amino de l'extrémité N-terminale du substrat. La réaction d'hydrolyse aboutissant au clivage, peut alors se faire (Figure XXVI) [44,46,47,48,51].



**Figure XXVI :** Mécanisme réactionnel d'hydrolyse par une aspartyl protéase.

Sont impliqués : les deux résidus aspartate de l'enzyme en symétrie au niveau du site catalytique (l'un protoné et l'autre déprotoné), une molécule d'eau activée nécessaire pour la protéolyse, enfin le substrat protéique représenté par la chaîne latérale d'acides aminés P1 et P1'. L'état de transition est un intermédiaire tétrahédrique instable. La réaction se termine par la coupure de la liaison peptidique entre deux acides aminés [52].

molecular  
interventions

#### 2.3.1.3. Modulation de l'activité $\gamma$ -secrétase par le taux de cholestérol

L'activité  $\gamma$ -secrétase étant intramembranaire, la question se pose de l'influence de la composition lipidique de la membrane cellulaire sur le complexe.

Effectivement, de nombreuses études ont montré un lien entre les taux de cholestérol et le développement de la MA : par exemple l'apolipoprotéine ApoE4 représente un facteur de risque de MA favorisant l'agrégation du peptide amyloïde et modifiant l'homéostasie du cholestérol au niveau du cerveau (*voir chapitre 1.3.3*). Les dyslipidémies, l'athérosclérose sont également des facteurs de risque car l'élévation du cholestérol augmente la production du peptide A $\beta$ .

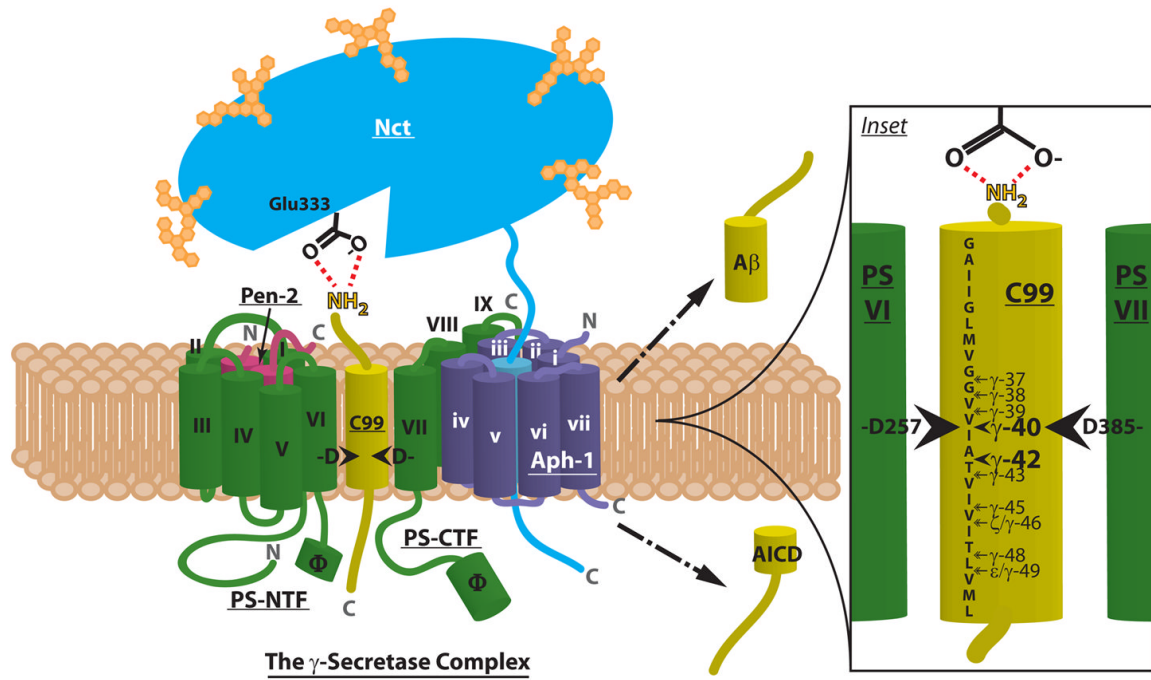
L'explication réside par le fait que le taux de cholestérol soit impliqué dans la régulation de l'activité  $\gamma$ -secrétase car il serait à l'origine de modifications des propriétés physiques de la bicouche lipidique. Le complexe  $\gamma$ -secrétase est principalement localisé au niveau de microdomaines de la membrane cellulaire, compris entre 10 et 200 nanomètres de diamètre, enrichis en cholestérol et en sphingolipides (appelé « radeaux lipidiques » ou « rafts »), formant une plateforme rigide (mais cependant dynamique et transitoire) et permettant à des protéines particulières d'exercer leur rôle dans divers processus cellulaires.

Pendant le développement embryonnaire, le complexe est initialement situé dans des zones de la membrane « nonraft », c'est à dire où on trouve une bicouche lipidique classique composée de phospholipides sans radeaux lipidiques, cela permettant la protéolyse de divers substrats dont Notch. Alors qu'à l'âge adulte, le complexe migre vers des zones plus riches en radeaux lipidiques afin de faciliter le processus de l'APP, mais cela limite le processus de clivage d'autres substrats.

Donc suivant la composition et les propriétés physiques de la bicouche lipidique où le complexe  $\gamma$ -secrétase se trouve, son activité en sera modulée : potentiellement cela va affecter la conformation fonctionnelle du complexe et de ses substrats, influencer la sélection des substrats et les sites de clivage [53,54,55].

### 2.3.2. Production du peptide A $\beta$

Après avoir été positionné par la Nicastrine au niveau du site actif de la  $\gamma$ -secrétase (entre les domaines 6 et 7 de la Préséniline), le fragment C99 subira une coupure opérée par les deux résidus aspartate Asp257 et Asp385 (*voir chapitre 2.3.1.2*) ; produisant ainsi le peptide A $\beta$  libéré dans le lumen ou l'espace extracellulaire, et principal constituant des plaques séniles (Figure XXVII) [15,45,46].



**Figure XXVII :** Positionnement du complexe  $\gamma$ -secrétase actif et du fragment C99 au coeur de la membrane [45].

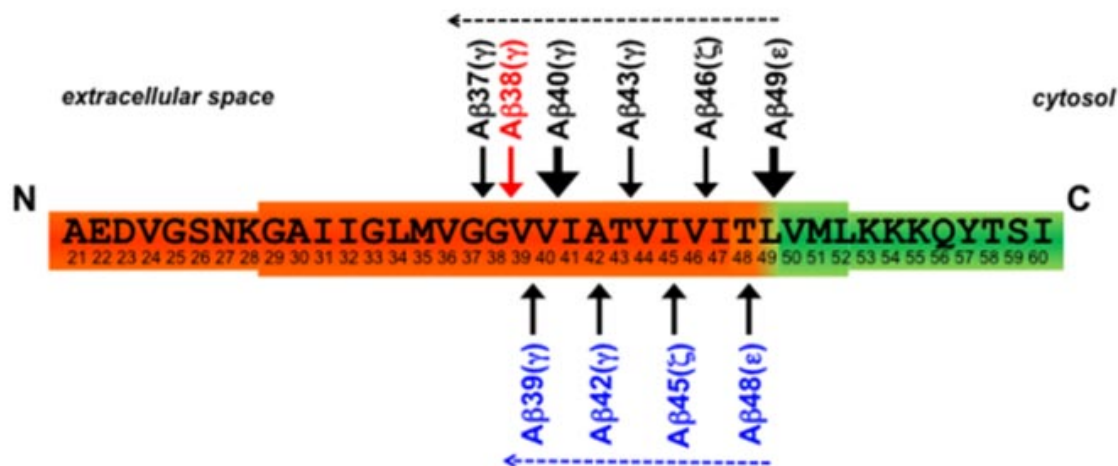
La  $\gamma$ -secrétase peut cliver le fragment C99 à de multiples positions au niveau de son domaine transmembranaire. Il s'agit d'une « cascade protéolytique ». Le clivage débute par l'extrémité C-terminale (près du bord cytoplasmique de la membrane) au niveau du site  $\epsilon$  « epsilon », cela génère les peptides A $\beta$ 49 ou A $\beta$ 48 restant insérés dans la membrane et relargue AICD dans le cytoplasme. Puis se fera un clivage tous les trois acides aminés, en suivant l'hélice  $\alpha$  du domaine transmembranaire, du site  $\zeta$  « zêta » jusqu'au site  $\gamma$  « gamma » jusqu'à ce que le peptide soit assez court pour être libéré de la membrane et relargué dans l'espace extracellulaire.

Deux sortes de produits seront générés de ces clivages hétérogènes :

- A $\beta$ 49 ( $\epsilon$ ) - A $\beta$ 46 ( $\zeta$ ) - A $\beta$ 43 ( $\gamma$ ) - A $\beta$ 40 ( $\gamma$ ) - A $\beta$ 37 ( $\gamma$ )
- A $\beta$ 48 ( $\epsilon$ ) - A $\beta$ 45 ( $\zeta$ ) - A $\beta$ 42 ( $\gamma$ ) - A $\beta$ 39 ( $\gamma$ ).

Le mécanisme précis du processus séquentiel n'est pas encore totalement élucidé. En plus, cela n'explique pas la production d'A $\beta$ 38 (Figure XXVIII). Une question se pose : s'agit-il de la même activité enzymatique ou d'activités distinctes ? [44,46,48,50,56].





**Figure XXVIII :** Multiples clivages intramembranaires générés par la  $\gamma$ -secrétase.

La partie élargie représente le domaine transmembranaire, AICD est en vert, A $\beta$  est en orange, le sens du clivage est indiqué par les flèches en pointillé, les deux sites de clivages majeurs sont indiqués par les flèches grossies [50].

Le clivage de l'APP par la  $\gamma$ -secrétase se fait donc à de nombreux sites générant ainsi des peptides A $\beta$  compris entre 37 et 49 résidus. Dans un cerveau sain, A $\beta$ 40 (~90%) et A $\beta$ 42 (5-10%) représentent la majorité des espèces d'A $\beta$  produites. Dans la MA, la production d'A $\beta$ 42 (peptide le plus nocif, le plus amyloïdogénique) augmente, à cause de mutations génétiques sur l'APP et la préséniline ou/et de modifications de la conformation de la  $\gamma$ -secrétase entraînant des modifications du site préférentiel de clivage de l'APP. On observera alors une augmentation du ratio A $\beta$ 42/A $\beta$ 40 [44,45,48].

### 2.3.3. Production d'AICD

#### 2.3.3.1. Présentation

AICD (APP IntraCellular C-terminal Domain) est relargué dans le cytoplasme de la cellule suite à l'action de la  $\gamma$ -secrétase sur les fragments C99 et C83, il est donc généré par les deux voies de maturation de l'APP. Il est composé de 50 à 59 acides aminés pour environ 6 kDa et comporte un motif important : YENPTY, servant à l'internalisation de l'APP avant son clivage par les secrétases (essentiel pour son endocytose), et interagissant ici avec des facteurs cibles spécifiques. AICD a un rôle essentiel de facteur de transcription : il sera transloqué dans le noyau où il ciblera plusieurs gènes, entraînant ainsi la production d'ARN messagers codant pour diverses protéines dont certaines contribueront à la physiopathologie de la MA [57].

#### 2.3.3.2. Mécanisme de translocation au noyau

Tout d'abord, dans le cytoplasme, AICD sera stabilisé grâce à son interaction avec la protéine adaptatrice Fe65 (le domaine YENPTY d'AICD se lie au domaine PTB2 de Fe65). Cette dernière est une protéine contenant un domaine WW à l'extrémité N-terminale et deux domaines de liaisons aux phosphotyrosines à l'extrémité C-terminale dénommés PTB1 et PTB2. Ce duo pourra alors transloquer dans le noyau où le domaine PTB1 de Fe65 va lier la protéine Tip60 (Tap-Interactive Protein of 60 kDa), qui est une histone acétyl-transférase, qualifiée de co-activateur. Ainsi AICD devient transcriptionnellement actif (Figure XXIX). Malheureusement certaines études restent controversées. Remarque : le domaine WW de

Fe65 peut interagir avec d'autres facteurs de transcription afin d'activer l'expression d'autres gènes.

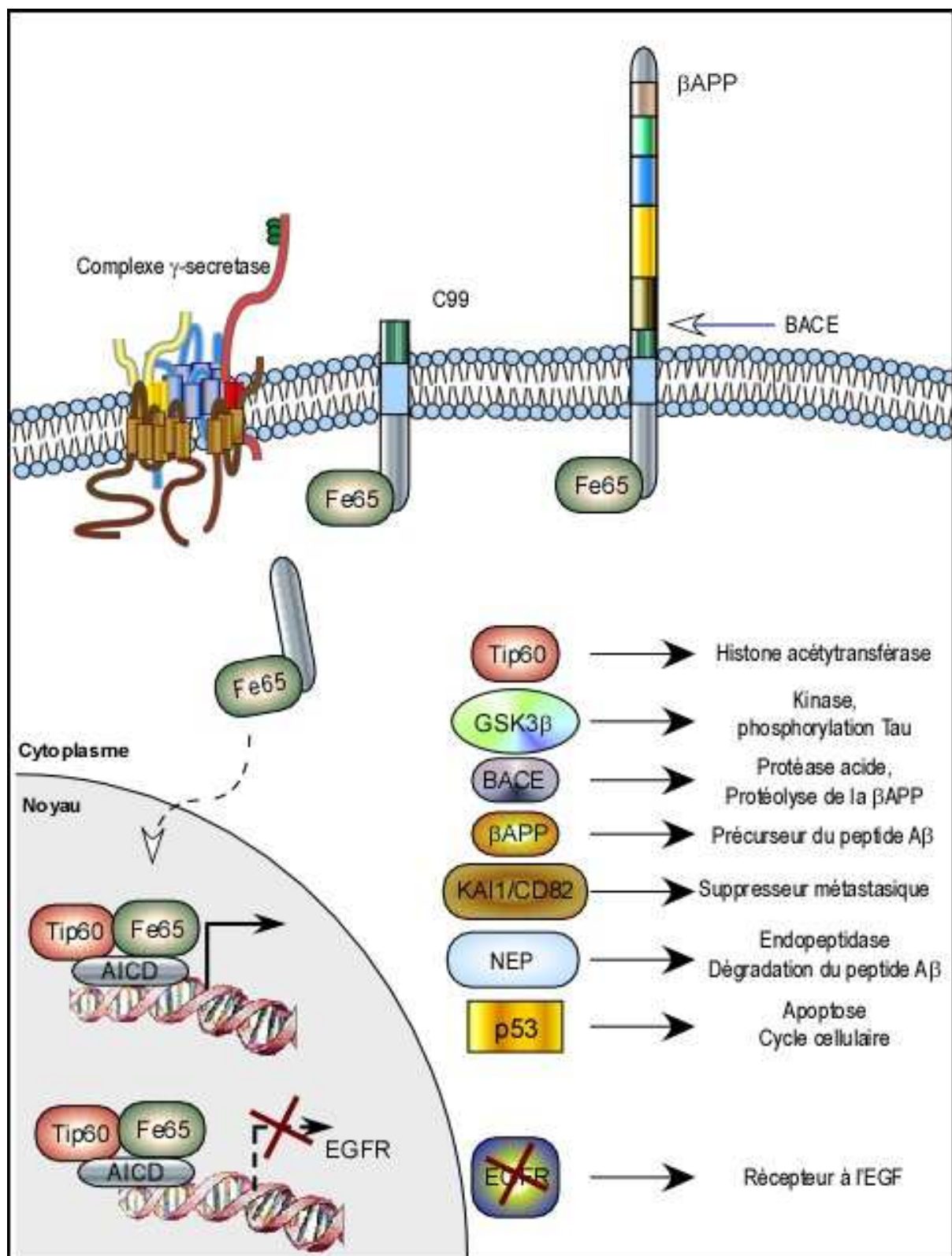
Un mécanisme de phosphorylation de l'APP (encore inconnu) régule sa protéolyse en générant un fragment AICD transcriptionnellement actif et un autre non-actif (phosphorylé). La Thréonine 668 peut être phosphorylée, empêchant l'association avec Fe65 car la conformation de l'hélice où se trouve le motif YENPTY sera affectée. Mais cette théorie est très controversée, certaines études montrent que AICD peut être transloqué vers le noyau sans interaction avec Fe65 et même si la Thréonine 668 est phosphorylée ! On a aussi observé la phosphorylation de l'APP au niveau de la Tyrosine 687 : cela régulerait le processus de l'APP et influencerait les taux d'AICD [15,48,57,58].

#### 2.3.3.3. Gènes cibles

AICD est un facteur de transcription ayant comme cibles de nombreux gènes (Figure XXIX). L'activation de leur transcription sera à l'origine de la production de diverses protéines :

- Tip60 : co-activateur d'AICD dans le complexe ternaire nucléaire formé avec Fe65 ;
- GSK3 $\beta$  (Glycogen Synthase Kinase-3 $\beta$ ) : kinase ayant un rôle dans la phosphorylation de tau et dans la régulation de l'activité  $\gamma$ -secrétase (*voir chapitre 2.3.4*) ;
- BACE1 :  $\beta$ -secrétase responsable du clivage de l'APP selon la voie amyloïdogénique et donc augmentation de la production du peptide A $\beta$  ;
- APP : précurseur d'AICD donc régulation de sa propre transcription ;
- KAI1/CD82 (tetraspanin) : suppresseur métastatique ;
- NEP (Néprilysine) : enzyme de dégradation du peptide A $\beta$ , donc l'APP par l'intermédiaire d'AICD régule la protéolyse du peptide amyloïde ;
- p53 : « suppresseur de tumeur », facteur de transcription dont l'expression est augmentée dans la MA (expression augmentée par AICD, un stress oxydatif, une dérégulation calcique ou une altération de l'ADN), et ayant un rôle dans l'apoptose, le cycle cellulaire, la réparation de l'ADN ou la réponse aux stress [15,48,57,59].

Mais à l'inverse, le complexe ternaire nucléaire comprenant AICD réprime la transcription du gène du Récepteur à l'EGF. L'EGF (Epidermal Growth Factor) est un facteur de croissance ciblant l'ensemble des tissus et en se fixant sur son récepteur, il est impliqué dans les mécanismes de prolifération tumorale. Ce facteur est responsable de cancers colorectaux exprimant le récepteur à l'EGF, mais aussi de cancers du poumon non à petites cellules, de cancers du sein, de carcinomes épidermoïdes... Ici, en réprimant l'expression du Récepteur à l'EGF, des études ont montré qu'AICD jouait un rôle de suppresseur de tumeurs dans les carcinomes épithéliaux. Donc l'inhibition de l'activité  $\gamma$ -secrétase, entraînerait une suppression d'AICD et donc induirait une forte augmentation de l'expression du récepteur à l'EGF [48].



**Figure XXIX :** Cibles transcriptionnelles d'AICD [48].

#### 2.3.3.4. Dégradation

AICD subit une dégradation par deux principaux systèmes : le protéasome et IDE (Insulin Degrading Enzyme). Cependant il reste difficile à étudier car de petite taille et à dégradation rapide.

Le protéasome est une structure enzymatique multiprotéique. Ce complexe localisé dans le cytoplasme ou dans le noyau va dégrader par protéolyse des protéines cytosoliques ou nucléaires ayant été endommagées ou étant inutiles (dont AICD). La dégradation protéasomale est essentielle pour de nombreux processus cellulaires comme le cycle cellulaire, la régulation de l'expression de gènes, et en réponse au stress oxydatif car cela régule la concentration de protéines dans la cellule. Le protéasome va reconnaître les protéines à dégrader car celles-ci seront marquées par une petite protéine appelée « Ubiquitine » : ce mécanisme est nommé « ubiquitination ». Si le protéasome dégrade AICD avant sa translocation dans le noyau, il empêchera la formation du complexe avec Fe65 et TIP60 et donc bloquera la transcription de gènes cibles. Cependant, des études controversées sur ce mode de dégradation ont été publiées.

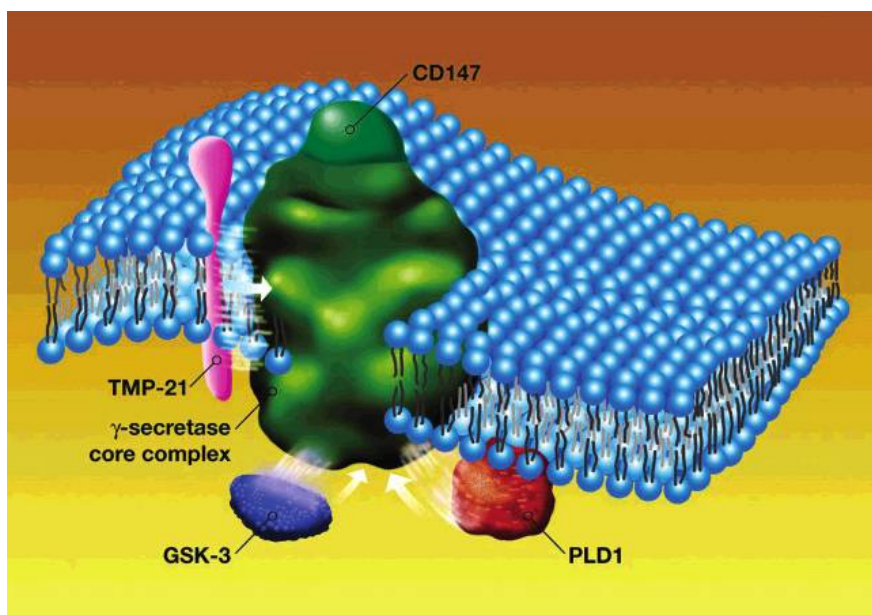
IDE est une métalloprotéase dégradant principalement des petits peptides cytoplasmiques d'environ 20 à 50 acides aminés. Dans le cytoplasme, si AICD est phosphorylé, son association avec Fe65 sera inhibée donc il pourra être dégradé par IDE.

Ces deux voies de dégradation sont déficientes dans la MA donc cela entraîne un taux élevé d'AICD provoquant à terme une neurodégénérescence [57].

#### 2.3.4. Régulation de l'activité $\gamma$ -secrétase

Le complexe mature a un poids théorique de 230 kDa ; cependant après isolement lors de différentes études, son poids apparent variait entre 650 et 2000 kDa ! Une interaction entre le complexe  $\gamma$ -secrétase et des protéines additionnelles a donc été mise en évidence. Leur rôle sera de réguler son activité [48].

Le premier régulateur observé est CD147 : il s'agit d'une protéine intégrée sur le complexe  $\gamma$ -secrétase. D'autres partenaires de liaison ont été reportés ; TMP21, PLD1 et GSK-3 : ceux-ci ne sont pas intégrés, ils ont un effet transitoire ou faible sur l'activité  $\gamma$ -secrétase.



**Figure XXX :** Régulation du complexe  $\gamma$ -secrétase par différents partenaires de liaison [53].

Description des différents régulateurs :

- CD147 est une glycoprotéine transmembranaire de type I d'environ 50 kDa présentant deux domaines de types immunoglobuline. Elle est qualifiée de régulateur négatif car l'invalidation de CD147 augmente la production du peptide A $\beta$ . Sa surexpression n'entraîne aucun changement sur l'activité  $\gamma$ -secrétase ;

- TMP21 est une protéine transmembranaire de type I faisant partie de la famille des protéines cargo p24, c'est pourquoi elle régule entre autre le transport de l'APP du réticulum endoplasmique à l'appareil de Golgi. L'invalidation de TMP21 entraîne une augmentation de la maturation et de la stabilité de l'APP ; en plus, associée au complexe  $\gamma$ -secrétase, elle joue le rôle de régulateur négatif. On observe en cas d'invalidation de TMP21 une modification sélective du clivage par la  $\gamma$ -secrétase : c'est à dire une augmentation spécifique du clivage au site  $\gamma$  sans affecter le site  $\epsilon$  entraînant une augmentation de la production des peptides amyloïdes A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42 sans effet sur le taux d'AICD ;

- PLD1 (PhosphoLipase D1) est associée à la membrane cellulaire et intervient dans le transport de l'APP au sein de la cellule. De plus, elle pourra interagir avec la Préséniline 1 au niveau de la boucle cytosolique empêchant le recrutement de Pen-2 au sein du complexe et donc entraînant l'inhibition de l'activité  $\gamma$ -secrétase et la diminution de la production du peptide A $\beta$ . A l'inverse, si il n'y a pas d'interaction entre PLD1 et la Préséniline 1, on observera une augmentation de la production du peptide A $\beta$  ;

- GSK-3 (Glycogen Synthase Kinase-3) est une protéine soluble. Il existe deux isoformes : l'inhibition de GSK-3 $\beta$  augmente la production du peptide A $\beta$  ; alors que l'inhibition de GSK-3 $\alpha$  va diminuer sa production ! Entre autre, GSK-3 $\beta$  joue un rôle dans la phosphorylation de tau [48,53].

### ➤ Conclusion

La régulation de l'activité  $\gamma$ -secrétase est très complexe. De nombreux acteurs rentrent en jeu. En plus des quatre protéines précédentes, des études récentes ont mis en évidence d'autres partenaires qui auraient également un rôle dans la régulation : GSAP et GPR3.

GSAP (Gamma-Secretase Activating Protein) régule différemment le clivage aux sites  $\gamma$  et  $\epsilon$ . Cette protéine forme un complexe ternaire avec la  $\gamma$ -secrétase et son substrat C99 (ou C83). Le retrait de GSAP va altérer l'association structurale entre les deux autres membres, facilitant ainsi le clivage au site  $\epsilon$  au détriment du clivage au site  $\gamma$ . Ceci aura comme conséquences la réduction de la production du peptide A $\beta$  et l'augmentation du taux d'AICD car les deux types de clivages pourraient se faire indépendamment. Un point important est sa grande spécificité de substrat : GSAP n'affecte pas le clivage de Notch car cette protéine ne forme un complexe ternaire qu'avec la  $\gamma$ -secrétase et son substrat C99 [56,60].

GPR3 (« orphan » G-Protein-coupled Receptor 3) serait impliquée dans l'assemblage du complexe  $\gamma$ -secrétase et régulerait donc sa localisation dans la cellule. Une surexpression de GPR3 stimule l'assemblage des composants entraînant une augmentation de la formation de complexe mature et donc une augmentation de la production du peptide A $\beta$  [61].

### 2.3.5. Activité indépendante des présénilines

Plusieurs groupes de recherches ont observé que certaines cellules déficientes en PS1 ou PS2 ou PS1 + PS2, avaient une production et une accumulation du peptide A $\beta$ 42 intraneuronal (forme très toxique). Ils ont aussi observé que la double mutation des aspartates n'affectait pas cette production.

Il existe donc, en plus de l'activité  $\gamma$ -secrétase « dépendante » des présénilines, une activité  $\gamma$ -secrétase « indépendante » des présénilines... L'enzyme responsable de cette activité serait une aspartyl protéase (non encore identifiée), ayant une activité optimale à pH 6, c'est-à-dire au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi où le complexe  $\gamma$ -secrétase n'est pas encore actif [48,53].

## 2.4. Spécificité

Le complexe  $\gamma$ -secrétase ne clive pas seulement l'APP mais est aussi impliqué dans d'autres voies de signalisation vitales car responsable du clivage d'un grand nombre de substrats. Actuellement plus de 80 protéines ont été identifiées et ce nombre ne cesse d'augmenter. Ce sont toutes des protéines transmembranaires de type I qui ont nécessairement subi un clivage de leur ectodomaine (le plus souvent par un membre de la famille des métalloprotéases) avant de pouvoir être substrat de la  $\gamma$ -secrétase dont le clivage sera lui toujours intramembranaire. Suite à la comparaison de la séquence en acides aminés du domaine transmembranaire de différents substrats, il a été mis en évidence la présence de résidus Valine et Leucine (extrêmement conservés) au niveau du site de clivage  $\epsilon$  : ceux-ci serviraient à la reconnaissance et au clivage des substrats [47,48,58].

Voici un tableau récapitulatif des principaux substrats, des produits de clivage et de leurs fonctions (Tableau V). Certaines de ces voies seront développées dans ce chapitre.

| Protéine substrat                            | Fonction de la protéine                                            | Produit de clivage            | Fonction du produit de clivage                                                                    |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| APLP1/APLP2 (Amyloid-Precursor-Like-Protein) | Membres de la famille APP                                          | ALID (nucléaire)              | Activité transcriptionnelle                                                                       |
| ApoER2 (Apolipoprotéin-E Receptor 2)         | Récepteur de lipoprotéine ; Signalisation                          | ND (nucléaire)                | Régulation de la signalisation                                                                    |
| APP                                          | Fonction synaptique                                                | AICD (nucléaire)              | Activité transcriptionnelle                                                                       |
| CD44                                         | Adhésion cellulaire                                                | CD44-ICD (nucléaire)          | Régulation transcriptionnelle                                                                     |
| CSF1 (Colony-Stimulating Factor 1)           | Récepteur Tyrosine Kinase ; Division et différenciation cellulaire | ND (nucléaire)                | ND                                                                                                |
| DCC                                          | Récepteur de la Netrine-1 ; Guidage axonal ; Survie cellulaire     | DCC-ICD (nucléaire)           | Activité transcriptionnelle ; Atténuation du signal                                               |
| Delta                                        | Ligand dans la voie Notch                                          | DIICD (nucléaire)             | Régulation de la prolifération cellulaire                                                         |
| E-cadherine                                  | Adhésion cellulaire                                                | Ecad/CTF2 (cytoplasmique)     | Régulation de l'adhésion cellulaire ; Dégradation de l'APP ; Localisation de la $\beta$ -caténine |
| Ephrine-B1                                   | Ligand pour le récepteur Tyrosine kinase à Ephrine-B               | ND (nucléaire)                | Régulation de la polymérisation de l'actine                                                       |
| Ephrine-B2                                   | Ligand pour le récepteur Tyrosine kinase à Ephrine-B               | Ephrin-B2/CTF2 (ND)           | Phosphorylation de Src                                                                            |
| ErbB4                                        | Récepteur Tyrosine Kinase                                          | ErbB4-ICD ou 4ICD (nucléaire) | Activité transcriptionnelle ; apoptose                                                            |



| Protéine substrat                                  | Fonction de la protéine                                                                  | Produit de clivage                      | Fonction du produit de clivage                                                                                       |
|----------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| $\gamma$ -Protocadherine                           | Connections synaptiques                                                                  | $\gamma$ -ICD ou Pcdhy-CTF2 (nucléaire) | Activité transcriptionnelle                                                                                          |
| GHR (Growth Hormone Receptor)                      | Récepteur de cytokines                                                                   | GHR stub (nucléaire)                    | ND                                                                                                                   |
| GluR3 (Glutamate Receptor Subunit 3)               | Récepteur transmembranaire au glutamate                                                  | ND (cytoplasmique)                      | Modulation de l'activité du récepteur                                                                                |
| HLA-A2                                             | Protéine du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) de classe 1 = Réponse immunitaire | HLA-A2 ICD (ND)                         | Dégradation de HLA-A2                                                                                                |
| Jagged                                             | Ligand dans la voie Notch                                                                | JICD (nucléaire)                        | Activité transcriptionnelle                                                                                          |
| LRP1                                               | Récepteur de lipoprotéine ; Endocytose ; Signalisation                                   | LRP1ICD (nucléaire)                     | Régulation transcriptionnelle                                                                                        |
| N-cadherine                                        | Adhésion cellulaire                                                                      | Ncad/CTF2 (nucléaire)                   | Régulation de l'adhésion cellulaire ; Dégradation de CBP ; Localisation de la $\beta$ -caténine                      |
| Nectine 1 $\alpha$                                 | Connections synaptiques                                                                  | NE-ICD (cytoplasmique)                  | Régulation de l'adhésion cellulaire                                                                                  |
| Notch                                              | Récepteur dans la voie Notch                                                             | NICD (nucléaire)                        | Activité transcriptionnelle                                                                                          |
| NRADD                                              | Apoptose                                                                                 | NRICD (nucléaire)                       | ND                                                                                                                   |
| p75 <sup>NTR</sup> (Neurotrophin Receptor)         | Récepteur aux neurotrophines                                                             | P75ICD (ND)                             | Activation de Rho ; Survie cellulaire ; Régulation transcriptionnelle                                                |
| SCN $\beta$ 2                                      | Sous-unité du canal sodique voltage-dépendant ; Adhésion cellulaire                      | $\beta$ 2-ICD (cytoplasmique)           | Régulation de l'adhésion cellulaire et de la migration                                                               |
| Syndecan 3                                         | Protéoglycane héparane sulfate                                                           | SICD (ND)                               | Contrôle de la localisation des protéines associées (ex : CASK = Calcium/Calmodulin-dépendant Serine protein Kinase) |
| Tyrosinase/TYRP1/ TYRP2 (Tyrosine-Related Protein) | Synthèse de mélanine                                                                     | ND (ND)                                 | Régulation de mélanine ; Localisation de la Tyrosinase                                                               |

**Tableau V :** Substrats de la  $\gamma$ -secrétase, produits de clivage et fonctions respectives [58,62].  
(ICD = IntraCellular Domain, ND = Not Detected, CTF = Carboxy-Terminal Fragment)



Outre son rôle dans la MA, la  $\gamma$ -secrétase intervient donc également dans de nombreux processus cellulaires. Les protéines transmembranaires protéolysées par la  $\gamma$ -secrétase ou leurs produits de clivage sont essentiels : par exemple dans l'adhésion cellulaire, dans la production du peptide amyloïde, dans l'apoptose, dans la réponse immunitaire, dans la maturation et le transport de certaines protéines, dans la différenciation cellulaire, ou comme récepteurs, facteurs de transcription...

#### 2.4.1. Notch

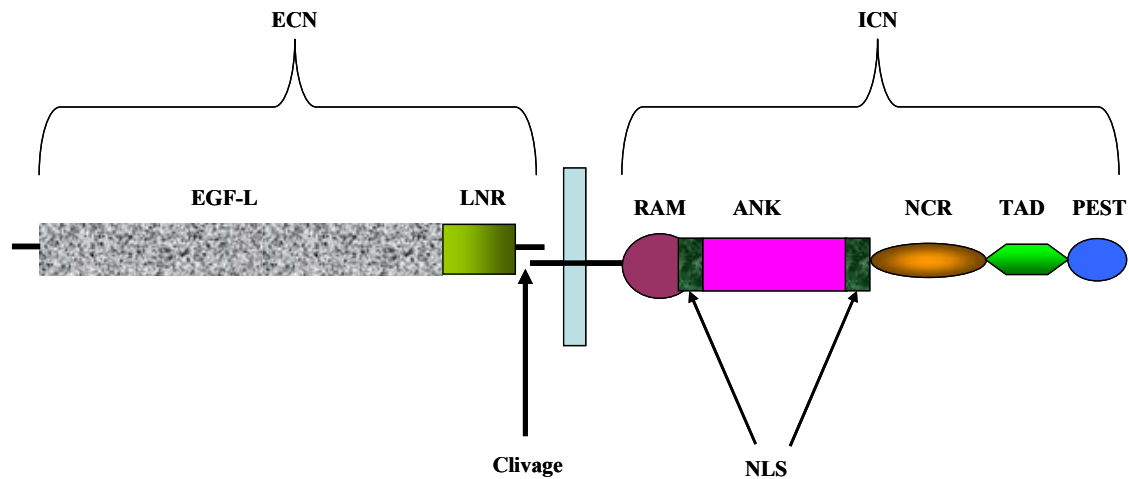
La voie de signalisation Notch, extrêmement conservée au cours de l'évolution, est impliquée dans de multiples processus cellulaires, tels que la morphogenèse, l'apoptose, la prolifération cellulaire... Le fonctionnement de cette voie nécessitant l'intervention de la  $\gamma$ -secrétase est détaillé ci-après.

##### 2.4.1.1. Mécanisme d'action

La voie de signalisation Notch consiste à transmettre un signal de cellules en cellules. On observe donc une interaction entre un ligand appartenant à une cellule et un récepteur se situant sur une cellule voisine.

Les ligands sont de type DSL (Delta-Serrate-Lag2 correspondant aux ligands de trois espèces différentes : l'homme, la Drosophile et C.elegans) ; chez l'homme, il en existe cinq : Delta-Like 1,3,4 et Jagged 1,2. Ce sont des protéines transmembranaires de type I, contenant de nombreux domaines extracellulaires EGF-like (Epidermal Growth Factor) dont le rôle est de stabiliser la liaison au récepteur Notch. A leur extrémité N-terminale, le domaine DSL (domaine EGF-like dégénéré, c'est à dire dépourvu d'un résidu cystéine) est nécessaire pour l'activation du signal Notch via un domaine spécifique EGF-like situé sur la partie extracellulaire des récepteurs.

Les récepteurs Notch sont aussi des protéines transmembranaire de type I. Il existe quatre gènes codant pour ceux-ci (Notch1, Notch2, Notch3 et Notch4), les récepteurs correspondant ont tous une composition moléculaire similaire. Ces quatre isoformes possèdent entre vingt-quatre et trente-six motifs EGF-like répétés en tandem sur le domaine extracellulaire (dont les domaines 11 et 12 essentiels pour la liaison avec le ligand), suivis de trois motifs Lin-12 (abnormal cell LINEage 12) servant à empêcher une activation inappropriée de Notch en l'absence de ligands spécifiques mais aussi étant impliqués dans la stabilité et la dimérisation du récepteur ; et sur le domaine intramembranaire, plusieurs motifs importants dont six motifs de type ankirine répétés en tandem nécessaires pour la transmission du signal, deux séquences de localisation nucléaire (NLS), un domaine RAM pour la liaison avec la protéine CSL dans le noyau, une région d'activation transcriptionnelle (TAD), un domaine NCR chargé de la réponse aux cytokines et un motif PEST à l'extrémité C-terminale régulant négativement l'activation de Notch (Figure XXXI) [51,63,64].



**Figure XXXI :** Schéma des principaux domaines du récepteur Notch [64].

(ECN = Domaine extracellulaire, ICN = Domaine intracellulaire, EGF-L = motifs Epidermal Growth Factor-Like répétés, LNR = motifs Lin-12 répétés, RAM = motif servant à la liaison avec CSL dans le noyau, NLS = séquences de localisation nucléaire, ANK = motifs Ankyrine répétés, NCR = domaine de réponse aux cytokines, TAD = région d'activation transcriptionnelle, PEST = domaine régulant négativement l'activation de Notch)

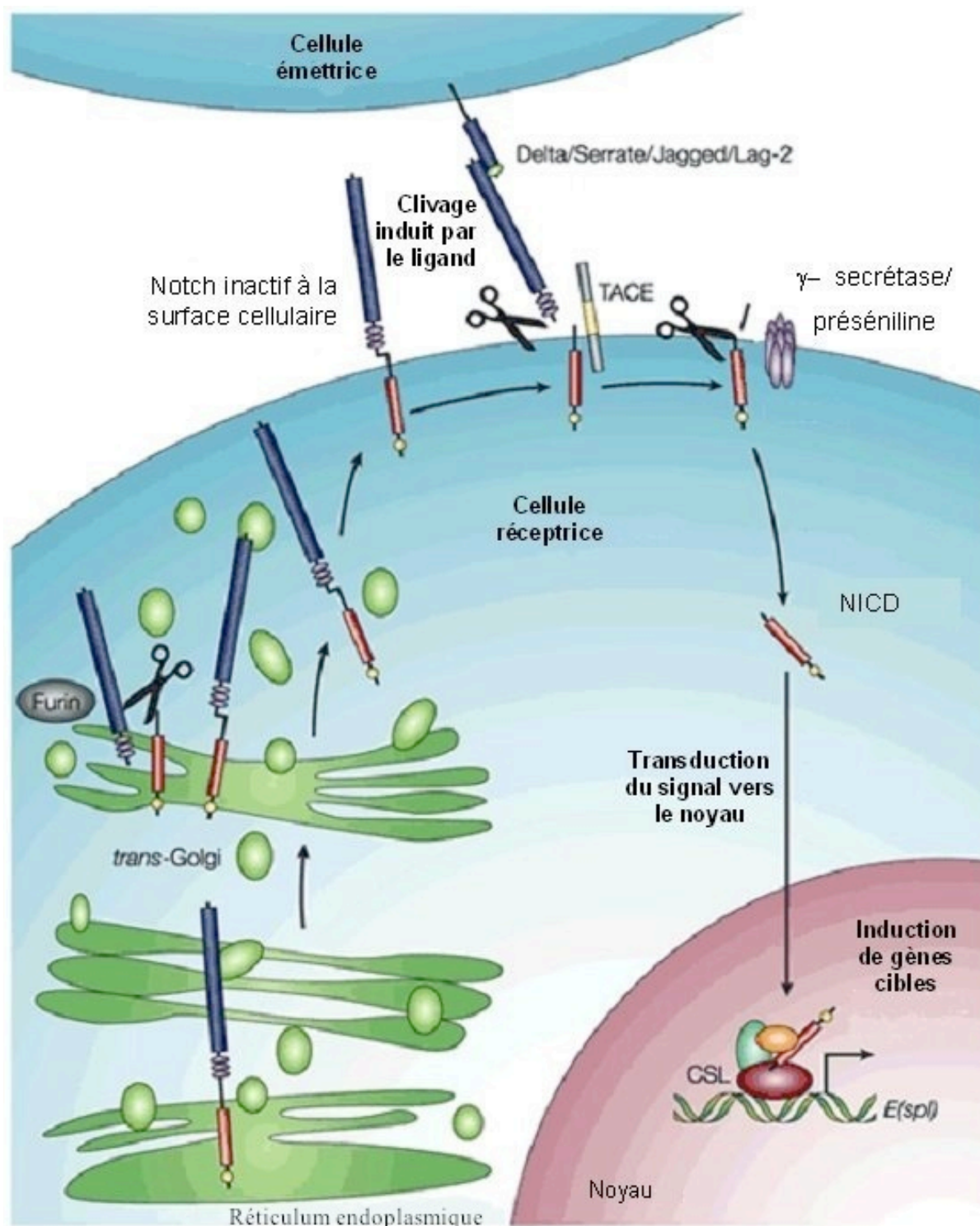
Après sa synthèse dans le réticulum endoplasmique, la protéine Notch d'environ 300 kDa (plus précisément son précurseur) subit tout d'abord un clivage au site S1 par une convertase de type furine au niveau de l'appareil de Golgi. Ce clivage la transforme en un hétérodimère, composé d'une sous-unité extracellulaire et d'une sous-unité transmembranaire liées de façon non covalente, lui permettant de se lier aux ligands lorsqu'elle sera arrivée à la surface cellulaire. Cette interaction avec un ligand d'une cellule émettrice, produit un changement conformationnel et entraîne le clivage de Notch au site S2 par la métalloprotéase ADAM10 ou ADAM-17 (TACE). Le clivage de l'ectodomaine de Notch lui permet alors d'être substrat de la  $\gamma$ -secrétase, qui va la cliver au niveau du site S3 au coeur du domaine transmembranaire (position équivalente au site  $\epsilon$  sur l'APP) libérant ainsi NICD (Notch IntraCellular Domain), puis au niveau du site S4 (équivalent du site  $\gamma$  pour l'APP). Quant à la partie extracellulaire de Notch, elle sera alors endocytée avec le ligand dans la cellule émettrice.

Le fragment NICD libéré dans le cytosol sera transloqué au noyau où il va s'associer via son domaine RAM avec une protéine de la famille CSL (CBF1-Su(H)-Lag1 correspondant aux trois espèces différentes) : chez l'homme, elle est nommée CBF1 (C protein Binding Factor 1) ou RBP-J $\kappa$ . Cette protéine a un rôle de répresseur transcriptionnel ; cependant lors de son interaction avec NICD, CSL subira une modification allostérique entraînant le recrutement de co-activateurs comme la protéine MAM (Mastermind), elle-même responsable du recrutement d'une histone acétyltransférase p300, faisant alors changer CSL en activateur transcriptionnel. NICD agira ainsi comme facteur de transcription sur des gènes cibles (Figure XXXII) [63,65,66,67].

Comme gènes cibles, on peut citer : les gènes Hes (Hairy Enhancer of Split) ou Herp (HES related Repressor Protein), tous deux induisant l'expression de protéines de la famille bHLH (basic Helix-Loop-Helix) ayant normalement un rôle de répresseur transcriptionnel vis à vis de gènes de la neurogénèse. D'autres gènes cibles sont aussi activés par Notch : NRARP (Notch-Regulated Ankyrin-Repeat Protein) régulant négativement la voie de Notch, Deltex1

exprimant une protéine activant Notch, pre-T $\alpha$  (pre-T-cell receptor alpha chain) impliqué dans la différenciation lymphocytaire T, Cdkn1a (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1a protein) exprimant des protéines régulatrices de cycle cellulaire, p21 (cyclin-dependant kinase inhibitor) régulateur de cycle cellulaire et ayant un rôle dans la réponse au stress, NF- $\kappa$ B associé à des facteurs anti-apoptotiques, GATA ayant un rôle dans l'hématopoïèse, ou c-Myc qui est un proto-oncogène...

L'activation de ces gènes est terminée dès lors qu'il y a dégradation de Notch entraînant le désassemblage du complexe nucléaire. En fait, Notch sera tout d'abord phosphorylé par CDK8 (Cyclin-Dependent Kinase-8), lui permettant d'être substrat de l'ubiquitine ligase nucléaire SEL10 responsable de sa destruction [63,66,68].



**Figure XXXII :** Voie de signalisation Notch [69].

#### 2.4.1.2. Fonctions physiologiques

La voie de signalisation Notch contrôle le destin des cellules dans l'organisme, dès le développement embryonnaire et ce durant toute la vie, en induisant positivement ou négativement un des processus suivant : auto-renouvellement, différenciation, prolifération, ou apoptose.

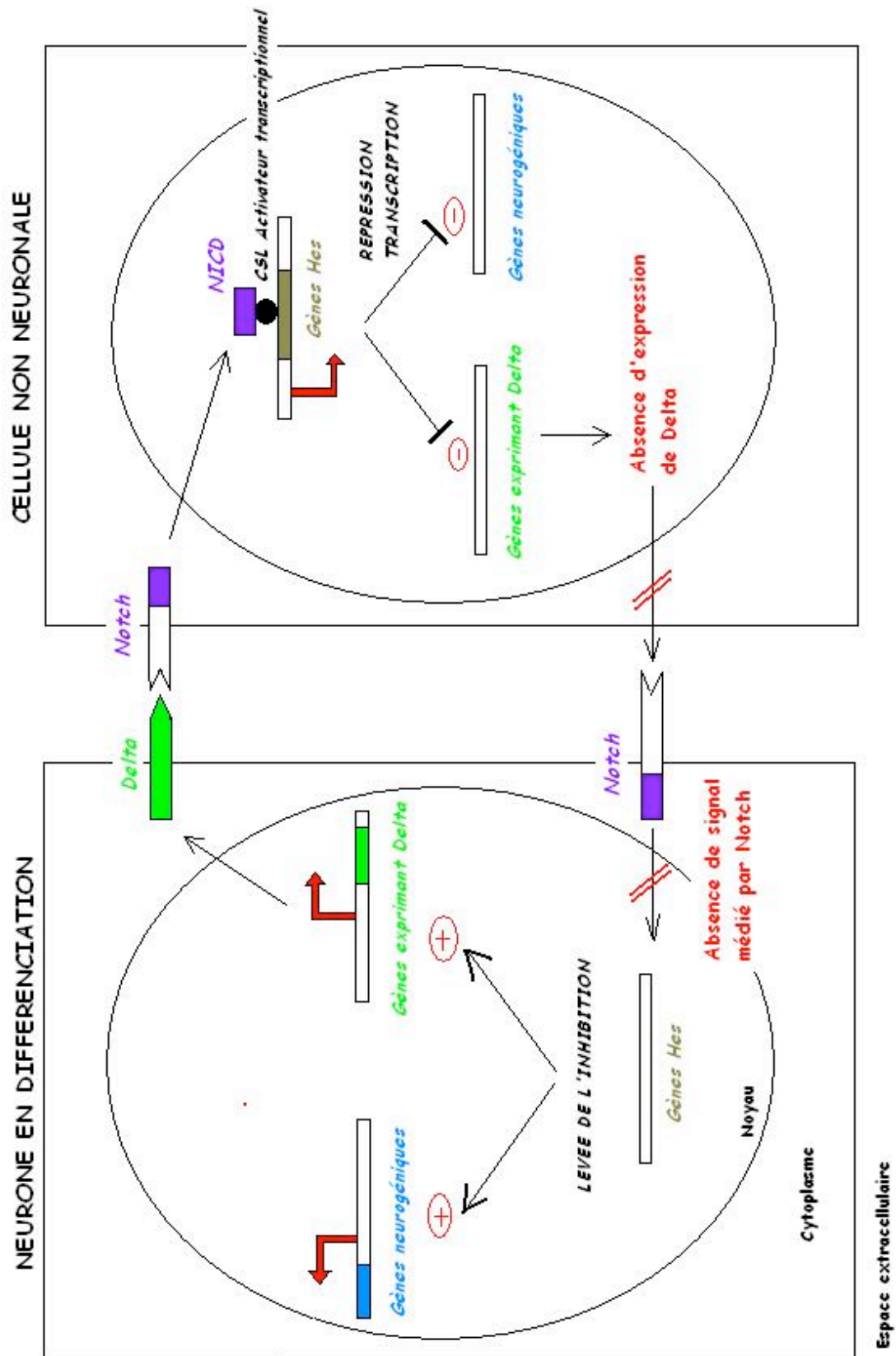
#### ✓ Développement et régénération

La voie de signalisation Notch est responsable du développement du système nerveux et de la différenciation entre cellules neuronales et non-neuronales durant le développement embryonnaire. Selon certaines études, l'expression de Notch se ferait dès le stade précoce du blastocyste pendant la phase d'organogénèse.

La voie de Notch est impliquée dans la différenciation de cellules présentes au niveau de :

- la crête neurale (population de cellules souches multipotentes migrant et se différenciant en différents types cellulaires comme : les neurones du système nerveux périphérique, les méninges, le crâne, la peau...) ;
- le SNC ;
- le système vasculaire ;
- le cortex ;
- la moelle épinière ;
- les muscles squelettiques ;
- les cellules souches hématopoïétiques (maintien du pool de cellules souches, différenciation lymphocytaire T ou B selon le type de récepteur Notch) ;
- les cellules épidermiques ;
- les cellules intestinales... [63,64].

La différenciation entre cellules neuronales et non-neuronales se fait selon le processus d'inhibition latérale. Le principe est le suivant : la cellule émettrice va inhiber la différenciation cellulaire de la cellule réceptrice. A l'origine, deux cellules identiques appartenant à un pool de cellules indifférenciées expriment à la fois le récepteur Notch et un ligand (ex : Delta). Progressivement, les proportions relatives de récepteurs et de ligands à la surface des cellules vont changer : la cellule dite « émettrice » va augmenter sa synthèse de ligand (en sachant que la quantité de ligands exprimée par les cellules adjacentes détermine le niveau d'activation de Notch), ainsi la cellule dite « réceptrice » du signal va produire de plus en plus de récepteurs, et en parallèle dans cette même cellule on aura une diminution de l'expression de Delta (entraînant par conséquence dans la cellule « émettrice » l'inhibition de la synthèse de récepteurs). Une boucle d'amplification se crée jusqu'à l'émergence de deux cellules différentes. La cellule « réceptrice » exprimant Notch, restera indifférenciée : car l'augmentation de la transcription de gènes codant pour des répresseurs transcriptionnels comme des antagonistes de la différenciation neuronale, inhibe l'activation de gènes neurogéniques. D'autre part, la cellule « émettrice » exprimant seulement le ligand se différencie vers un devenir neuronal : car l'absence de signal médié par Delta entraîne l'expression de gènes pro-neuronaux (Figure XXXIII) [64,68].



**Figure XXXIII : Processus d'inhibition latérale.**

Cellule non neuronale indifférenciée : NICD est le facteur de transcription des gènes Hes inhibant l'activation des gènes neurogéniques et entraînant l'absence d'expression de Delta. Le signal médié par Notch entraîne l'inhibition de la différenciation de la cellule portant le récepteur Notch.

Cellule ou neurone en différenciation : l'absence de signal médié par Notch du à l'absence d'expression de Delta de la cellule voisine, entraîne donc une levée de l'inhibition et l'expression de gènes neurogéniques et de gènes exprimant Delta.

La voie de signalisation Notch contrôle la compétence de multiples types cellulaires à se différencier (inhibe ou induit la différenciation et maintient des cellules dans un état indifférencié). Suivant le type de récepteur Notch (différences structurales et fonctionnelles) et le type de ligand associé, on aura différentes réponses aussi bien spatiales que temporelles, différents rôles dans la différenciation.

Si il y a inhibition ou délétion de Notch au cours de l'embryogenèse, des désordres importants et létaux seront observés (ex : hypertrophie du système nerveux par surproduction de neurones).

La voie de signalisation Notch est aussi responsable de la régénération du SNC chez l'adulte. Les neurones d'un cerveau adulte vont exprimer Notch dans les régions de grande plasticité synaptique, particulièrement au niveau de l'hippocampe où il sera impliqué dans les changements de l'architecture cellulaire, ainsi que dans les fonctions du SNC (comme l'apprentissage et la mémorisation par l'intermédiaire de NF- $\kappa$ B). Il contrôlera donc la neurogenèse, la croissance axonale et dendritique, la plasticité synaptique, et la mort neuronale (ex : des études ont montré que l'activation de Notch inhibe la croissance neuritique alors que l'inhibition de Notch1 entraîne son extension).

Si il y a dérégulation du signal Notch, des désordres neurologiques chez l'adulte seront observés : certaines formes de MA (lié à un taux élevé de Notch1), d'AVC (ex : une forme d'AVC dénommée « CADASIL » si mutations de Notch3)...

Chez l'adulte, le signal Notch est également impliqué dans les processus de différenciation du système immunitaire et des cellules du tractus gastro-intestinal. L'inhibition de Notch a donc comme conséquences une forte toxicité gastro-intestinale et un défaut de maturation des lymphocytes B et T, entre autres... [64,65,70].

#### ➤ Conclusion

Embryogenèse, hématopoïèse, différenciation neuronale... voici quelques fonctions impliquant la voie de signalisation Notch. Récepteurs et ligands, largement exprimés durant l'organogenèse et dans les tissus adultes, contrôlent la destinée cellulaire en induisant de multiples réponses qui sont cependant très dépendantes du contexte cellulaire intrinsèque ou extrinsèque [63,68].

#### ✓ Cancer

Le signal Notch régule la prolifération cellulaire et l'apoptose aussi bien positivement que négativement en fonction du contexte cellulaire. Il est donc impliqué dans de multiples variétés de cancers, mais aura soit un rôle de suppresseur de tumeur, soit d'oncogène suivant le type cellulaire où il est exprimé...

Premièrement, en fonction du type cellulaire (ex : cancer du poumon) et du contexte (ex : conditions variables selon la concentration en oxygène), deux effets opposés peuvent être observés.

Deuxièmement, en fonction du type de récepteur Notch impliqué, la réponse sera différente (ex : dans le cancer du sein, Notch1 est inducteur, Notch2 sera suppresseur).

De plus, un mécanisme de dérégulation du signal Notch peut intervenir : translocations chromosomales, mutations, baisses d'actions d'antagonistes (ex : Numb) ; conduisant ainsi à une amplification du signal.

La signalisation Notch aura un rôle oncogénique dans le cas où elle inhibe l'apoptose (ex : Notch active l'expression de NF- $\kappa$ B2 stimulant l'expression de protéines anti-apoptotiques) et où elle induit une prolifération cellulaire (ex : l'activation de Notch induit l'expression de ERBB2 qui stimule la croissance et la prolifération cellulaire). C'est le cas dans le cancer du poumon non à petites cellules, le mélanome, le cancer colorectal, le cancer du pancréas, le cancer du col de l'utérus, le cancer du sein, le neuroblastome, la leucémie lymphoblastique aigüe, le myélome multiple...

Dans d'autres cas, Notch aura un rôle de suppresseur de tumeurs car il est capable d'induire l'arrêt du cycle cellulaire et d'avoir un rôle pro-apoptotique. Par exemple, dans le carcinome cutané, le cancer du poumon à petites cellules, l'hépatocarcinome, le cancer de la prostate...

Plusieurs essais cliniques de thérapies anticancéreuses en cours, sont basés sur l'hypothèse que l'association d'une chimiothérapie à un inhibiteur de gamma-sécrétase pourrait potentialiser l'efficacité de la chimiothérapie en augmentant la sensibilité des cellules. Cette piste thérapeutique semble intéressante pour cibler les tumeurs dépendantes d'une activité aberrante de Notch (cependant il a été mis en évidence quelques effets indésirables dont principalement une cytotoxicité au niveau du tractus gastrointestinal en cas de prise par voie orale ; c'est pourquoi des médicaments par voie parentérale sont en cours de développement).

L'inconvénient principal de cette nouvelle voie thérapeutique est l'inhibition du clivage des quatre récepteurs Notch sans distinction (ayant des effets opposés dépendants du contexte cellulaire et du type de tumeurs). La recherche essaie donc de développer des molécules qui auraient une plus grande spécificité et/ou affinité [63,64,65,66].

#### 2.4.2. Cadhérines et protocadhérines

Les cadhérines sont des protéines transmembranaires de type I, ayant un rôle dans les processus de reconnaissance et d'adhésion cellulaire, ainsi que dans la signalisation responsable de la plasticité synaptique. Il existe deux types de cadhérines : la E-cadhérine (épithéliale) et la N-cadhérine (neurale).

Dans l'adhésion cellulaire, dépendante du calcium, elles interagissent toutes deux avec la  $\beta$ -caténine, se liant ainsi avec le cytosquelette d'actine.

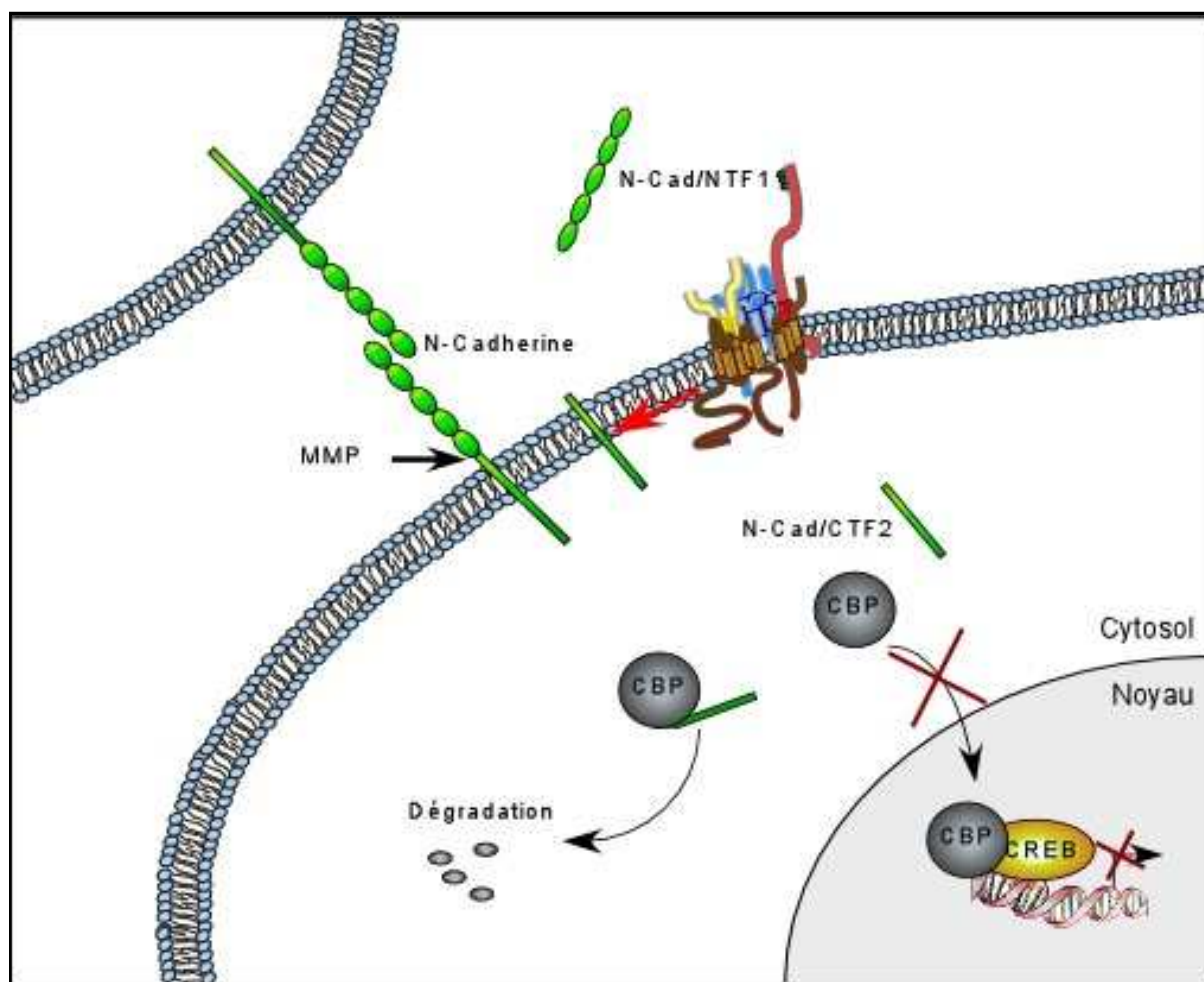
Concernant la signalisation cellulaire, les cadhérines auront diverses fonctions. Suite au clivage de leur ectodomaine par la métalloprotéase ADAM10, le fragment intramembranaire CTF1 ainsi formé devient substrat du complexe  $\gamma$ -sécrétase. CTF1 subit alors un clivage au site  $\epsilon$ , libérant CTF2 dans le cytosol. Les stimuli responsables de leurs clivages seraient soit une dépolarisation membranaire, soit une activation directe par les récepteurs NMDA.

- Dans le cas de la E-cadhérine, le fragment intracellulaire Ecad/CTF2 reste lié à la  $\beta$ -caténine et la stabilise dans le cytoplasme. Si un élément vient déstabiliser cette interaction (ex : phosphorylation par une tyrosine kinase), la  $\beta$ -caténine sera transloquée dans le noyau et entraînera une modification de la transcription dépendante de LEF-1 (Lymphocyte-Enhancer Factor-1) impliquée la prolifération et la migration cellulaire.

- Concernant la N-cadhérine, le fragment intracellulaire Ncad/CTF2 se lie à une protéine dans le cytosol appelée CBP (CREB Binding Protein). En temps normal, CBP agit au niveau du noyau comme cofacteur de la protéine CREB (cAMP-dépendant Response Element Binding protein) et induit ainsi la transcription de gènes cibles impliqués dans de nombreux processus cellulaires. Les plus notables sont : la plasticité synaptique, la mémorisation et l'apprentissage. Cependant, lorsque Ncad/CTF2 se lie à CBP, il empêche sa translocation dans



le noyau, entraînant ainsi son ubiquitination et donc sa dégradation protéasomale. On observera alors une inhibition de la signalisation dépendante de CREB (Figure XXXIV).



**Figure XXXIV :** Voie de signalisation de la N-cadhérine [48].

Les protocadhérines sont en fait une sous-famille de cadhérines, présentent dans le système nerveux. Parmi plusieurs types, la  $\gamma$ -protocadhérine (ayant un rôle important dans la formation des synapses et leur maturation) est substrat de la  $\gamma$ -secrétase et son produit Pcdhy/CTF2 a un rôle de régulateur transcriptionnel [48,71].

#### 2.4.3. CD44

CD44 est une protéine impliquée dans les mécanismes d'adhésion cellulaire. Cependant, elle peut aussi être substrat du complexe  $\gamma$ -secrétase, libérant dans le cytoplasme le fragment CD44-ICD. Ce dernier, à l'inverse de Ncad/CTF2, sera transloqué dans le noyau et aura comme rôle de potentialiser la transcription de CREB dépendante du coactivateur CBP [48].

#### 2.4.4. Ephrine-B2

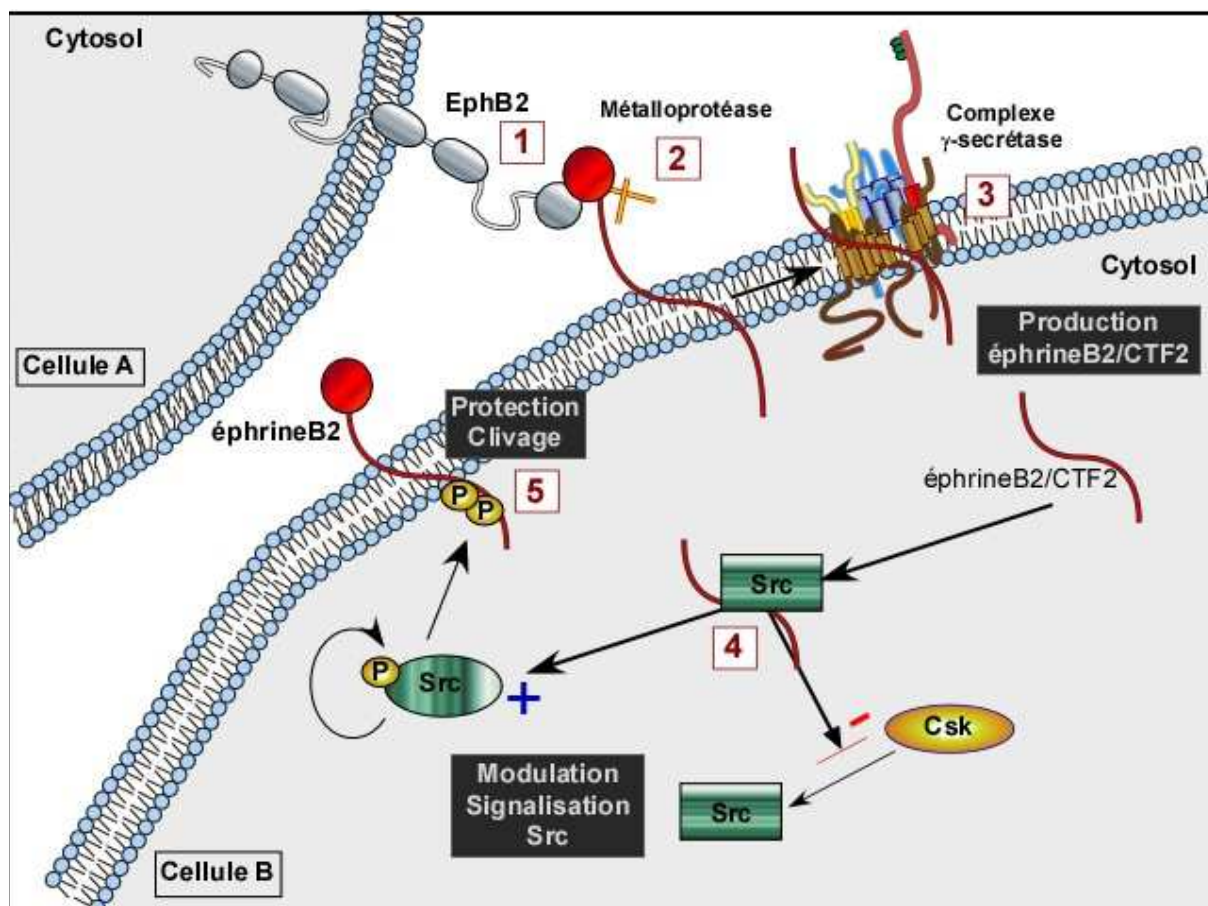
La voie de signalisation, impliquant les éphrines, est responsable de l'établissement de réseaux vasculaires et neuronaux au cours du développement embryonnaire (ex : régulation de l'assemblage et de la maturation des extrémités pré- et post-synaptiques des synapses



excitatrices), ainsi que de la plasticité des connexions neuronales dans le cerveau adulte au niveau de l'hippocampe, du cortex et du cervelet (où les changements en nombre et en taille de synapses sont importants pour l'apprentissage et la mémorisation). D'autres rôles lui sont également attribués : adhésion cellulaire, prolifération, différenciation, survie, sécrétion, inflammation...

L'EphrineB2 est une protéine transmembranaire capable de se lier à un récepteur à éphrines spécifique (EphB2). Ce récepteur fait parti des récepteurs à tyrosine kinase et joue un rôle dans la régulation de la fonction synaptique.

Suite à cette interaction ligand-récepteur entre deux cellules voisines, l'EphrineB2 subit un premier clivage par une métalloprotéase, puis un second par le complexe  $\gamma$ -secrétase. Le fragment éphrineB2/CTF2 ainsi produit, se liera dans le cytoplasme à la kinase Src. La signalisation de cette dernière en sera modulée car on observera une inhibition de son association avec la kinase Csk (C-terminal Src Kinase) qui normalement est responsable de la régulation du flux calcique dépendant des récepteurs NMDA (séquestration du calcium au niveau de la synapse en cas de stimulation de l'EphrineB2). De plus cela entraînera l'autophosphorylation de Src qui par conséquence, phosphorylera l'EphrineB2 intacte, la protégeant alors du clivage intramembranaire : il s'agit donc d'un rétrocontrôle négatif (Figure XXXV) [48,72].



**Figure XXXV :** Signalisation induite suite au clivage de l'éphrineB2 par la  $\gamma$ -secrétase [48].

#### 2.4.5. DCC

DCC (Deleted in Colorectal Cancer) est une protéine transmembranaire de type I, appartenant à la famille des récepteurs à dépendance : « la cellule qui exprime ces récepteurs est donc dépendante de la présence du ligand pour survivre ».

DCC est connu pour être impliqué dans de nombreux cancers dont le cancer colorectal. En fait, en absence de son ligand (la Netrine-1), il est considéré comme un « suppresseur de tumeurs » car il est capable d'induire l'apoptose des cellules qui ont proliféré ou migré dans des tissus déficitaires en Netrine-1. A l'inverse, la perte d'expression de ce récepteur ou la surexpression de son ligand favoriserait le développement tumoral car à l'origine de signaux de prolifération, de différenciation ou de migration.

DCC est également localisé dans le neurone au niveau des aires dendritiques et des cônes de croissance au cours du développement embryonnaire (ex : migration neuronale et guidage axonal) et aussi dans les tissus adultes en renouvellement. Lorsque DCC ne se lie pas à la Netrine-1, il induit un signal apoptotique pour la cellule l'exprimant (« répulsion »). Par contre, si il y a liaison entre le récepteur DCC et son ligand, il induira une voie de signalisation de survie cellulaire (« attraction »). DCC sera clivé par une métalloprotéase, puis le fragment transmembranaire DCC- $\alpha$  sera substrat du complexe  $\gamma$ -secrétase et produira ainsi le fragment cytosolique DCC-ICD.

DCC- $\alpha$  est à l'origine d'une cascade de signalisation : la cascade cAMP/PKA impliquée dans la transmission synaptique et dans les processus de mémorisation car on peut observer une augmentation de la croissance neuritique et de la transmission synaptique glutamatergique. Donc, en cas de production de DCC-ICD, il y a inhibition de cette signalisation mais activation transcriptionnelle par DCC-ICD vis à vis de gènes cibles [48,73].

#### 2.4.6. ErbB4

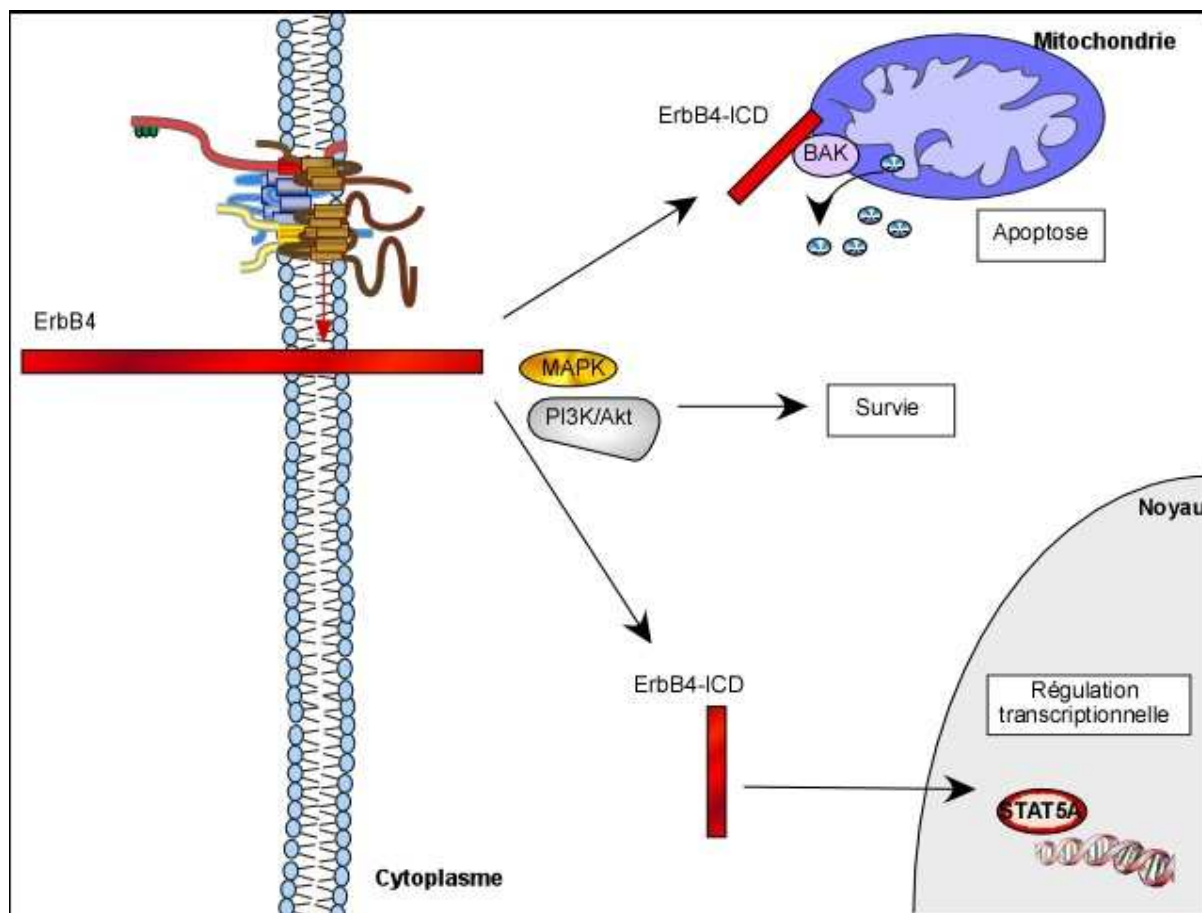
ErbB4 est un récepteur à tyrosine kinase impliqué dans l'activation des voies de survie cellulaire. Lorsqu'il est stimulé par des facteurs de croissance, on observe une phosphorylation et une activation des MAP kinases, ERK1, ERK2 et PI-3 kinase ; toutes impliquées dans la survie cellulaire (ex : prolifération, migration, différenciation).

Mais ErbB4 après avoir été clivé au niveau de son domaine extracellulaire par ADAM17 (suite à la liaison avec son ligand : la « neuréguline »), peut aussi être substrat du complexe  $\gamma$ -secrétase. Un fragment cytosolique dénommé ErbB4-ICD, sera alors produit.

Soit, il aura un rôle dans l'apoptose car il possède un domaine commun aux protéines pro-apoptotiques de la famille BH3. Ainsi, sa localisation sera mitochondriale. Il aura comme effets la perméabilisation mitochondriale dépendante de BAK, l'expulsion du cytochrome C et enfin l'apoptose.

Soit, il joue le rôle de facteur de transcription vis à vis de gènes impliqués dans la lactogénèse. Dans le noyau, il se lie avec STAT5A, permettant l'activation du promoteur de la  $\beta$ -caséine (Figure XXXVI).

Soit, il induit une augmentation de l'expression et de l'activité d'un autre facteur de transcription : le « suppresseur de tumeur » p53. En fait, le fragment ErbB4-ICD, en s'associant à l'ubiquitine ligase Mdm-2 (régulateur négatif de p53), va provoquer sa phosphorylation et sa dégradation, induisant ainsi une élévation du taux de p53 [48,74,75].



**Figure XXXVI : Voie de signalisation de ErbB4 [48].**

### Conclusion :

La connaissance du complexe  $\gamma$ -secrétase ne cesse d'évoluer. Son rôle décisif dans la formation du peptide A $\beta$ , en a fait une cible de choix dans le traitement de la MA. Cependant, celui-ci est essentiel dans de nombreux autres processus physiologiques. Ces dernières années, les inhibiteurs de  $\gamma$ -secrétase synthétisés étaient responsables de sérieux effets indésirables (principalement des saignements gastro-intestinaux, des problèmes immunitaires, des cancers de la peau...), car ils n'étaient pas spécifiques du clivage de l'APP. C'est pourquoi, désormais le challenge est de développer des molécules n'interférant pas avec d'autres substrats.

## **Partie 3**

### **Médicaments en essais cliniques actifs sur la $\gamma$ -secrétase**

### 3. Médicaments en essais cliniques actifs sur la $\gamma$ -secrétase

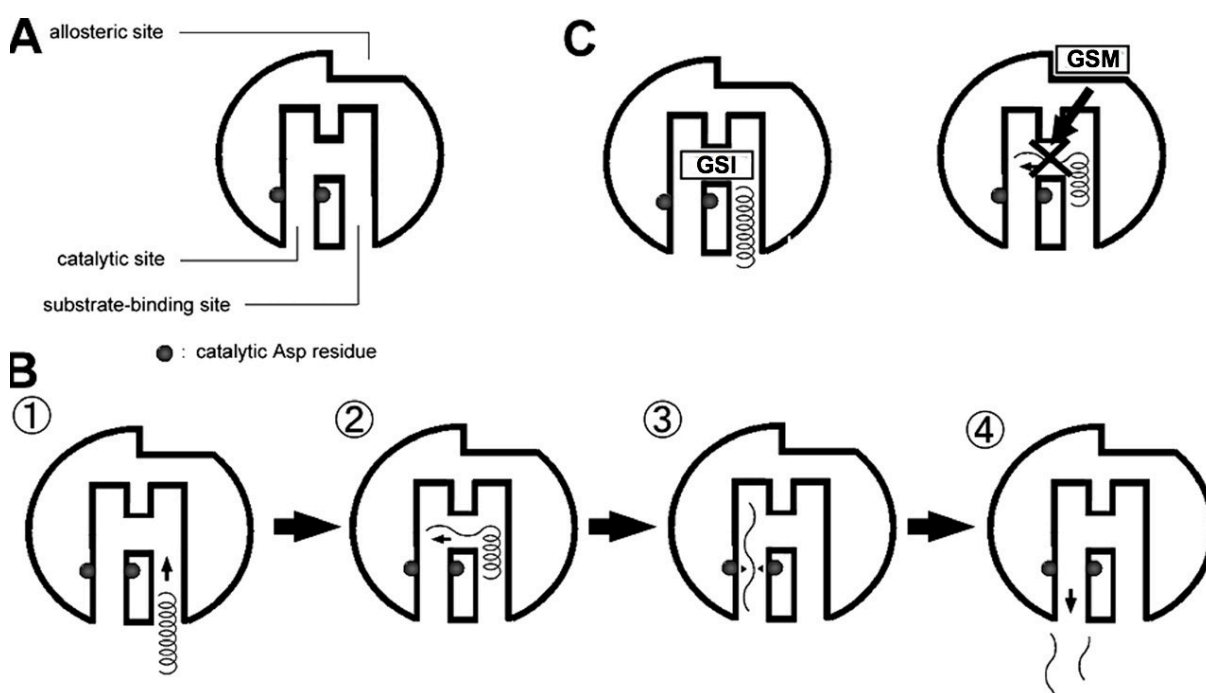
La  $\gamma$ -secrétase a fait l'objet du plus grand nombre d'essais cliniques parmi les différentes cibles thérapeutiques de la MA. Elle représente une des cibles principales contre laquelle une multitude de molécules différentes a été testée sur des modèles animaux et chez les humains.

La conception de nouvelles molécules dans la MA doit respecter de nombreux critères :

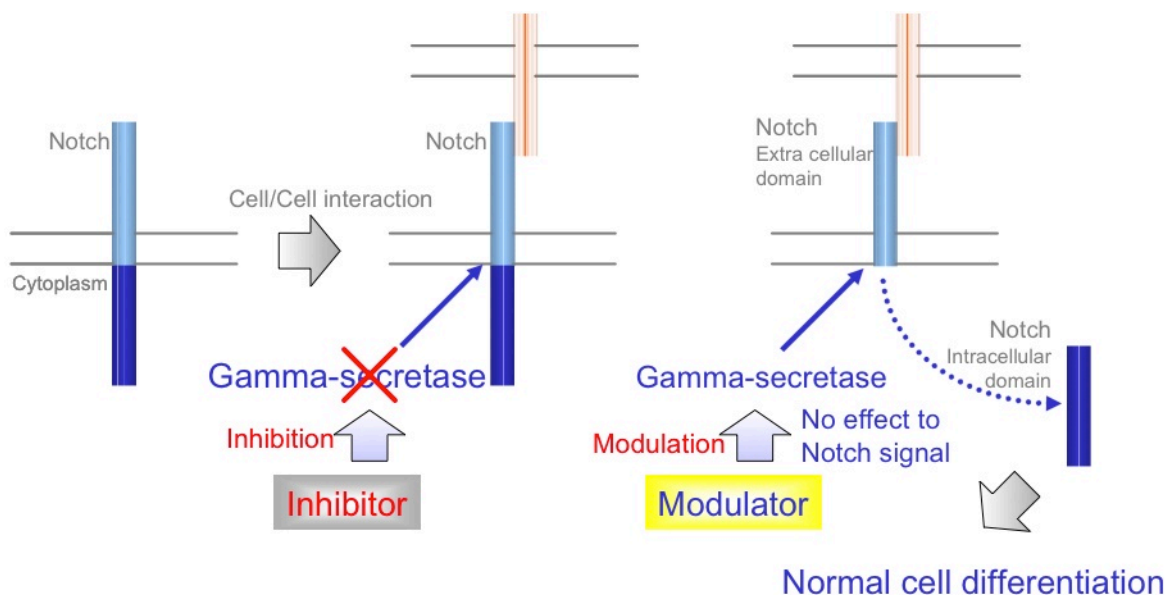
- une bonne biodisponibilité par voie orale ;
- une bonne diffusion cérébrale (capable de traverser la barrière hémato-encéphalique par diffusion passive, le plus souvent, ou par transport actif) ;
- une taille relativement petite en cas de diffusion passive (poids moléculaire < 400 Da) et une balance hydrophile-lipophile idéale ;
- une bonne efficacité (puissance) ;
- une bonne sélectivité (vis à vis d'autres substrats comme Notch).

Trois compartiments du corps humain sont relativement importants au cours de ces études : il s'agit du cerveau, du Liquide Céphalo-Rachidien (LCR) et du plasma. Reliés tous les trois, les peptides A $\beta$  y circulent et servent alors de biomarqueurs dans l'analyse de l'activité des molécules.

Les inhibiteurs de  $\gamma$ -secrétase (GSI) et les modulateurs de  $\gamma$ -secrétase (GSM) auront des mécanismes d'action spécifiques. Les GSI vont bloquer le site actif de l'enzyme, alors que les GSM seront à l'origine d'une modulation allostérique, modifiant la conformation de l'enzyme (Figure XXXVII). Ces deux modes d'action auront ainsi des conséquences différentes sur le clivage de Notch : les GSI vont plus ou moins inhiber la voie Notch, alors que les GSM n'affecteront pas cette voie de signalisation (Figure XXXVIII) [76,77].



**Figure XXXVII :** Mécanisme d'action des inhibiteurs (GSI) et des modulateurs (GSM) de  $\gamma$ -secrétase.  
(A) Schéma de l'enzyme. (B) Mode d'action de l'enzyme dans le clivage d'un substrat. (C) Mode d'action des GSI et des GSM [78].



**Figure XXXVIII :** Mécanisme d'action des inhibiteurs et des modulateurs de  $\gamma$ -secrétase vis à vis de Notch [79].

### 3.1. Inhibiteurs de $\gamma$ -secrétase (GSI)

Le mécanisme d'action des GSI est de bloquer le processus d'entrée du substrat de l'environnement hydrophobe à l'environnement hydrophile au sein même de la bicouche lipidique.

On distingue deux générations de GSI.

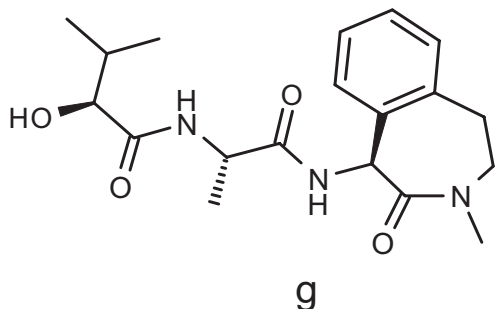
La première génération cible directement le site actif de l'enzyme et empêche la fixation du substrat : soit en se fixant à sa place ou bien en empêchant l'enzyme de catalyser sa réaction. Plusieurs molécules ont été découvertes par criblage pharmacologique à haut-débit (test de plusieurs milliers de molécules par jour synthétisées grâce à la chimie combinatoire). Une seule molécule a fait l'objet d'essais cliniques chez l'homme : il s'agit du LY450139 ; les autres (L-685,458, DAPT, compound E, LY411575...) n'avaient pas d'assez bonnes propriétés in vitro.

L'inconvénient majeur de ces molécules est l'inhibition d'autres substrats comme Notch, entraînant alors beaucoup d'effets indésirables. Entre autres, une toxicité gastro-intestinale (hyperplasie de cellules intestinales, changements de population cellulaire au niveau de l'iléon), une altération de la fonction immunitaire (altération de la lymphopoïèse, atrophie thymique résultant à une susceptibilité accrue aux infections) ou une toxicité au niveau de la peau (cancers cutanés)...

La seconde génération de GSI aura une sélectivité plus grande pour l'APP par rapport à Notch (« modulateurs de  $\gamma$ -secrétase sélectifs d'A $\beta$ 40 »). Grâce au BMS-299897, on a découvert que des composés sulfamidés ciblaient le complexe  $\gamma$ -secrétase sur un site distinct des GSI de première génération : au niveau du site de liaison du substrat. Actuellement, plusieurs molécules sont en essais cliniques chez l'homme : MK-0752, GSI-953, BMS-708163, et PF-3084014.

### 3.1.1. LY450139 / Sémagacestat (Laboratoire Eli Lilly)

Figure XXXIX : Structure du LY450139 [80].



#### 3.1.1.1. Phase préclinique

In vitro (sur cultures cellulaires), l'efficacité d'une molécule (autrement dit sa puissance) est quantifiée par l'IC<sub>50</sub> (Inhibitory Concentration 50 = Concentration d'un médicament antagoniste nécessaire pour inhiber un processus biologique de 50%). L'IC<sub>50</sub> du Sémagacestat sur l'APP est de 15 nM. Son IC<sub>50</sub> sur Notch est de 49 nM ; soit 3,3 fois plus sélectif vis à vis d'APP que de Notch.

L'affinité d'une molécule vis à vis d'une enzyme est quantifiée par le K<sub>i</sub> (K<sub>d</sub> de l'inhibiteur). Soit  $K_i = IC_{50} / (1 + [S] / K_d)$ . K<sub>i</sub> est l'affinité de liaison de l'inhibiteur, [S] est la concentration du substrat et K<sub>d</sub> est la constante de dissociation du substrat pour l'enzyme. Cette constante est utilisée comme un indice d'efficacité d'inhibition par rapport à d'autres inhibiteurs. Ici, le K<sub>i</sub> du Sémagacestat est de l'ordre de 26 nM.

In vivo (chez des modèles animaux), le Sémagacestat a montré des effets positifs sur les taux d'Aβ dans le cerveau, le LCR et le plasma. Mais au cours d'études chroniques, aucun effet significatif sur les dépôts d'Aβ dans le cerveau, ni sur les effets cognitifs et comportementaux n'ont été observés. Cependant, une altération des fonctions gastro-intestinales et immunitaires a néanmoins été rapportée [81,82].

#### 3.1.1.2. Essais cliniques de Phase I

Phase Ia : Une évaluation de la sécurité d'emploi, de la tolérance et de la réponse de biomarqueurs a été faite chez 31 volontaires sains hommes et femmes de plus de 40 ans après administration orale d'une dose de 60, 100 ou 140 mg de Sémagacestat.

Les résultats pharmacocinétiques montrent une bonne absorption (> 90%), une concentration plasmatique maximale C<sub>max</sub> atteinte au bout d'1h, puis une élimination rapide de la circulation sanguine (avec un temps de demi-vie t<sub>1/2</sub> dans le plasma de 2,4h). La pénétration de la molécule dans le SNC est d'environ 8%. Suite à l'implication du cytochrome P450 CYP3A4 et CYP3A5, deux métabolites majeurs, dénommés M2 et M3, sont produits au niveau hépatique et représentent environ 20% de la dose initiale. L'élimination est principalement urinaire (environ 87%).

L'analyse des concentrations d'Aβ dans les échantillons de LCR et de plasma a été réalisée par la méthode immuno-enzymatique ELISA utilisant un anticorps anti-Aβ. Les résultats pharmacodynamiques montrent une diminution maximale du taux d'Aβ<sub>40</sub> plasmatique (-72,6%) à 6h après l'administration d'une dose de 140 mg. Cependant, un effet rebond dépassant la valeur de référence est observé entre 8h et 12h et se prolonge jusqu'à 24h. Les concentrations d'Aβ dans le LCR restent inchangées 4h après l'administration de la molécule.



La tolérance est bonne. Il n'y a pas d'effets secondaires cliniques significatifs observés, ni d'effets toxiques significatifs démontrés sur le système immunitaire.

Le Sémagacestat pénètre bien dans le SNC. La diminution du taux d'Aβ plasmatique prouve qu'il y a bien une réduction de la production d'Aβ dans le cerveau. L'absence de diminution significative des concentrations d'Aβ dans le LCR serait due soit à un transport très rapide d'Aβ du LCR au plasma, soit à un manque de puissance de l'étude (il faudrait peut-être une durée de traitement beaucoup plus longue ou un nombre de sujets plus important pour pouvoir identifier ces changements) [77,80,81].

Phase Ib : L'administration de doses quotidiennes de Sémagacestat variant de 5 à 50 mg sur une durée de 14 jours a été testée chez 37 volontaires sains hommes et femmes de 45 ans et plus.

Les résultats pharmacocinétiques demeurent identiques à ceux de la Phase Ia.

Les résultats pharmacodynamiques montrent une diminution dose-dépendante des taux d'Aβ plasmatiques, par exemple après administration de 50 mg on observe une réduction de 40% d'Aβ total plasmatique qui revient à la valeur de référence en 8h. Par contre, comme dans la Phase Ia, un effet rebond est observé où les taux d'Aβ plasmatiques augmentent d'environ 300% à 15h après l'administration du Sémagacestat avant de rediminuer progressivement. Aux doses plus faibles (<50mg), les taux d'Aβ plasmatiques diminuent moins mais plus rapidement (bien que le rebond soit identique). Et il n'y a toujours pas de changements significatifs observés dans le LCR pour Aβ total (il y a bien une diminution mais qui est identique dans le groupe traitement et placebo).

La tolérance est bonne, seulement deux sujets dans le groupe 50 mg ont arrêté le traitement pour cause d'effets secondaires (augmentation significative de l'amylase et de la lipase dans le sérum pouvant être le reflet d'une toxicité pancréatique, douleurs abdominales, diarrhée) [81].

Phase Ic : L'évaluation des effets du Sémagacestat sur la production d'Aβ dans le SNC a été réalisée chez 27 hommes sains (de 21 à 50 ans) après administration orale d'une dose de 100, 140 ou 280 mg de la molécule ou d'un placebo (5 sujets par groupe). Cette étude était randomisée, en double-aveugle et contrôlée versus placebo.

Les résultats pharmacocinétiques montrent un pic de concentration dans le LCR de la molécule à 5h et une élimination au bout de 12h chez la majorité des patients.

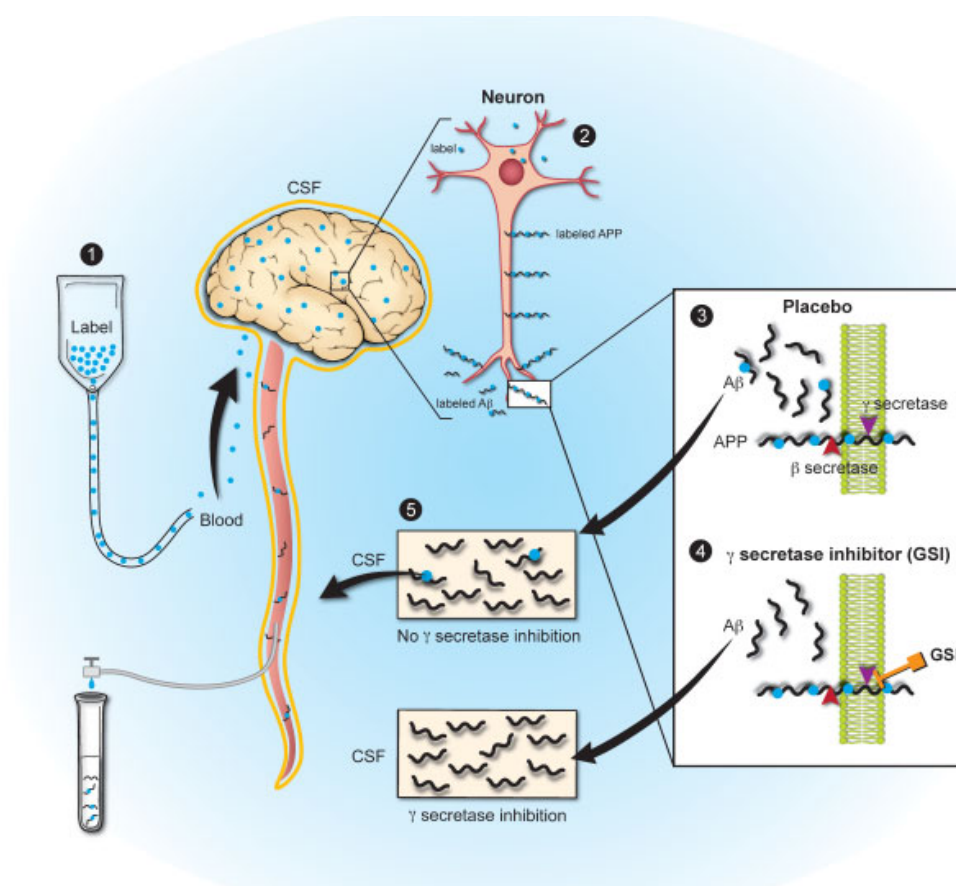
Les résultats pharmacodynamiques ont été mis en évidence par une technique récente dénommée SILK (Stable Isotope Labeling Kinetic) utilisant un isotope marqué stable (<sup>13</sup>C<sub>6</sub>-Leucine) et mesurant la production et la clairance du peptide Aβ au niveau du SNC grâce à des échantillons de LCR collectés par ponction lombaire (Figure XL). Une diminution dose-dépendante significative de la production d'Aβ dans le SNC a été observée : les résultats montrent une inhibition d'Aβ de 47%, 52% et 84% 12h après l'administration de 100, 140 ou 280 mg respectivement. Par contre, il n'y a pas eu de différence concernant la clairance d'Aβ.

Cette technique permet la mesure directe des effets pharmacodynamiques d'un GSI au niveau du SNC (mesure des taux d'Aβ nouvellement produits), et permet aussi d'évaluer la balance



entre l'efficacité et la toxicité pour déterminer quelle dose sera testée dans les essais de phase III.

Les études animales suggèrent qu'une inhibition totale de la  $\gamma$ -secrétase serait indésirable à cause des effets toxiques (gastro-intestinaux et immunocellulaires), donc une inhibition d'environ 25 à 30% de la production d'A $\beta$  dans le cerveau serait suffisante [83,84].



**Figure XL :** Schéma de la technique SILK mesurant la production et la clairance d'A $\beta$  dans le SNC.  
 (1) Un acide aminé marqué par un isotope stable est injecté dans le sang et transporté jusqu'au cerveau.  
 (2) Cet acide aminé est incorporé dans la synthèse de nouvelles protéines dont l'APP au niveau des neurones.  
 (3) L'APP marqué est clivé par la  $\beta$  et la  $\gamma$ -secrétase et produit ainsi un peptide amyloïde marqué ;  
 (4) En présence d'un inhibiteur de  $\gamma$ -secrétase, la production d'A $\beta$  marqué est inhibée.  
 (5) A $\beta$  marqué et non-marqué est transporté et éliminé par le LCR, qui est en communication directe avec l'espace extracellulaire du cerveau, où l'échantillonnage a lieu au cours du temps pour mesurer la production et la clairance d'A $\beta$  [83].

### 3.1.1.3. Essais cliniques de Phase II

Phase IIa : Une étude multicentrique, randomisée, contrôlée, versus placebo a été réalisée chez 70 patients atteints de MA légère à modérée. Ceux-ci ont reçu la molécule durant 6 semaines (30 mg/j pendant une semaine, suivi de 40 mg/j pendant 5 semaines). Le but était d'analyser la sécurité d'emploi et la tolérance du Sémagacestat ainsi que la variation d'A $\beta$  dans le plasma et le LCR.

Les résultats pharmacodynamiques montrent que les concentrations d'A $\beta$ 40 plasmatiques des patients traités ont diminué significativement de 38,2% comparé aux valeurs de référence (pas

de données sur A $\beta$ 42). L'inhibition maximale est obtenue 3h après l'administration d'une dose de 40 mg et un retour à l'état initial est observé après 7h. Les taux dans le LCR n'ont pas diminué significativement.

La tolérance est relativement bonne, seul 6 sujets sous traitement ont rapporté des diarrhées (contre aucun dans le groupe placebo) ( $p = 0,025$ ). On a également observé une diminution des taux de CD69 circulant, une augmentation des lymphocytes T et des éosinophiles et une fréquence accrue des cancers de la peau. Enfin, un homme de 76 ans a présenté une hémorragie gastro-intestinale due à un « œsophage de Barrett » (métaplasie de la muqueuse du bas de l'oesophage en une muqueuse de type intestinale, appelée aussi « endobrachyœsophage ») ; 4 mois après l'arrêt du traitement, le patient a développé une endocardite et un mois après il est décédé.

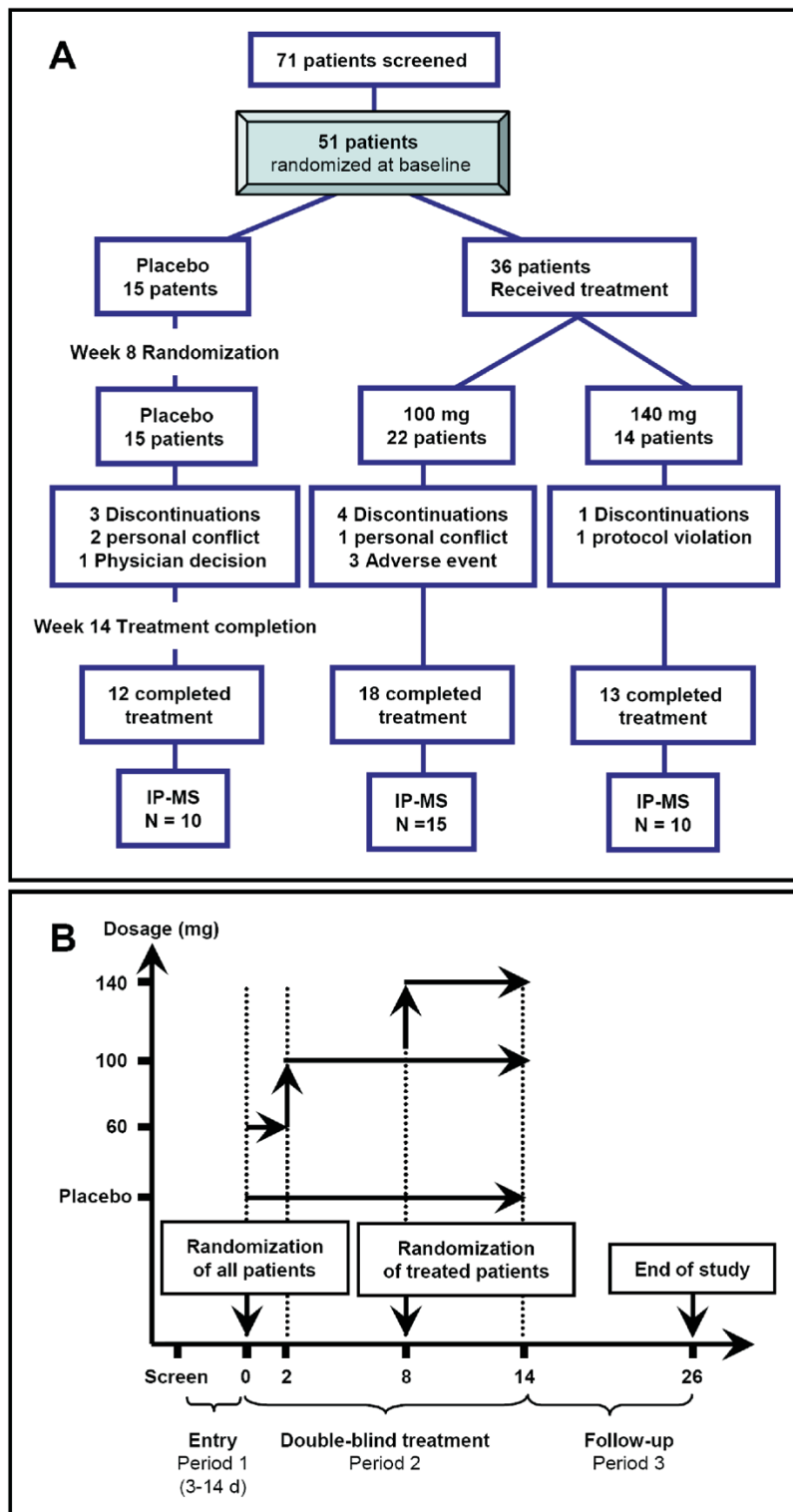
Il est donc nécessaire par la suite de procéder à une surveillance particulière des problèmes gastro-intestinaux et des fonctions immunitaires [81,85].

Phase IIb (d'octobre 2005 à décembre 2006) : Une évaluation de la sécurité d'emploi, de la tolérance et de la réponse d'A $\beta$  au Sémagacestat a été réalisée chez 51 patients, de plus de 50 ans, atteints de MA légère à modérée (seul 43 ont finis l'étude). Cette étude multicentrique, en double-aveugle, randomisée en deux groupes s'est déroulée durant 14 semaines : 15 patients ont reçu le placebo et 36 le Sémagacestat. Le groupe traité a reçu 60 mg/j pendant 2 semaines, puis 100 mg/j pendant 6 semaines et enfin 100 ou 140 mg/j pendant 6 semaines (Figure XLI).

Les résultats pharmacodynamiques montrent que comparées au placebo, les concentrations d'A $\beta$ 40 plasmatiques ont été réduites de 58,2% dans le groupe 100 mg et de 64,6% dans le groupe 140 mg ( $p < 0,001$ ) (Figure XLII). Il n'y a pas eu de changements significatifs sur les taux d'A $\beta$ 42 plasmatiques, ni de diminution significative des taux d'A $\beta$  dans le LCR. Entre le groupe placebo et le groupe traité, aucune différence n'a été observée au niveau cognitif et fonctionnel.

Au niveau de la tolérance, des effets indésirables significatifs ont été observés pour les problèmes de peau et de tissu sous-cutané ( $p = 0,05$ ) : on peut citer 3 cas de rash cutané réversibles potentiellement liés à la molécule et 3 cas de changement de couleur de cheveux ou hypopigmentation réversibles eux aussi. Bien que non-significatif, le pourcentage de patients ayant eu des nausées, des vomissements ou de la diarrhée était de 27% dans le groupe traité et de seulement 13% dans le groupe placebo ( $p = 0,41$ ). 40% des sujets traités ont noté au moins un des symptômes suivant (somnolence, asthénie...) alors que seulement 13% du groupe placebo l'ont noté ( $p = 0,18$ ). Enfin, 4 patients ont eu des effets indésirables sérieux (occlusion intestinale transitoire, amnésie, syncope et douleurs thoraciques).

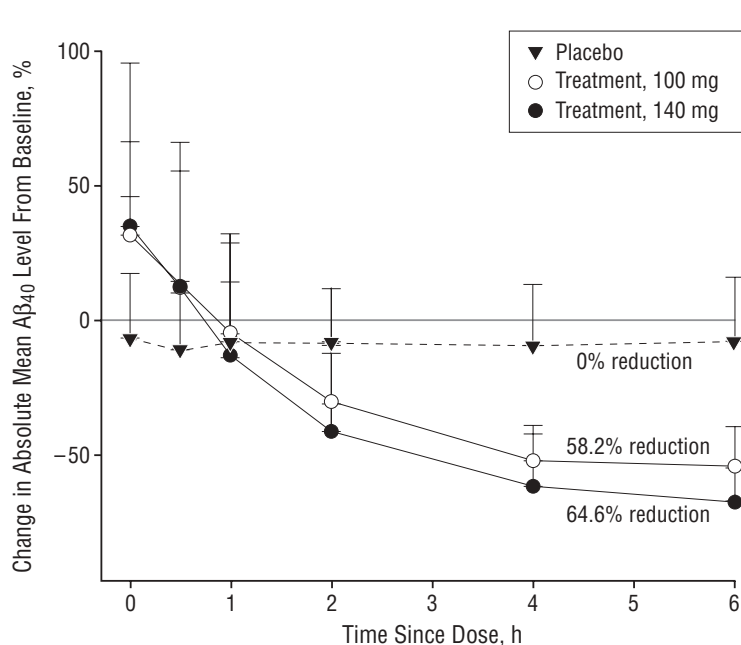
Le Sémagacestat est moyennement bien toléré pour des doses allant jusqu'à 140 mg/j pendant 14 semaines. Une diminution des concentrations d'A $\beta$  plasmatiques est la preuve d'une efficacité au niveau du SNC mais à long-terme cette efficacité reste inconnue [81,86,87].



**Figure XLI :** Diagramme de l'essai de phase IIb du LY450139.

(A) Présentation de l'essai randomisé incluant 51 patients. Les échantillons du LCR de 35 d'entre eux ont servi à l'analyse par IP-MS (immunoprecipitation-mass spectrometry) pour l'essai de phase IIc.

(B) Schéma du protocole de l'étude [86].

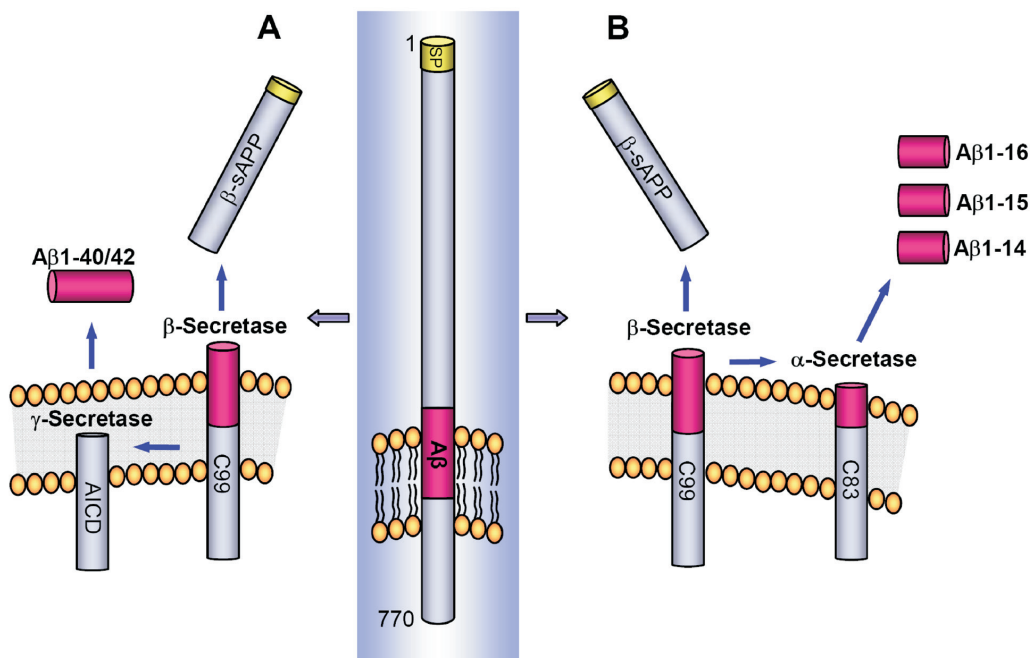


**Figure XLII :** Evolution du taux du peptide Aβ<sub>40</sub> dans le plasma chez l'homme en fonction de différentes doses de LY450139 comparé au placebo durant les 6h après l'administration [87].

Phase IIc : Une étude portant sur les effets du Sémagacestat sur la synthèse d'Aβ et sa clairance dans le LCR a été conduite chez 35 patients atteints de MA légère à modérée par analyse des taux de différents isoformes d'Aβ. Celle-ci était randomisée : 10 patients ont reçu le placebo, 15 patients ont reçu une dose de 100 mg de Sémagacestat et 10 une dose de 140 mg sur 14 semaines.

Les résultats ont été déterminés par une technique récente basée sur l'immunoprécipitation combinée à la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight). Le LCR a été collecté par une ponction lombaire à T=0 (sans traitement pour avoir une valeur de référence) et à T=6h (après l'administration de la dernière dose à la fin de la semaine 14). Des effets significatifs ont été observés sur la synthèse de formes d'Aβ nouvelles car les taux d'Aβ<sub>14</sub>, 15 et 16 dans le LCR ont augmenté de façon dose-dépendante de 57%, 21% et 30% à la dose de 100 mg et de 74%, 35% et 67% à 140 mg. Par contre, il n'y a pas eu d'effets observés sur Aβ<sub>40</sub> et 42 dans le LCR.

On observe donc une augmentation d'Aβ<sub>14</sub>, 15 et 16 dans le LCR suite à un traitement par le Sémagacestat même à des doses n'affectant pas Aβ<sub>40</sub> et 42. Probablement en raison de l'augmentation du substrat C99 due à l'inhibition de la γ-sécrétase, une nouvelle voie métabolique non-amyloïdogénique mineure se met en place. C99 est clivé par l'α-sécrétase et produit donc de plus courts isoformes Aβ<sub>14</sub>, 15 ou 16 (Figure XLIII). Ces isoformes pourraient être de nouveaux biomarqueurs capables d'évaluer les effets biochimiques des inhibiteurs de γ-sécrétase au cours des essais cliniques [81,84,86].



**Figure XLIII :** Nouvelle voie métabolique non-amyloïdogénique de l'APP. Après le clivage de l'APP par la  $\beta$ -secrétase, le fragment C99 sera clivé non pas par la  $\gamma$ -secrétase, mais par l' $\alpha$ -secrétase générant ainsi le fragment C83 et suivant l'endroit de la coupure différents autres isoformes : A $\beta$  14, A $\beta$  15 et A $\beta$  16 [86].

Les essais cliniques de Phase I et II ont permis de montrer une activité potentielle du Sémagacestat au niveau du SNC entraînant une diminution significative des taux d'A $\beta$ 40 plasmatiques. Cependant, concernant la tolérance, quelques effets indésirables au niveau digestif, immunitaire et cutané étant survenus, le Sémagacestat devrait faire l'objet d'une surveillance accrue lors des essais cliniques de Phase III.

#### 3.1.1.4. Essais cliniques de Phase III

Débutés en avril 2008 et qui normalement devaient se terminer en mai 2011, les essais cliniques de Phase III ont été arrêtés le 17 août 2010.

Dénommée IDENTITY (Interrupting Alzheimer's Dementia by EvaluatiNg Treatment of amyloId paThologY), cette étude devait évaluer l'efficacité à long terme du Sémagacestat sur la progression de la maladie, ainsi que sa tolérance. Plus de 1500 patients atteints de MA légère à modérée ont participé aux essais.

Les résultats préliminaires n'ont pas montré de ralentissement de la progression de la maladie. De plus, l'administration du Sémagacestat a été associée à une aggravation du déficit cognitif et du déficit fonctionnel concernant les activités de la vie quotidienne par rapport au placebo et des effets secondaires importants, comme une plus grande incidence des cancers de la peau et des problèmes gastro-intestinaux, ont été observés [81,82,84,88,89].

#### ➤ Conclusion

Le Sémagacestat fut le premier GSI identifié capable de traverser la barrière hémato-encéphalique afin de réduire les PS dans le cerveau. La pharmacocinétique de cette molécule est biphasique : les concentrations plasmatiques d'A $\beta$  diminuent tout d'abord

concomitamment à l'augmentation des concentrations de la molécule, puis on observe un rebond au dessus de la valeur de référence lorsque les concentrations en molécule diminuent. Cette augmentation transitoire d'Aβ dans le plasma semble être périphérique plutôt que centrale car le Sémagacestat peut réduire la production d'Aβ dans le SNC et sa concentration, mais il n'y a pas d'explication certaine à ce jour...

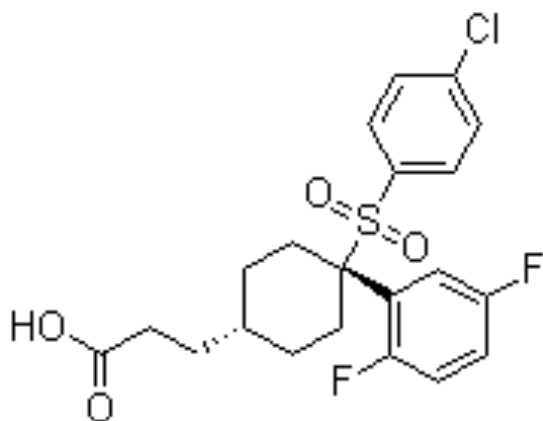
Cependant, en Phase III, l'analyse a montré que les scores aux échelles de cognition et d'activités de la vie quotidienne mettaient en évidence une aggravation chez les patients traités par rapport au placebo. De plus, les données montraient que le Sémagacestat était associé à un risque accru de cancer de la peau et de toxicité gastro-intestinale par rapport au placebo. Le développement de cette molécule fut donc arrêté.

Cet échec sera interprété inévitablement comme une évidence de plus contre l'hypothèse amyloïde... Mais serait-ce à cause d'un manque d'efficacité ? d'une toxicité accrue sur un cerveau fragilisé ? d'une accumulation du fragment C99 neurotoxique ou d'une diminution d'AICD ?

L'hypothèse qui en ressort est de ne pas administrer quotidiennement de GSI mais de faire une pause thérapeutique de quelques jours sans prendre le médicament pour permettre à la voie Notch de se renouveler...

### 3.1.2. MK-0752 (Laboratoire Merck)

**Figure XLIV : Structure du MK-0752 [90].**



#### 3.1.2.1. Phase préclinique

L'IC<sub>50</sub> du MK-0752 pour Aβ<sub>42</sub> est de 22,3 nM. Pour Notch il est de 55nM.

Le ratio étant seulement de 2,5 ; il n'y a donc pratiquement pas de distinction entre APP et Notch.

Une question se pose : fallait-il poursuivre en clinique sachant qu'il y aurait sans doute de nombreux effets indésirables ?

#### 3.1.2.2. Essais cliniques de Phase I

Une étude évaluant la sécurité d'emploi, la tolérance, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du MK-0752 a été réalisée, de décembre 2008 à mai 2009, chez 27 volontaires sains après administration orale d'une dose comprise entre 110 et 1000 mg.

Les résultats pharmacocinétiques montrent que les taux plasmatiques de la molécule augmentent proportionnellement à la dose administrée avec un temps d'obtention de la concentration plasmatique maximale  $T_{max}$  entre 3 et 4h et un  $t_{1/2}$  à 20h. L'équilibre de la molécule entre le LCR et le plasma se fait avec un léger décalage dans le temps ( $T_{max}$  environ 2h plus tard dans le LCR), le passage est relativement rapide mais pas instantané.

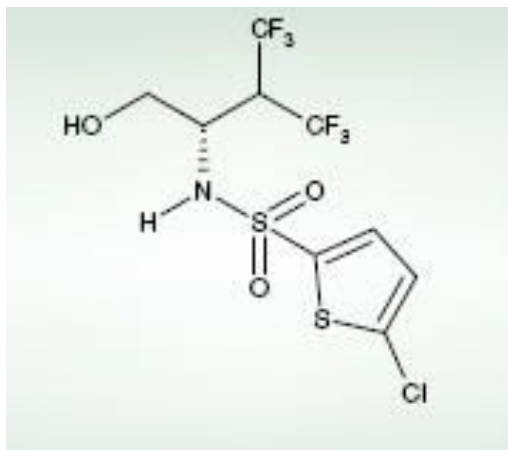
Les résultats pharmacodynamiques montrent qu'après administration d'une dose de 500 mg, une diminution significative ( $p < 0,001$ ) des concentrations d'A $\beta$ 40 dans le LCR a été observée pendant 12h avec un maximum de 35%. Après 1000 mg, cette diminution a duré plus de 24h. Les concentrations d'A $\beta$ 40 plasmatiques montrent aussi une diminution dose-dépendante mais qui est suivie d'un rebond tardif supérieur au taux de référence.

La tolérance est relativement bonne, mais une toxicité gastro-intestinale significative est observée due à l'inhibition du clivage de Notch. Suite aux résultats de la Phase préclinique, cet effet était déjà prévisible [81,91].

### ➤ Conclusion

Le MK-0752 est responsable d'une diminution significative des concentrations d'A $\beta$ 40 dans le LCR mais les études montrent une toxicité gastro-intestinale importante. Le développement de cette molécule dans la MA a été interrompu. Un intérêt a cependant été trouvé dans le traitement du cancer car le ratio entre APP et Notch est faible. Le MK-0752 est actuellement en essai clinique car Notch joue un rôle dans les leucémies lymphoblastiques aiguës à cellules T et la leucémie myéloïde aigüe [81].

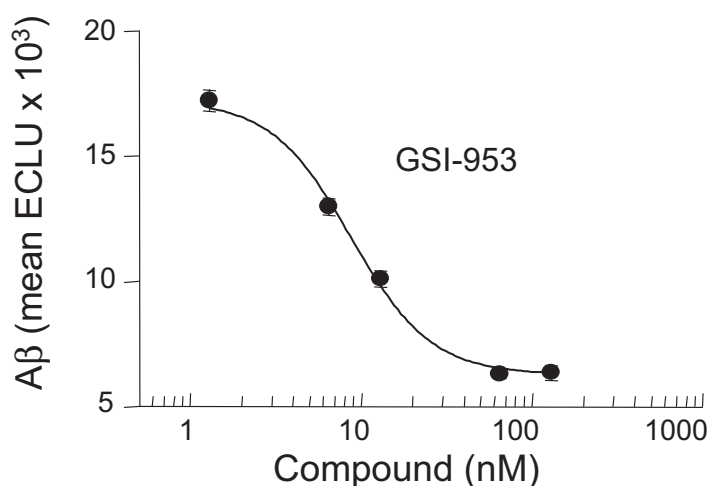
### 3.1.3. GSI-953 / Bégacestat (Laboratoire Wyeth)



**Figure XLV :** Structure du GSI-953 [76].

#### 3.1.3.1. Phase préclinique

In vitro, l' $IC_{50}$  du Bégacestat pour A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42 est de 14,8 nM et de 12,4 nM respectivement, cela montre une forte puissance nanomolaire (Figure XLVI). Le Bégacestat est 16,8 fois plus sélectif envers APP que Notch car l' $IC_{50}$  pour Notch est de 208,5 nM (il est donc plus intéressant que les deux précédentes molécules). Le  $K_i$  est de 8 nM, et montre ainsi qu'il s'agit d'un inhibiteur compétitif se liant à la  $\gamma$ -secrétase.



**Figure XLVI :** Inhibition de la production du peptide Aβ en fonction de la concentration en GSI-953 in vitro [92].

In vivo, chez l'animal, une première étude sur des souris transgéniques Tg2576 a été réalisée (Figure XLVII). Une réduction significative du taux d'Aβ40 est observée dans le cerveau (au maximum d'environ 60%), dans le LCR et le plasma (au maximum d'environ 80%) après administration d'une forte dose de Bégacestat (100 mg/kg). A cette même dose, Aβ42 n'est diminué que dans le cerveau et le LCR. A de plus faibles doses, cet inhibiteur réduit significativement Aβ40 seulement dans le cerveau et le plasma.

L'efficacité du composé est maximum entre 4 et 6h, mais les taux d'Aβ dans le cerveau diminuent déjà de façon significative dès 15 min après l'administration du Bégacestat. Ceci démontre que le composé est rapidement absorbé, qu'il est capable de traverser la barrière hémato-encéphalique et qu'il inhibe la synthèse d'Aβ.

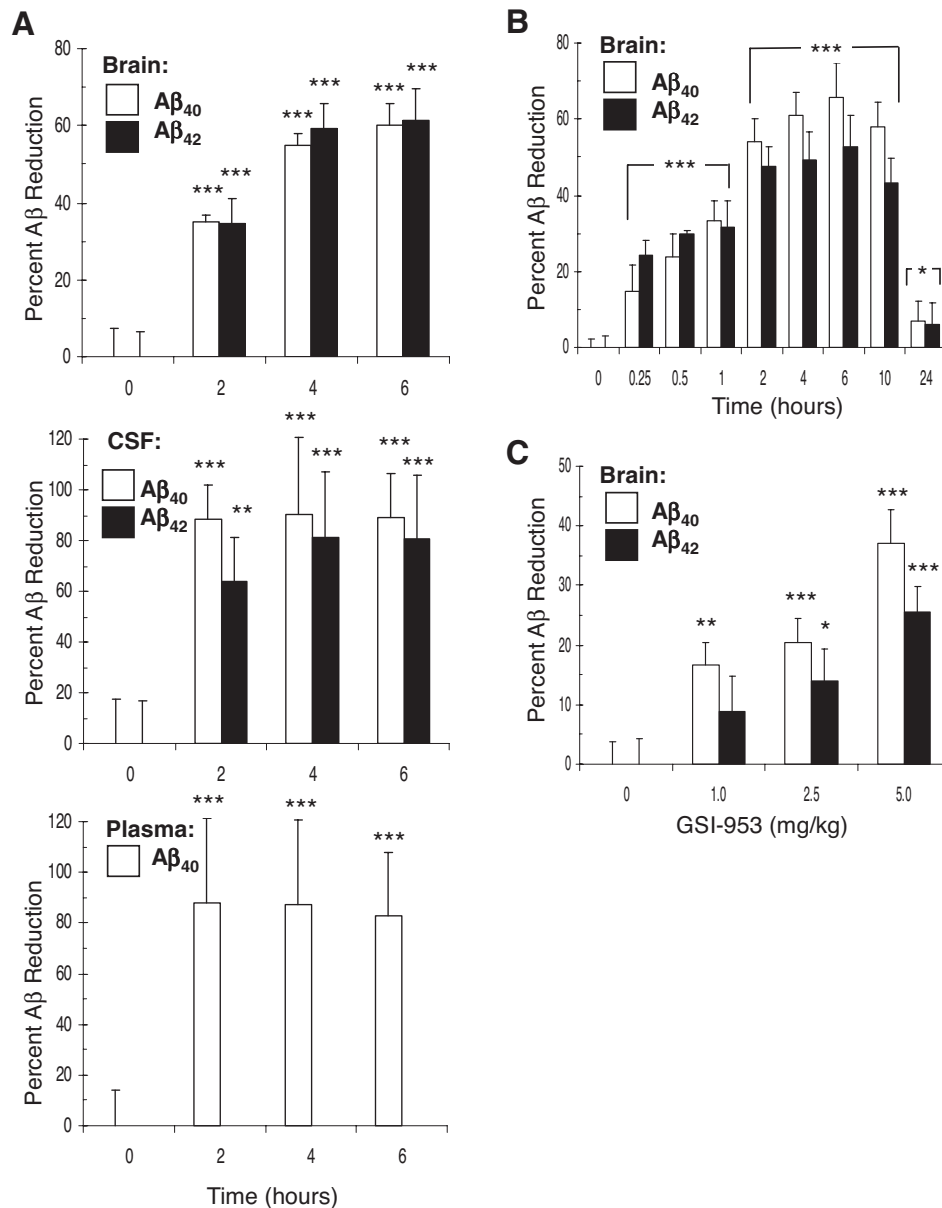
Selon une étude dose-réponse, la dose minimale efficace est de 1 mg/kg pour diminuer les taux d'Aβ40 d'environ 18% et de 2,5 mg/kg pour diminuer les taux d'Aβ40 d'environ 20% et d'Aβ42 d'environ 14%.

Les résultats sur l'apprentissage et la mémoire montrent des effets positifs à partir de 5 mg/kg, et la disparition totale des déficits à 10 mg/kg (3h après l'administration).

Une seconde étude chez le rat à des dosages supérieurs à 2000 mg/kg/jour pendant 10 et 28 jours montre une bonne tolérance. Aucun effet dose-limitant n'est observé (étude des effets du Bégacestat sur les populations thymiques lymphocytaires). Cependant, des effets intestinaux sont apparus (hyperplasie et hypertrophie des cellules à mucus sans signes cliniques associés).

Le Bégacestat est un puissant inhibiteur de la production d'Aβ, actif par voie orale. On observe une réduction du taux d'Aβ dans le cerveau, le plasma et le LCR et une amélioration des déficits cognitifs chez la souris. Des investigations sur la toxicité ont été faites chez le rat et ne démontrent pas d'effets indésirables dus à la potentielle inhibition de Notch [81,92,93,94].





**Figure XLVII : Efficacité du GSI-953 dans la réduction d'Aβ chez des souris transgéniques Tg2576.**

(A) effets d'une dose orale de 100 mg/kg de GSI-953 sur les taux d'Aβ dans le cerveau, le liquide céphalo-rachidien, et le plasma des souris Tg2576. Les animaux ont été sacrifiés après dosage aux temps indiqués. Les échantillons de cerveau (en haut), de liquide céphalo-rachidien (au milieu) et de plasma (en bas) ont été collectés et les taux d'Aβ<sub>40</sub> (□) et d'Aβ<sub>42</sub> (■) ont été mesurés. Ces taux d'Aβ sont exprimés en pourcentage de réduction du taux mesuré comparé à l'animal contrôle. Les taux d'Aβ dans le cerveau sont réduits au maximum d'environ 60%. Dans le liquide céphalo-rachidien et le plasma les taux sont rapidement réduits d'environ 80%. Ces résultats étaient très significatifs comparés au contrôle à t=0h (\*\*\*,  $p < 0,001$ ), sauf (\*\*,  $p < 0,01$ ).

(B) évolution dans le temps (expérience sur 24h) des effets d'une dose orale de 30 mg/kg de GSI-953 sur les taux d'Aβ dans le cerveau de souris Tg2576. Les animaux ont été sacrifiés après dosage aux temps indiqués. Dans le cerveau, les taux d'Aβ<sub>40</sub> (□) et d'Aβ<sub>42</sub> (■) sont réduits de façon significative aux temps mesurés entre 15 minutes et 24 heures avec un maximum d'effets entre 4 et 6 heures (réduction d'Aβ<sub>40</sub> d'environ 67% et d'Aβ<sub>42</sub> de 52%). Les résultats entre 15 min et 10h (\*\*\*,  $p < 0,001$ ) et à 24h (\*,  $p < 0,05$ ) étaient significatifs.

(C) dose minimale efficace pour réduire les taux d'Aβ dans le cerveau de souris Tg2576 par le GSI-953. Les animaux ont reçu des dosages de GSI-953 comme indiqué, et ont été sacrifiés au temps déterminé t=4h. Les taux d'Aβ<sub>40</sub> (□) étaient significativement réduits dès 1 mg/kg (\*\*,  $p < 0,01$ ) et aux doses plus élevées (\*\*\*,  $p < 0,001$ ). Les taux d'Aβ<sub>42</sub> (■) étaient significativement réduits après une dose de 2,5 mg/kg (\*,  $p < 0,05$ ) et de 5 mg/kg (\*\*\*,  $p < 0,001$ ) [92].

### 3.1.3.2. Essais cliniques de Phase I

Phase Ia (de mai 2007 à octobre 2007) : L'évaluation du profil pharmacocinétique, pharmacodynamique et de la sécurité d'emploi et de la tolérance du Bégacestat a été réalisée chez 17 volontaires sains de plus de 18 ans et chez des patients âgés. Ceux-ci ont reçu par voie orale une dose comprise entre 3 mg et 600 mg.

Les résultats pharmacocinétiques montrent que la molécule est rapidement absorbée dans les deux groupes avec un  $T_{\max}$  de 1 à 2h. La concentration de la molécule dans le plasma augmente proportionnellement à la dose administrée. La concentration de la molécule dans le LCR est 10 fois plus faible que dans le plasma et ceci dans les deux populations.

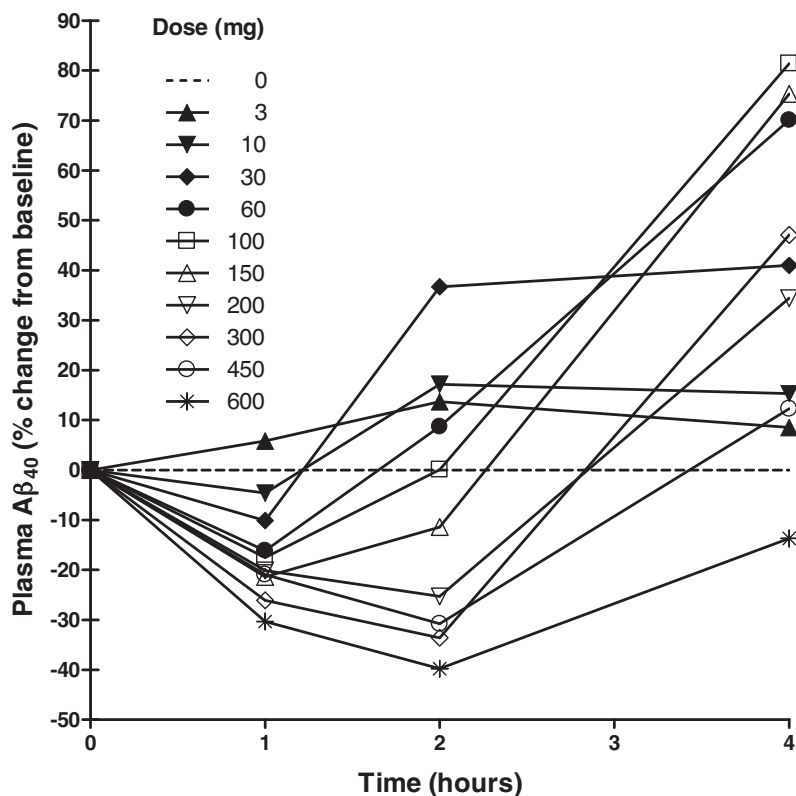
Par contre, la demi-vie d'élimination dans le plasma diffère dans les deux populations (5-6h chez les sujets jeunes, 8-9h chez les sujets âgés) et l'élimination est plus lente (d'environ 40%) chez les patients âgés que chez les sujets jeunes.

Les résultats pharmacodynamiques montrent que la concentration d'A $\beta$ 40 dans le plasma suit une cinétique biphasique comme pour les deux précédentes molécules : une diminution initiale sous la concentration de référence, puis une seconde phase d'augmentation des concentrations au dessus de la référence d'une durée maximale de 48 heures avant de revenir à la référence.

L'inhibition maximale de la production d'A $\beta$ 40 retrouvée dans le plasma était observée au bout de 2 heures avec 28% de réduction chez les patients âgés et de 33% chez les sujets jeunes (Figure XLVIII). Celle-ci était moins prononcée pour A $\beta$ 42 avec une réduction maximale dans le plasma de seulement 7% et 17% respectivement. Par contre, il n'a pas été observé d'effets significatifs de la molécule sur les taux d'A $\beta$  dans le LCR dans aucune des deux populations.

La tolérance est bonne car aucun effet secondaire limitant la dose n'est apparu.

L'administration orale d'une dose de Bégacestat produit des changements dose-dépendants des taux d'A $\beta$  plasmatiques. La molécule est bien tolérée, confirmant la cible chez l'homme. Les hypothèses sur le rebond sont qu'il existerait une action de la molécule en périphérie ou qu'il y aurait une augmentation de la clairance du peptide A $\beta$  provenant du LCR, ce qui ne veut pas nécessairement signifier que le taux d'A $\beta$  dans le cerveau ait augmenté [81,92,93,95].



**Figure XLVIII :** Effets du GSI-953 à différents dosages sur les taux d'Aβ40 plasmatiques chez des humains en fonction du temps [92].

Phase Ib (d'août 2007 à octobre 2009) : Une étude portant sur la sécurité, la tolérance, le profil pharmacocinétique et pharmacodynamique du Bégacestat a été conduite chez des sujets âgés en bonne santé (49 sujets de plus de 65 ans). Cette étude était randomisée, en double-aveugle, contrôlée versus placebo. Les sujets ont reçu quotidiennement durant 14 jours une dose par voie orale comprise entre 100 et 440 mg/j. Il y avait au total donc 5 cohortes de sujets : 50, 100, 150, 220 mg deux fois par jour et 300 mg une fois par jour.

Les résultats pharmacocinétiques montrent une absorption rapide avec un  $T_{max}$  à 1-2h après l'administration et un  $t_{1/2}$  entre 7 et 10h. L'excrétion urinaire du Bégacestat non métabolisé est inférieure à 0,1%.

Les résultats pharmacodynamiques montrent qu'à J1, il y a une diminution significative d'Aβ40 plasmatique comparé au placebo. Ces changements ont eu lieu entre 1 et 2h après l'administration du Bégacestat et la plus forte diminution a été observée avec la dose de 300 mg au bout de 2h. Cette réduction initiale est suivie par un rebond où les taux d'Aβ40 augmentent au dessus des taux de base.

Cependant, il n'a pas été observé de diminution significative en comparaison avec le placebo aux jours 3, 6, 9 et 14 ; ni de diminution significative des taux d'Aβ42 plasmatiques par rapport au placebo pour aucun dosage.

Concernant la sécurité et la tolérance, au total 37 sujets ont signalé au moins un effet indésirable dont 26 liés à la molécule, soit 53,1%.

Le plus fréquent fut la diarrhée (15 sujets, 30,6%), puis la dermatite de contact (13 sujets, 26,5%), des céphalées (5 sujets, 10,2%) et enfin l'élévation du taux sanguin de lipases et des

douleurs lombaires. Aux fortes doses (220 mg deux fois par jour et 300 mg), 3 sujets ont eu des nausées, non observées aux doses inférieures.

Sur les 37 patients, 33 sujets ont rapporté des effets indésirables considérés comme légers, 3 comme modérés (dyspepsie, état grippal, fièvre) et 1 comme sévère en intensité (hyperlipasémie).

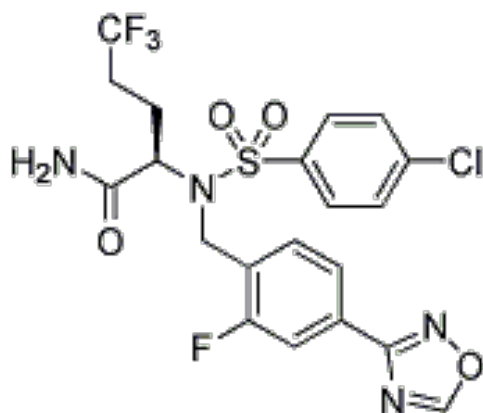
Le Bégacestat a été moyennement bien toléré car plus de la moitié des sujets a signalé un effet indésirable. Néanmoins, une corrélation claire entre les concentrations plasmatiques de la molécule et les taux d'A $\beta$  ne peut-être établie [96].

#### ➤ Conclusion

Le Bégacestat a montré une réduction des concentrations d'A $\beta$  dans le plasma (avec un effet rebond retardé). Bien qu'il y ait eu quelques signes de toxicité liée à Notch, la molécule est actuellement en essai clinique de Phase II.

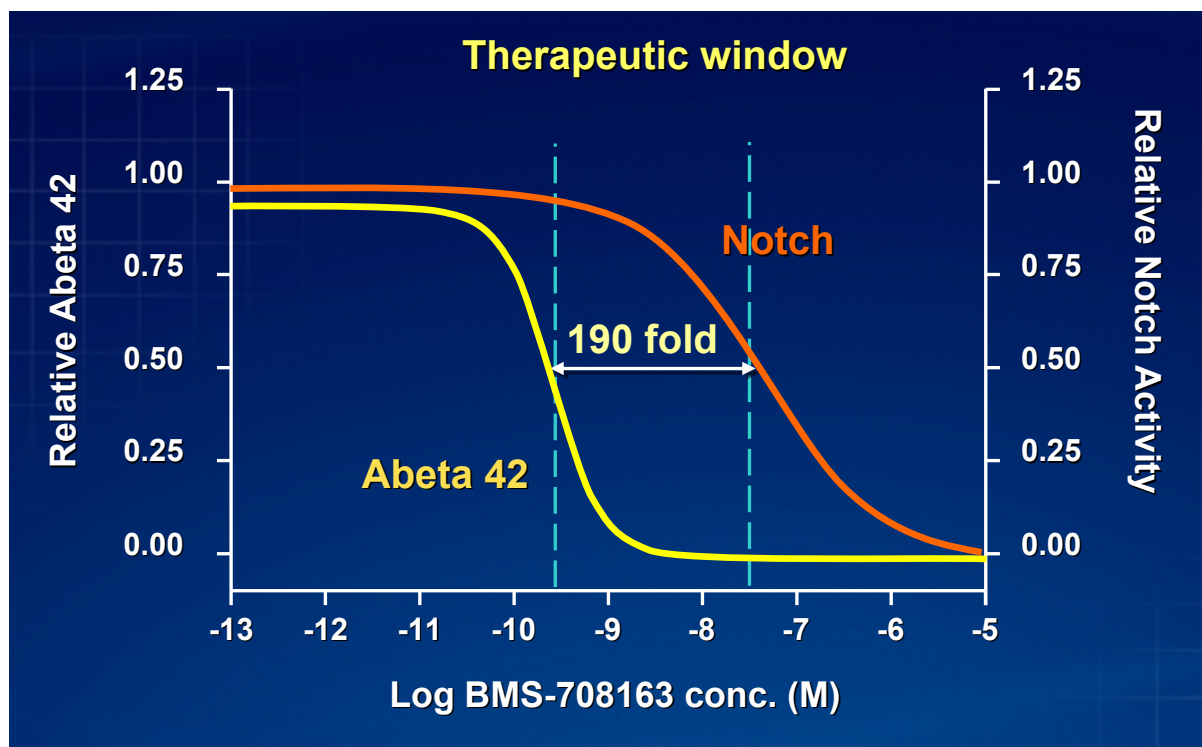
#### 3.1.4. BMS-708163 / Avagacestat (Laboratoire Bristol-Myers Squibb)

**Figure XLIX :** Structure du BMS-708163 [97].



##### 3.1.4.1. Phase préclinique

In vitro, le BMS-708163 est un puissant et sélectif inhibiteur de  $\gamma$ -secrétase. L'IC<sub>50</sub> pour l'APP est de 0,3 nM et son affinité est grande avec un Ki de 1,13 nM. Il est 193 fois plus sélectif pour le clivage de l'APP que pour le clivage de Notch car l'IC<sub>50</sub> pour Notch est de 58 nM (Figure L).



**Figure L :** Inhibition de la production du peptide A $\beta$ 42 et de Notch en fonction de la concentration en BMS-708163 *in vitro*. Les résultats montrent une large fenêtre thérapeutique où il y a une inhibition significative d'A $\beta$  et pas de toxicité liée à Notch [98].

*In vivo*, des études sur des modèles animaux ont montré que l'absorption du BMS-708163 était rapide ( $T_{\max} = 1-2h$ ). Son exposition systémique est proportionnelle à la dose jusqu'à 200 mg. Et son élimination est lente avec un  $t_{1/2}$  à 40h.

Une dose de 400 mg diminue les taux d'A $\beta$ 40 dans le LCR avec une inhibition maximale d'environ 55%. Une dose de 100 mg/j durant 28 jours diminue ce taux d'environ 30%. Enfin, une dose de 150 mg/j sur 28 jours le diminue d'environ 60%.

Le BMS-708163 est bien toléré jusqu'à 400 mg après une seule administration, mais également jusqu'à 150 mg/j sur une durée de 28 jours.

Le BMS-708163 est capable de diminuer les taux d'A $\beta$ 40 dans le cerveau et le LCR sans causer de toxicité liée à Notch (gastro-intestinale et lymphoïde). Mais le manque de données sur le nombre de PS dans le cerveau et sur les effets comportementaux chez les modèles animaux est à déplorer [98,81].

#### 3.1.4.2. Essais cliniques de Phase I

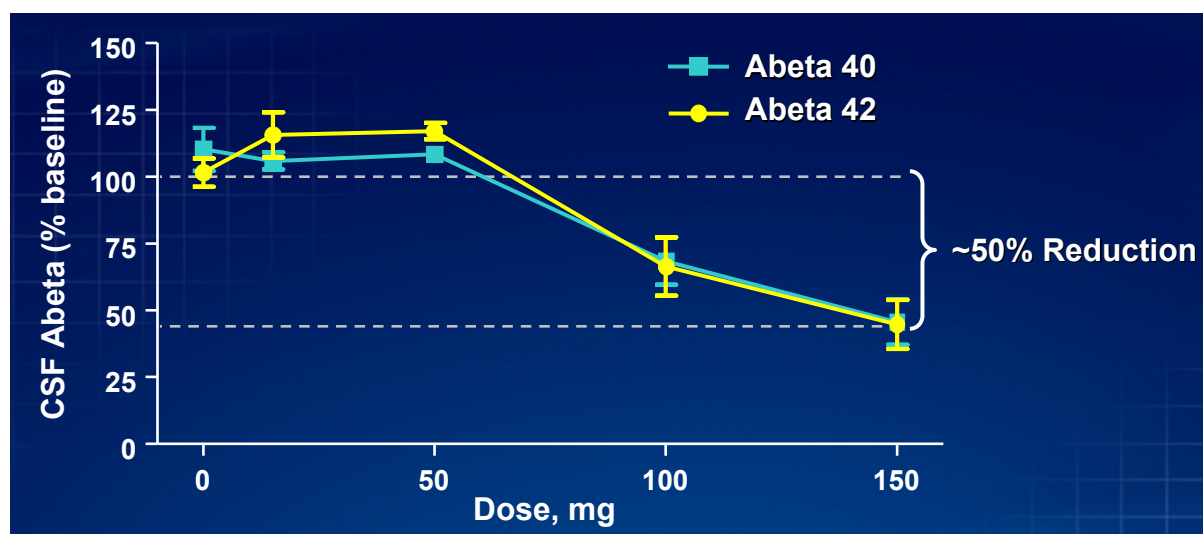
Phase Ia : L'évaluation du profil pharmacocinétique, pharmacodynamique, de la sécurité et de la tolérance du BMS-708163 a été réalisée chez des volontaires sains pendant 28 jours avec des doses allant jusqu'à 150 mg/j.

Les résultats pharmacocinétiques sont identiques à ceux de la Phase préclinique.

Les résultats pharmacodynamiques montrent une cinétique biphasique de la concentration d'A $\beta$  plasmatique avec un rebond identique au Bégacestat. Une diminution d'A $\beta$ 40 et d'A $\beta$ 42 dans le LCR d'environ 30% est observée après administration d'une dose de 100 mg/j pendant 28 jours et de 60% avec une dose de 150 mg/j (Figure LI).

La tolérance est très bonne. La molécule n'a pas d'effets indésirables gastro-intestinaux et immunitaires, peut-être à cause de sa spécificité [82,99].

Le BMS-708163 est responsable d'une réduction d'A $\beta$  dans le plasma et le LCR avec cependant un profil biphasique comme les précédentes molécules en essai clinique. A ce stade du développement, l'absence de toxicité liée à Notch est un point positif, surtout sur une durée d'étude de 28 jours.



**Figure LI :** Evolution des taux des peptides A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42 dans le LCR chez l'homme en fonction de différentes doses de BMS-708163. Réduction d'environ 50% sans toxicité relative chez des sujets sains après administration quotidienne pendant 28 jours d'une dose de BMS-708163 [98].

Phase Ib : Une étude sur les effets du BMS-708163 a été réalisée chez 34 hommes jeunes et sains. Les sujets ont reçu soit la molécule à la dose de 50, 200 ou 400 mg, soit le placebo.

Les résultats montrent que les concentrations d'A $\beta$ 40 dans le LCR (12h post-dose) étaient de 111, 88, 63 et 60% par rapport à la valeur de référence après administration respectivement du placebo ou de 50, 200 et 400 mg du BMS-708163. Concernant A $\beta$ 38, les concentrations étaient évaluées à 111, 90, 60 et 58%. Et concernant A $\beta$ 42 : 112, 97, 68 et 66%.

La tolérance est relativement bonne puisque la fréquence des effets indésirables entre la molécule et le placebo est similaire. Le plus fréquent étant des céphalées (n=12), un syndrome post-ponction lombaire (n=8) ou des douleurs lombaires (n=7) [100].

Phase Ic : L'évaluation de la sécurité d'emploi, de la tolérance du BMS-708163 a été réalisée chez 72 sujets jeunes et 44 sujets âgés. Les sujets jeunes ont reçu des doses comprises entre 0,3 mg et 800 mg de molécule ou le placebo. Les sujets âgés ont reçu 50 mg de la molécule ou le placebo.

Des effets indésirables graves ont été observés chez 3 sujets âgés mais étaient indépendants de la molécule car dus aux modalités de l'essai en lui-même comme par exemple à cause de la ponction lombaire. Sinon, la plupart des effets indésirables ont été légers à modérés : des douleurs dues à la ponction lombaire, des douleurs oro-pharyngées, des douleurs dorsales, des vertiges, des céphalées, des cauchemars, des éruptions cutanées... Il n'a pas été observé de

variations du QT, d'hypertension artérielle, ni de troubles des fonctions thyroïdienne, rénale, immunitaire ou hépatique...

Il a été néanmoins remarqué jusqu'à 35% d'augmentation des leucocytes à la dose de 800 mg et 37% d'augmentation des lymphocytes à 400 et 800 mg [101].

Phase Id (d'avril à décembre 2010) : Une étude sur la sécurité d'emploi, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du BMS-708163 a été conduite chez des sujets jeunes (entre 18 et 45 ans) et âgés (plus de 60 ans). Cette étude est randomisée, en double-aveugle, contrôlée versus placebo. 6 groupes de 8 sujets chacun sont donc constitués : les sujets jeunes reçoivent 15, 50, 100 ou 150 mg/j de la molécule pendant 28 jours et les sujets âgés (séparés en deux groupes, hommes et femmes) reçoivent la molécule à 50 mg/j pendant 2 semaines puis 100 mg/j pendant 2 semaines.

Les résultats pharmacocinétiques montrent un  $T_{max}$  à 1-4h et un  $t_{1/2}$  à 38-65h. La valeur de  $C_{max}$  est d'environ 25% supérieure chez les sujets âgés et d'environ 40% plus élevée chez les femmes que les hommes âgés.

Les résultats pharmacodynamiques montrent qu'à des doses supérieures à 50 mg, la molécule diminue A $\beta$ 38, A $\beta$ 40 et A $\beta$ 42 dans le LCR d'environ 40%.

La tolérance est plutôt bonne. 45 sujets sur 50 ont terminé l'étude (3 ont arrêté à cause des effets secondaires). La plupart des effets indésirables ont été légers à modérés. Les plus fréquents étant la constipation, les douleurs oro-pharyngées, les douleurs dues à la ponction, les céphalées, les douleurs lombaires et les cauchemars.

Il n'a pas été observé d'effets sur la fonction rénale, hépatique ou immunitaire. Une modification de la fonction thyroïdienne est néanmoins observée à 150 mg.

L'administration de BMS-708163 à des doses de 15 à 150 mg/j est bien tolérée et sûre car aucun signe de toxicité relative à Notch n'a été observé. De plus, la molécule diminue les taux d'A $\beta$  dans le LCR significativement [102].

#### 3.1.4.3. Essais cliniques de Phase II

Les premiers résultats d'une étude de 24 semaines chez des patients atteints de MA légère à modérée ont été publiés (juillet 2011).

Ils montrent que le BMS-708163 est responsable d'une diminution dose-dépendante des taux d'A $\beta$ 40 dans le LCR. Il doit aussi augmenter le clivage de l' $\alpha$ -secrétase car il a été observé une augmentation des taux des peptides A $\beta$ 14, A $\beta$ 15 et A $\beta$ 16.

Au niveau de la sécurité et de la tolérance, le BMS-708163 est bien toléré en cas d'administration d'une dose de 25 ou de 50 mg. Par contre, quelques problèmes de toxicité (éruptions cutanées, symptômes gastro-intestinaux) ont été observés avec des doses de 100 et 125 mg. La solution serait peut-être de faire une fenêtre thérapeutique... [82,89,99,103,104,105].

Le BMS-708163 est donc actuellement en phase II. Il fait l'objet jusqu'en novembre 2013 d'études chez des patients atteints de MA mais aussi chez des patients atteints de MCI (MA au stade prodromal, c'est à dire des sujets ayant une atteinte cognitive ou une plainte mnésique, sans maladie d'Alzheimer avérée). Cependant, du fait de la toxicité liée à Notch et d'un probable déclin cognitif « comme le Sémagacestat », il serait donc apparemment moins sélectif de l'APP chez l'homme que *in vitro* à des doses élevées.

CC(C)(C)CNCC(C)(C)N1C=CN=C1C(=O)C[C@H](N[C@@H]2C[C@@H](CC3=CC=C(C=C3)F)C4=CC=CC=C2F)CC

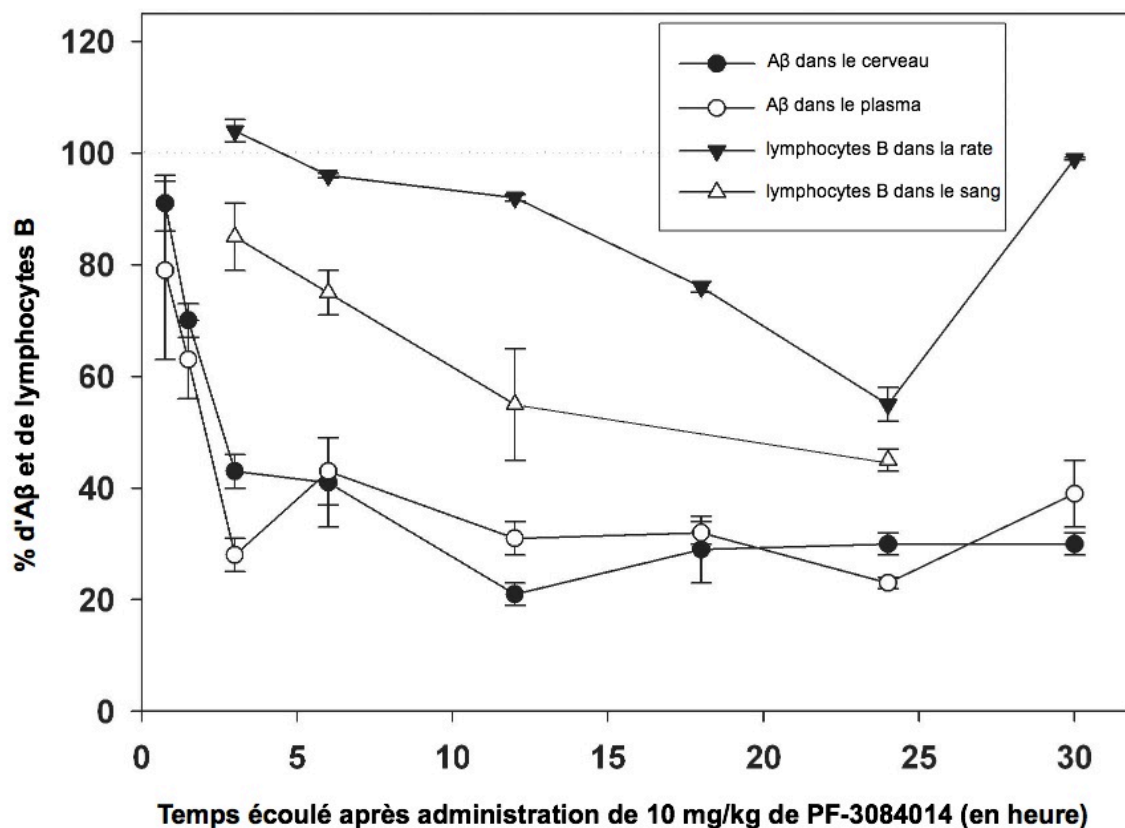
#### 3.1.5.1. Phase préclinique

In vivo, une première étude sur les cobayes a été réalisée. Le but était de mesurer la concentration de la molécule dans le cerveau et le plasma et les taux d'A $\beta$  (A $\beta$ 40, 42 et des autres isoformes) dans le cerveau, le plasma et le LCR.

Les résultats pharmacodynamiques montrent une diminution dose-dépendante des concentrations d'Aβ dans le plasma, le LCR et le cerveau après administration de doses comprises entre 0,03 et 10 mg/kg. Aucun effet rebond n'a été observé dans le plasma.

Concernant la tolérance, une simple fluctuation des lymphocytes B a été remarquée entre 18 et 24h après l'administration du PF-3084014, mais qui revient à la normale à 30h. Cela montre qu'il y a quand même des changements au niveau de la fonction immunitaire (Figure LIII) [81,107].





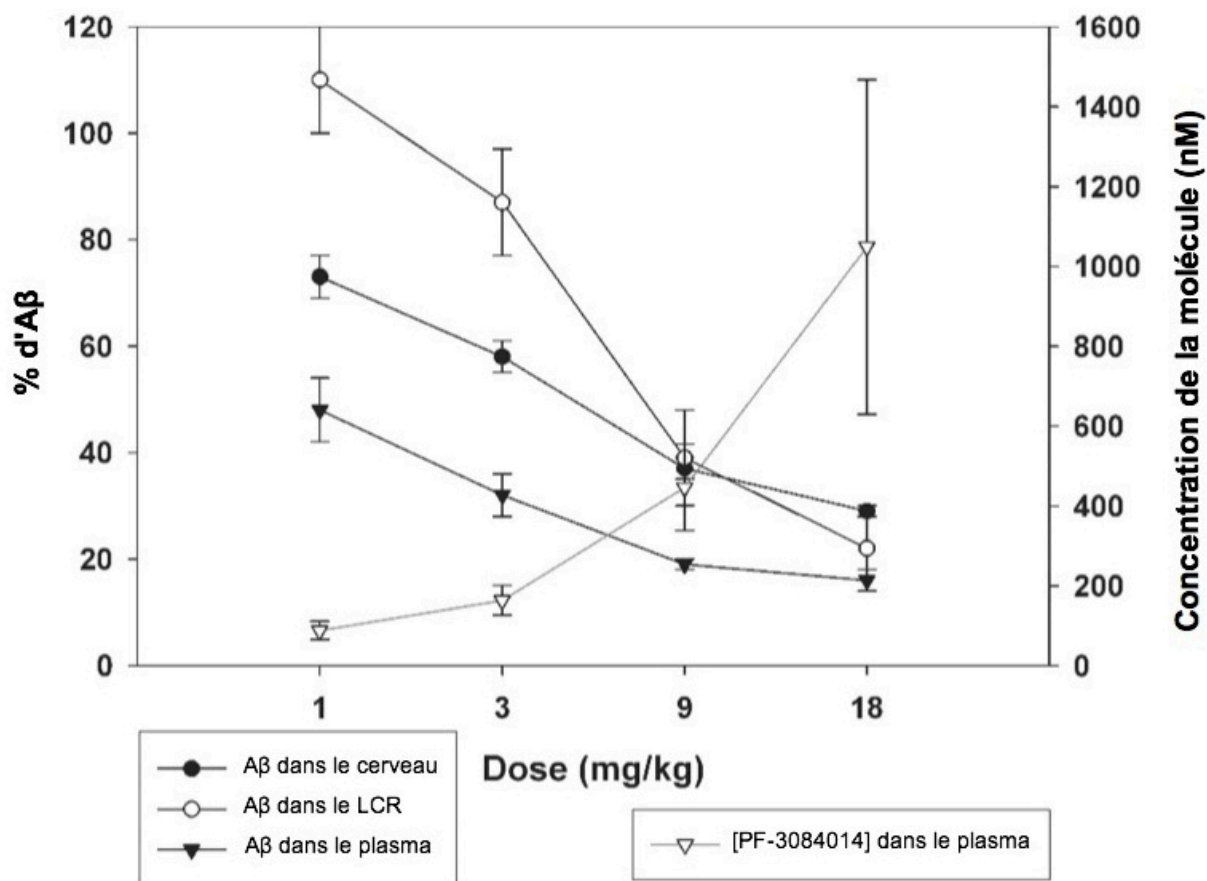
**Figure LIII :** Variation des concentrations d'Aβ dans le cerveau et le plasma de cobayes, ainsi que des lymphocytes B suite à de fortes doses de PF-3084014 [106].

Une seconde étude a été faite sur des souris transgéniques Tg2576 (souris jeunes, ne présentant donc pas de PS).

Les résultats pharmacodynamiques montrent une diminution dose-dépendante des concentrations d'Aβ (Aβ40, 42 et des autres isoformes) dans le cerveau, le LCR et le plasma après administration orale de doses comprises entre 1 et 18 mg/kg (Figure LIV).

A la plus forte dose (18 mg/kg), les taux d'Aβ étaient réduits de 78% dans le cerveau, 72% dans le LCR et de 92% dans la plasma. Aβ40 est l'isoforme le plus puissamment diminué dans les trois compartiments car Aβ42 est approximativement diminué de 20% de moins que Aβ40 dans ces trois mêmes compartiments.

Aux doses diminuant les taux des peptides Aβ, on a observé une élévation d'Aβ43 [81,106,107].



**Figure LIV :** Variation des taux d'Aβ dans le cerveau, le LCR et le plasma de souris transgéniques suite à l'administration de différentes doses de PF-3084014 [106].

Le PF-3084014 montre une bonne pénétration dans le cerveau, des effets de longue durée sur la diminution des concentrations d'Aβ chez l'animal, et pas d'effet rebond sur les taux d'Aβ plasmatiques. Mais, il manque cependant des données sur la diminution des PS dans le cerveau et sur les effets comportementaux.

#### 3.1.5.2. Essais cliniques de Phase I

Les résultats préliminaires de l'évaluation des effets du PF-3084014 chez l'homme, suite à l'administration de doses uniques ou multiples, ont été publiés. Ils montrent une diminution dose-dépendante des concentrations plasmatiques d'Aβ. Cependant, cette réduction initiale est suivie d'un effet rebond...

#### ➤ Conclusion

Le PF-3084014 est un inhibiteur très sélectif de l'APP comparé à Notch. Les résultats des études animales montrent que le PF-3084014 diminue les taux d'Aβ dans le plasma, le LCR et le cerveau. Dans une étude de Phase I chez des volontaires sains, cette molécule a provoqué une réduction dose-dépendante des concentrations plasmatiques d'Aβ, alors que les effets dans le LCR étaient faibles.

Comparaison :

|                                                        | <b>DAPT</b> | <b>LY450139</b> | <b>MK-0752</b> | <b>GSI-953</b> | <b>BMS-70816<br/>3</b> | <b>PF-308401<br/>4</b> |
|--------------------------------------------------------|-------------|-----------------|----------------|----------------|------------------------|------------------------|
| <b>IC<sub>50</sub> Aβ<sub>42</sub></b>                 | 27,7 nM     | 15 nM           | 22,3 nM        | 12,4 nM        | 0,3 nM                 | 1,3 nM                 |
| <b>K<sub>i</sub></b>                                   | 29 nM       | 26 nM           | NC             | 8 nM           | 1,13 nM                | NC                     |
| <b>IC<sub>50</sub> Notch</b>                           | 14,9 nM     | 49 nM           | 55 nM          | 208,5 nM       | 58 nM                  | 1915 nM                |
| <b>ratio IC<sub>50</sub><br/>Notch/Aβ<sub>42</sub></b> | 0,5         | 3,3             | 2,5            | 16,8           | 193                    | 1473                   |

**Tableau VI :** Comparaison des différents inhibiteurs de  $\gamma$ -secrétase.

(IC<sub>50</sub> = efficacité, K<sub>i</sub> = affinité pour l'enzyme par rapport aux autres inhibiteurs, ratio = sélectivité, NC = valeur non connue)

Après deux échecs dans le développement de GSI dans la MA (le Sémagacestat ou LY450139 et le MK-0752), les chercheurs ont essayé de mettre au point des molécules beaucoup plus sélectives de l'APP par rapport à Notch afin d'éviter les problèmes de toxicité. Actuellement, le Bégacestat (GSI-953) et le BMS-708163 sont en essai clinique de Phase II. Ces deux molécules prometteuses ont néanmoins provoqué quelques effets indésirables liés à l'inhibition de Notch... L'idée d'une fenêtre thérapeutique est alors apparue. Egalement en cours d'essai clinique, le PF-3084014, actuellement en Phase I, a montré une très forte sélectivité lors de la Phase préclinique. Les résultats des études sur l'homme sont donc à venir.

### **3.2. Modulateurs de $\gamma$ -secrétase (GSM)**

Des études épidémiologiques menées depuis une vingtaine d'années ont montré des bénéfices quant à l'utilisation de médicaments anti-inflammatoires dans la MA. Des essais cliniques ont alors été conduits afin de les tester comme potentiel traitement. Cependant de multiples échecs ont amené les chercheurs à se questionner sur le rôle de l'inflammation dans la MA et à conclure que les bénéfices observés initialement n'étaient pas directement liés à leur activité anti-inflammatoire.

Plus récemment, des AINS (Anti-Inflammatoire Non Stéroïdiens) sélectionnés : le R-flurbiprofène, l'ibuprofène, l'indométacine et le sulindac ont montré un effet sur la production d'A $\beta$  in vitro et in vivo au cours d'études à long-terme (3 à 8 mois). Des administrations à court-terme (3 à 8 jours) n'ont montré aucun effet. Ils agiraient donc en inhibant la  $\gamma$ -secrétase mais le doute persiste concernant leur faible puissance sur la diminution de la production d'A $\beta$  et leur faible pénétration dans le cerveau.

Leur capacité à moduler la production d'A $\beta$  n'est pas liée à leur activité inhibitrice des COX (Cyclo-OXygénase) responsable de leurs effets anti-inflammatoires ; néanmoins l'inconvénient majeur de l'utilisation des AINS dans la MA est que leur utilisation prolongée (ou à haute dose) est associée à une toxicité gastro-intestinale (ulcères gastriques) et rénale sévère due à l'inhibition chronique de l'activité des COX, et spécialement chez les personnes âgées...

Certains AINS ont aussi montré une inhibition de l'agrégation d'A $\beta$ , suggérant un autre mécanisme d'action sur la MA ce qui permettrait de prévenir les dépôts d'A $\beta$  dans le cerveau. Comme leur liaison à l'APP est plus forte que celle avec Notch, leurs effets sur cette voie restent mineurs, leur donnant un critère de sécurité supplémentaire par rapport aux GSI.

Donc de nouveaux dérivés d'AINS ont été développés dans le but de ne pas interférer avec les COX (utilisation chronique possible) et avec des propriétés sélectives d'A $\beta$ 42 : E2012, CHF5074, NGX, GSM-1... (certains encore au stade préclinique) [76,77,108,109].

Le mécanisme d'action des GSM est basé sur une modulation allostérique de la  $\gamma$ -secrétase, c'est à dire une modification de la conformation du site de liaison du substrat ou de la poche catalytique de l'enzyme (à la différence des GSI, ils n'inhibent pas le site de clivage  $\epsilon$  mais se lient à l'extrémité N-terminale de la préséniline 1, en particulier au niveau de la région hydrophobe du premier domaine transmembranaire éloignée du pore abritant le site actif de l'enzyme). Autrement dit, les GSM déplacent le site de clivage et non pas le taux de clivage (par torsion, déformation de l'enzyme), et sont responsables alors d'une modification des proportions relatives en isoformes d'A $\beta$ .

Les GSM sont capables de réduire sélectivement A $\beta$ 42 (appelés aussi « modulateurs de  $\gamma$ -secrétase sélectifs d'A $\beta$ 42 »). Rappelons qu'A $\beta$ 42 est toxique au niveau neuronal, ce peptide est insoluble et est à l'origine des PS, il a aussi montré un rôle dans l'hyperphosphorylation de tau.

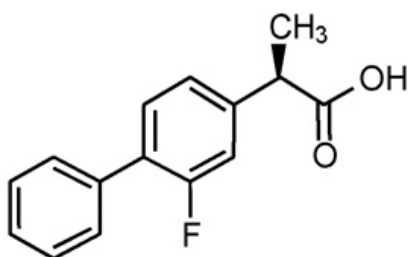
A l'inverse, les GSM vont augmenter la formation d'isoformes plus courts dont A $\beta$ 38 : peptide non-toxique, soluble, donc non responsable de la formation de PS, et n'agissant pas sur l'hyperphosphorylation de tau. Aucun effet n'est observé sur AICD ou C99.

Cependant, il n'est pas formellement prouvé que les formes courtes soient totalement inoffensives...

Est-ce que ces fragments resteront dans la membrane ou seront-ils dégradés par un autre mécanisme générant d'autres maladies ? En tous cas, la diminution d'A $\beta$ 42 tend à penser que la formation des oligomères et des fibrilles sera limitée.

En général, les MA familiales dues à certaines mutations sur les présénilines, répondent mal aux GSM car la séquence en acides aminés est modifiée. Alors que les MA familiales dues à des mutations de l'APP, répondent très bien (test sur des modèles de souris transgéniques et des cultures cellulaires) [82,110,111].

### 3.2.1. MPC-7869 / R-flurbiprofène / Tarenflurbil / FLURIZAN® (Laboratoire Myriad)



**Figure LV :** Structure du R-flurbiprofène. Le Tarenflurbil est l'énantiomère R du flurbiprofène [112].

#### 3.2.1.1. Phase préclinique

In vitro, l'IC<sub>50</sub> du Flurizan dans l'inhibition d'A $\beta$ 42 est de 268  $\mu$ M. Il n'y a pas d'inhibition de la production d'A $\beta$ 40 jusqu'aux concentrations de 300  $\mu$ M (action sélective de l'inhibition d'A $\beta$ 42 dans des cultures cellulaires et dans des cerveaux de souris transgéniques). Entre 500 et 1000  $\mu$ M, A $\beta$ 40 est inhibé de 20 à 40% mais à ces concentrations, la molécule est cytotoxique.

L'inhibition de l'activité COX-1 est de 50% à 100  $\mu$ M et de 88% à 300  $\mu$ M, l'inhibition de l'activité COX-2 est de 46% à 300  $\mu$ M (en comparaison, l'IC<sub>50</sub> de l'ibuprofène sur COX est de 1  $\mu$ M). L'énantiomère R du flurbiprofène (appelé aussi le Tarenflurbil, sa forme active pharmacologiquement) est donc un faible inhibiteur de COX. L'énantiomère S par contre est toxique au niveau gastrique.

In vivo, chez la souris transgénique Tg2576, plusieurs études ont été réalisées. Une étude de 3 jours à la dose de 50 mg/kg/j montre une diminution significative du taux d'A $\beta$ 42 dans le cerveau (environ - 50%), une prévention du déclin dans l'apprentissage et le comportement, mais aussi des problèmes gastriques dus à l'inhibition de COX... Une administration chronique pendant 4 mois à la dose de 10 mg/kg/j atténue les troubles de l'apprentissage et améliore la fonction spatiale (cohérent avec un effet sur la fonction de mémorisation au niveau de l'hippocampe et du lobe temporal). Mais la réduction des taux d'A $\beta$  s'avère non significative. Chez des souris âgées, les taux d'A $\beta$ 42 et les PS sont diminués significativement alors que l'apprentissage spatial n'est pas amélioré.

Ces résultats indiquent clairement que la durée d'administration et l'âge d'instauration du traitement sont des facteurs essentiels pour obtenir des effets bénéfiques sur la cognition. Retarder l'intervention au stade symptomatique n'a probablement pas d'effet sur l'apprentissage et la mémoire à cause des changements irréversibles intervenus dans le cerveau, cela explique pourquoi le traitement chronique devrait être débuté à un stade précoce [109,112].

#### 3.2.1.2. Essais cliniques de Phase I

L'administration du Flurizan sur une durée de 3 semaines a été testée chez 36 volontaires sains âgés de 55 à 80 ans. Les sujets ont reçu des doses de 200, 400 ou 800 mg deux fois par jour.

Les résultats montrent une bonne tolérance. Il n'a pas été observé d'effets indésirables sérieux, ni de toxicité gastro-intestinale ou rénale significative. Cependant, il n'y a pas eu de changements sur les concentrations d'A $\beta$  plasmatiques ou dans le LCR [113].

#### 3.2.1.3. Essais cliniques de Phase II

Une étude multicentrique, randomisée, en double-aveugle, contrôlée versus placebo, a été réalisée chez 210 patients atteints de MA légère à modérée. Les sujets ont reçu deux fois par jour, 400 mg de Flurizan (n=69) ou 800 mg (n=70) ou le placebo (n= 71) sur une durée de 12 à 24 mois au maximum.

Chez les patients atteints de MA légère, un bénéfice significatif est observé sur les mesures des activités de la vie quotidienne (+ 46,4%,  $p = 0,033$ ). Les fonctions globales s'améliorent aussi en fonction de la dose (+ 35,7%,  $p = 0,042$ ). Mais il n'y a pas d'effets significatifs sur la cognition (+ 33,7%,  $p = 0,327$ ).

Ceux ayant reçu 800 mg de Flurizan pendant 24 mois ont de meilleurs résultats (déclin plus lent) que les autres ayant testé la molécule sur une durée plus courte. Cela prouve que plus le traitement des patients ayant une MA légère est long, plus la maladie progresse lentement.

Dans la MA modérée, aucun effet positif n'est remarqué. Il n'y a pas d'effet significatif sur les activités de la vie quotidienne (- 38,2%,  $p = 0,223$ ), ni sur la cognition (- 10,1%,  $p = 0,756$ ). Et même des effets négatifs sont observés sur les fonctions globales (déclin de 52%,  $p = 0,003$ ).

L'instauration du traitement doit donc se faire dès le stade de MA légère pour espérer obtenir des effets bénéfiques.

Les résultats montrent une bonne tolérance pour une durée de 24 mois de traitement au maximum.

Seuls 25 patients ont signalé un effet indésirable ou plus. Les effets indésirables les plus courants sont de la diarrhée (9 patients à 400 mg, 7 patients à 800 mg et 5 patients ayant eu le placebo), des nausées (7,7,4) et des vertiges (9,5,4), une éosinophilie transitoire, une confusion, une pneumonie et des rash cutanés... (Figure LVI).

|                                   | Placebo<br>(n=66) | Tarenflurbil<br>400 mg*<br>(n=71) | Tarenflurbil<br>800 mg*<br>(n=70) | Total<br>(N=207) |
|-----------------------------------|-------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------|
| Any event                         | 56 (85%)          | 59 (83%)                          | 63 (90%)                          | 178 (86%)        |
| Diarrhoea                         | 5 (8%)            | 9 (13%)                           | 7 (10%)                           | 21 (10%)         |
| Nausea                            | 4 (6%)            | 7 (10%)                           | 7 (10%)                           | 18 (9%)          |
| Dizziness                         | 4 (6%)            | 9 (13%)                           | 5 (7%)                            | 18 (9%)          |
| Urinary tract infection           | 5 (8%)            | 7 (10%)                           | 5 (7%)                            | 17 (8%)          |
| Agitation                         | 5 (8%)            | 7 (10%)                           | 4 (6%)                            | 16 (8%)          |
| Confused state                    | 2 (3%)            | 10 (14%)†                         | 4 (6%)                            | 16 (8%)          |
| Upper respiratory tract infection | 7 (11%)           | 4 (6%)                            | 2 (3%)                            | 13 (6%)          |
| Vomiting                          | 3 (5%)            | 3 (4%)                            | 6 (9%)                            | 12 (6%)          |
| Headache                          | 6 (9%)            | 3 (4%)                            | 3 (4%)                            | 12 (6%)          |
| Constipation                      | 3 (5%)            | 4 (6%)                            | 4 (6%)                            | 11 (5%)          |
| Depression                        | 4 (6%)            | 1 (1%)                            | 6 (9%)                            | 11 (5%)          |
| Eosinophilia                      | 0 (0%)            | 3 (4%)                            | 6 (9%)‡                           | 9 (4%)           |
| Nasopharyngitis                   | 4 (6%)            | 0 (0%)                            | 5 (7%)§                           | 9 (4%)           |
| Pneumonia                         | 0 (0%)            | 3 (4%)                            | 5 (7%)                            | 8 (4%)           |
| Rash                              | 0 (0%)            | 5 (7%)                            | 3 (4%)                            | 8 (4%)           |
| Urinary incontinence              | 6 (9%)¶           | 0 (0%)                            | 2 (3%)                            | 8 (4%)           |
| Blood glucose increased           | 4 (6%)            | 0 (0%)                            | 1 (1%)                            | 5 (2%)           |

Data are number (%) of patients. \*Twice per day. †p=0.032 vs placebo. ‡p=0.028 vs placebo. §p=0.028 vs 400 mg tarenflurbil. ¶p=0.011 vs 400 mg tarenflurbil. P values not reported are >0.05.

**Figure LVI : Effets indésirables du Flurizan survenus au cours de la Phase II [114].**

Le Flurizan montre des effets positifs chez les patients atteints de MA légère. Cette molécule est assez bien tolérée aux cours des essais cliniques. On peut noter quand même quelques troubles gastro-intestinaux, immunitaires et cutanés... Cela serait-il dû aussi à un effet sur Notch ? [108,112,113,114].

#### 3.2.1.4. Essais cliniques de Phase III

De mai 2006 à décembre 2007, se sont déroulés les essais cliniques de Phase III du Flurizan, évaluant son efficacité globale dans le traitement de patients atteints de MA légère. Plus de 2400 sujets ont participé aux essais.

Les résultats ont montré qu'il n'y avait pas d'effets significatifs après 18 mois sur la cognition (mesurée par l'ADAS-cog), ni sur les activités de la vie quotidienne (ADCS-ADL). De plus, ils ont montré une inefficacité dans le ralentissement de la progression de la maladie.

Le Flurizan est inefficace à ce dosage et sur la population étudiée. L'arrêt de son développement a donc été annoncé à l'ICAD (International Conference on Alzheimer's Disease) à Chicago en 2008 [88,115].

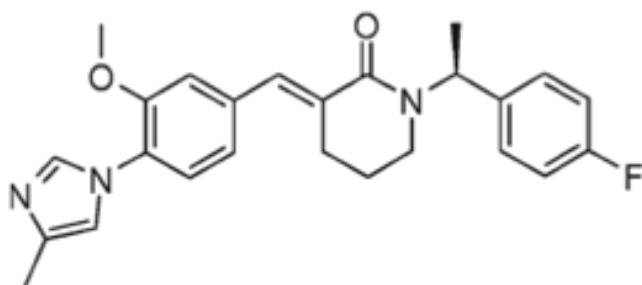
#### ➤ Conclusion

Dans l'essai clinique de phase II, le Flurizan avait montré une efficacité sur les activités de la vie quotidienne et sur les fonctions globales notamment au stade léger de MA. Cependant, dans l'essai de phase III incluant des patients au stade léger de la maladie (MMSE entre 20 et 26), aucune différence significative n'a été mise en évidence entre le groupe placebo et le groupe traitement.

Plusieurs hypothèses peuvent être émises : une mauvaise pénétration de la molécule dans le cerveau, ou une instauration de traitement trop tardive. Les dommages seraient si profonds et

des processus secondaires seraient déjà intervenus même au stade de MA légère... Mais il n'existe pas encore de diagnostic de la MA à un stade très léger voir asymptomatique. Faudrait-il traiter au stade de MCI ?

### 3.2.2. E2012 (Laboratoire Eisai)



**Figure LVII : Structure du E2012**  
[116].

#### 3.2.2.1. Phase préclinique

In vitro, l'IC<sub>50</sub> du E2012 pour Aβ<sub>40</sub> et Aβ<sub>42</sub> est de 330 nM et 92 nM respectivement.

La diminution des taux d'Aβ<sub>40</sub> et d'Aβ<sub>42</sub> est accompagnée d'une augmentation d'Aβ<sub>38</sub> et d'Aβ<sub>37</sub> (formes de peptides plus courts) sans changer les taux d'Aβ total. Il n'y a ni accumulation du fragment C99, ni cytotoxicité significative (pas d'effets sur Notch jusqu'à 3 μM). Et il n'y a pas de donnée sur l'inhibition de l'activité COX-1 et COX-2.

In vivo, chez le rat, une diminution dose-dépendante des taux d'Aβ<sub>40</sub> et d'Aβ<sub>42</sub> est observée dans le LCR, le cerveau et le plasma.

Pour Aβ<sub>42</sub> spécifiquement, dans le LCR, une dose de 10 mg/kg entraîne une diminution significative de 16,6% et une dose de 30 mg/kg de 47,2%. Dans le cerveau, cette diminution d'Aβ<sub>42</sub> est de 17,1% et de 49,9% à 10 et 30 mg/kg respectivement. Enfin, dans le plasma, Aβ<sub>42</sub> a été réduit de 59,2% suite à une dose de 3 mg/kg, de 90,8% après 10 mg/kg et de 96,1% après 30 mg/kg [117,118].

#### 3.2.2.2. Essais cliniques de Phase I

L'évaluation du profil pharmacocinétique et pharmacodynamique du E2012 a été réalisée chez des sujets sains âgés de 20 à 55 ans. Une dose orale comprise entre 1 et 400 mg ou le placebo leur a été administrée.

Les résultats pharmacocinétiques montrent que les taux plasmatiques de la molécule augmentent proportionnellement à la dose jusqu'à 400 mg.

Les résultats pharmacodynamiques montrent une diminution des taux plasmatiques d'Aβ<sub>40</sub> et d'Aβ<sub>42</sub>, plus importante pour ce dernier. 4 à 6 heures après l'administration d'une dose de 400 mg, la diminution maximale du taux d'Aβ<sub>42</sub> est de 50% contre 30% pour Aβ<sub>40</sub>. Et il n'y a pas l'effet rebond communément observé avec les GSI [82,119].

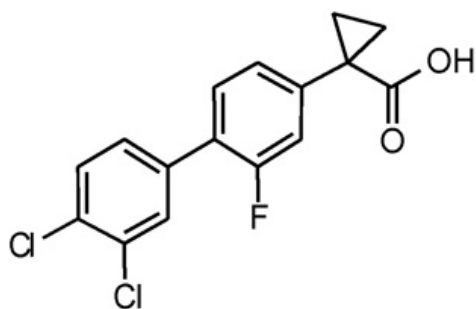


➤ *Conclusion*

E2012 est un nouveau modulateur de  $\gamma$ -secrétase capable de diminuer A $\beta$  en modulant l'enzyme sans interférer avec le processus Notch.

En février 2007, suite à l'apparition de cas de cataractes dans une étude chez l'animal en Phase préclinique, les essais de Phase I qui étaient en cours ont été suspendus. De nouvelles expertises ont eu lieu et aucune toxicité oculaire n'a été observée. De ce fait, depuis avril 2008, les essais cliniques de Phase I ont repris mais aucun résultat n'est encore publié [81].

3.2.3. CHF 5074 (Laboratoire Chiesi)

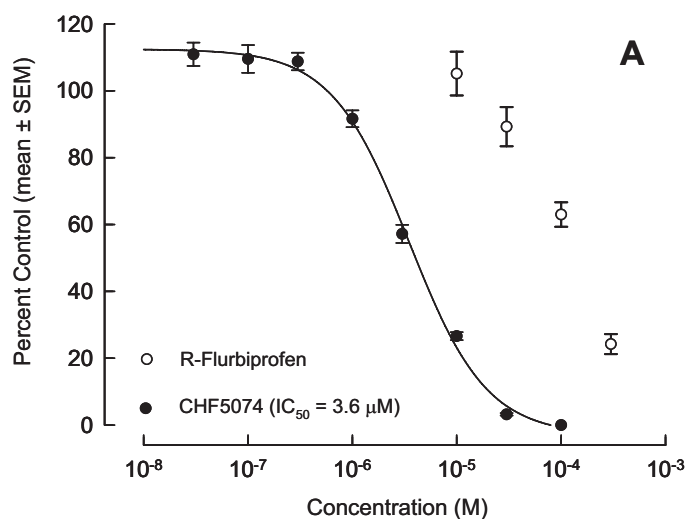


**Figure LVIII :** Structure du CHF 5074 [112].

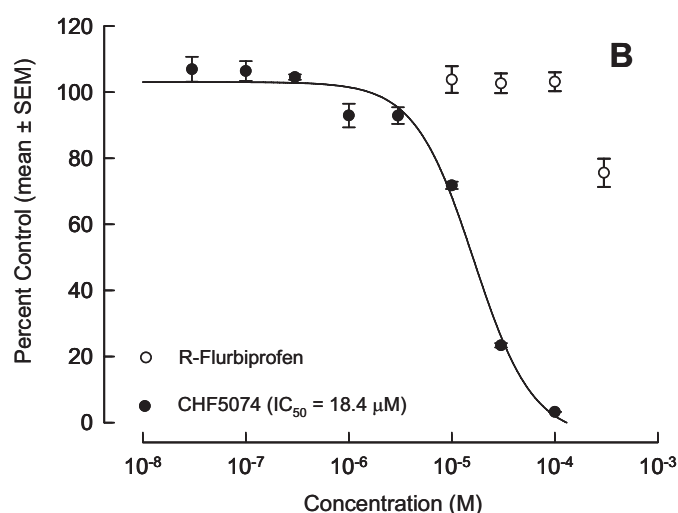
3.2.3.1. Phase préclinique

In vitro, l'IC<sub>50</sub> du CHF 5074 est de 3,6  $\mu$ M pour A $\beta$ 42 et 18,4  $\mu$ M pour A $\beta$ 40, cela montre bien une différence de sensibilité. Il est 74 fois plus puissant que le Flurizan (IC<sub>50</sub> de 268  $\mu$ M) (Figure LIX).

A la différence du Flurizan, le CHF 5074 n'affecte pas COX-1 à 100  $\mu$ M. A 300  $\mu$ M, l'inhibition de COX-1 est de l'ordre de 40%, sans affecter COX-2. Et il n'a pas d'effet sur Notch [112,120].

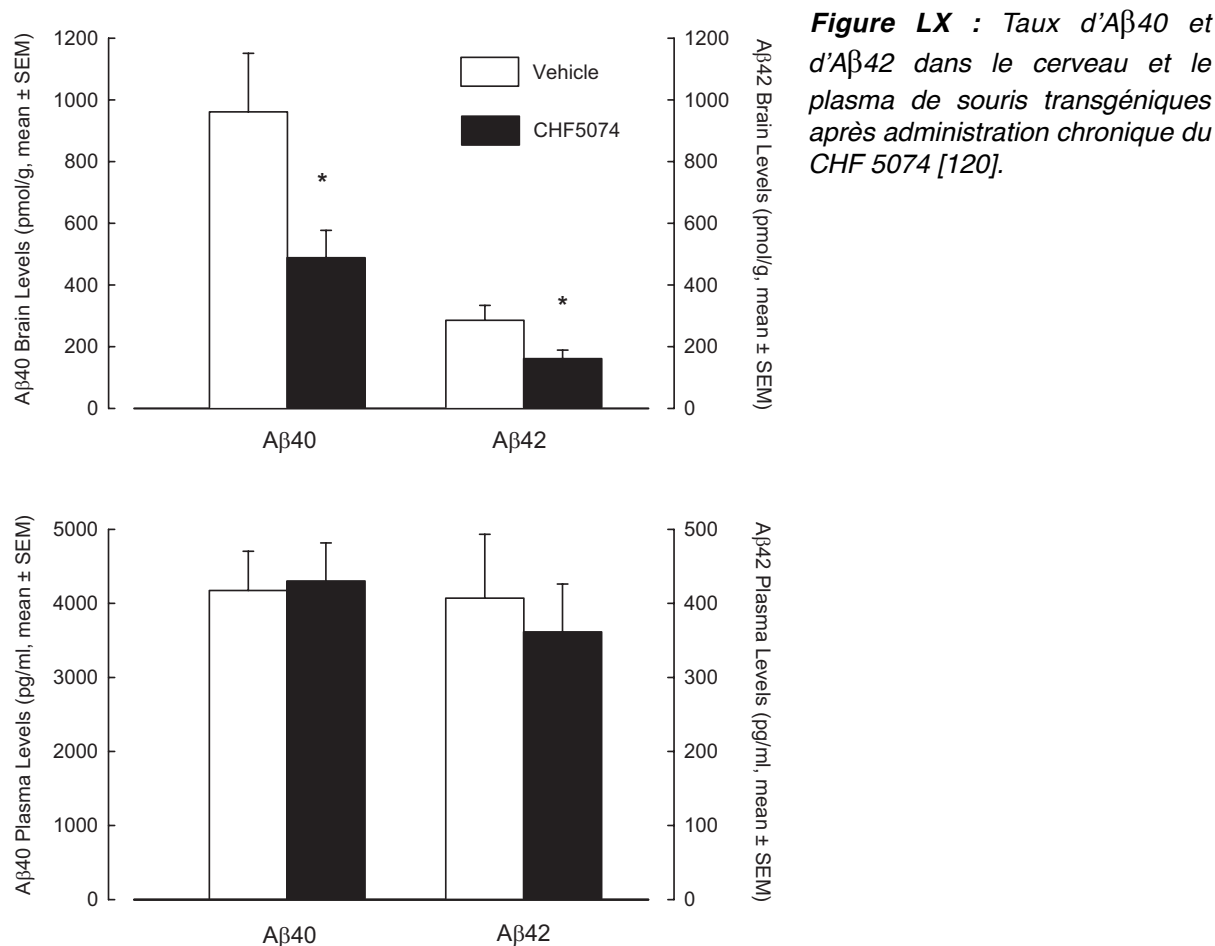


**Figure LIX :** Inhibition de la production d'Aβ42 (A) et d'Aβ40 (B) par le CHF 5074 in vitro. Comparaison avec le R-flurbiprofen [120].



In vivo, une première étude chez la souris a été réalisée. Les résultats pharmacocinétiques montrent une bonne absorption de la molécule après administration orale avec une biodisponibilité d'environ 50%. Une forte liaison aux protéines plasmatiques (99%) régule la pénétration dans le SNC. L'élimination du CHF 5074 est lente, son  $t_{1/2}$  est de l'ordre de 21h. Après 4 à 5 jours de traitement à la dose de 300 mg/kg/j, la concentration maximale de la molécule dans le cerveau est de 37 μM.

Concernant les résultats pharmacodynamiques, on observe une diminution des taux d'Aβ42 et d'Aβ40 dans le cerveau, cette diminution est non significative dans le plasma (Figure LX). La tolérance est bonne en comparant les variations de poids entre les groupe CHF 5074 et contrôle [112,120].



La seconde étude réalisée chez des souris transgéniques adultes, consistait à administrer une dose de 60 mg/kg/j de CHF 5074 sur une durée de 6 mois.

Les résultats montrent une réduction des taux d'Aβ42 dans le cerveau de 43,5% ( $p = 0,027$ ) et d'Aβ total de 49,2% ( $p = 0,017$ ). On n'observe pas d'accumulation du fragment C99.

Au niveau des PS, on observe une réduction significative de la surface occupée par les PS dans le cortex (- 32%,  $p = 0,010$ ) et dans l'hippocampe (- 42%,  $p = 0,005$ ) et une réduction du nombre de PS dans le cortex (- 28%,  $p = 0,022$ ) et dans l'hippocampe (- 34%,  $p = 0,014$ ). Par contre, en moyenne il n'y a pas eu de diminution significative de la taille des plaques restantes.

Donc cela suggère que le CHF 5074 est efficace dans l'inhibition de la formation de plaques naissantes mais moins efficace dans l'inhibition de la croissance des plaques.

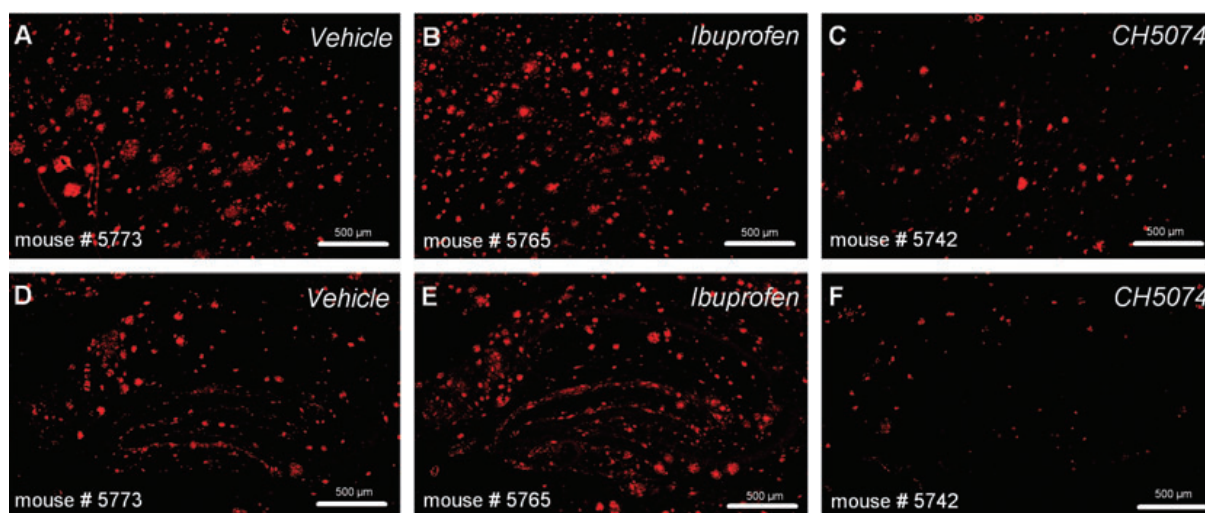
Au niveau de la microglie associée aux plaques, celle-ci était moins importante que celle dans le groupe contrôle dans le cortex (- 54%,  $p = 0,008$ ) et dans l'hippocampe (- 59%,  $p = 0,002$ ). Donc l'hypothèse est que la baisse de l'inflammation est liée aux propriétés anti-amyloïdogéniques du CHF 5074 car la diminution des dépôts amyloïdes entraînerait une régulation négative sur l'activation de la microglie.

En comparaison, l'ibuprofène réduit significativement la microglie dans le cortex et dans l'hippocampe mais ne diminue pas significativement la surface occupée par les plaques, ni le nombre de plaques (Figure LXI).

Enfin, le test de comportement a montré une atténuation des déficits d'apprentissage et de mémorisation dans l'espace (en comparaison, il n'y a eu aucun effet avec l'ibuprofène).

Concernant la tolérance, le traitement chronique ne cause pas de changement macroscopique, ni histopathologique au niveau des organes périphériques. Donc le CHF 5074 ne serait pas associé à l'inhibition de processus d'autres substrats de la  $\gamma$ -secrétase.

Le traitement chronique par CHF 5074 chez des souris transgéniques, réduit les taux de peptide A $\beta$  dans le cerveau et prévient la neurodégénérescence en diminuant les PS et l'inflammation associée. Cela a comme conséquence d'améliorer la mémorisation spatiale et l'apprentissage [120,121,122].



**Figure LXI :** Analyse immunohistochimique de PS marquées avec un anticorps, dans le cortex frontal (images A à C) et l'hippocampe (D à F) de souris transgéniques traitées depuis 6 mois avec du CHF 5074 ou de l'ibuprofène et comparée au groupe contrôle [121].

Une troisième étude chez des souris transgéniques âgées atteintes de MA, a été réalisée. Son but était de voir si la molécule était aussi active au niveau cognitif chez des souris transgéniques âgées ayant des dépôts massifs amyloïdes.

Les résultats montrent une amélioration de la plasticité synaptique au niveau de l'hippocampe et des effets sur la mémoire épisodique (par exemple la reconnaissance d'objets) mais pas sur la mémoire spatiale [123,124].

#### 3.2.3.2. Essais cliniques de Phase I

Une évaluation de la sécurité, de la tolérance, de la pharmacocinétique et de la pharmacodynamie a été réalisée chez des sujets sains de 18 à 45 ans (d'octobre 2009 à mai 2010). Les sujets ont reçu des doses comprises entre 25 et 600 mg de CHF 5074 ou le placebo.

Les résultats montrent une pharmacocinétique linéaire jusqu'à 600 mg avec un  $T_{max}$  à 2-3h. L'élimination du plasma est lente avec un  $t_{1/2}$  de 25h. On peut noter que 25% de la molécule se transforme en métabolites.

Concernant la tolérance, elle est assez bonne. Les quelques effets indésirables signalés sont d'intensité légère [125].

➤ *Conclusion*

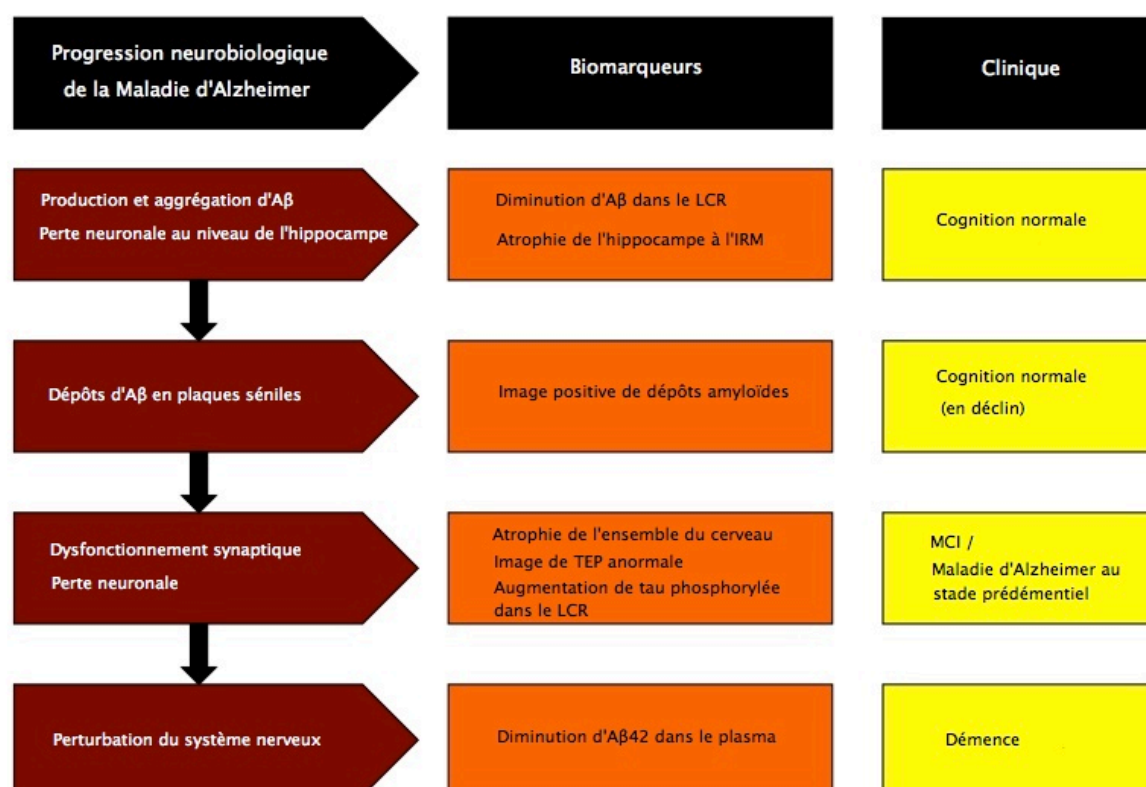
Le CHF 5074 est le GSM le plus avancé dans les essais cliniques actuellement. Il fait l'objet d'une étude de Phase II chez les personnes atteintes de MCI d'avril 2011 à juillet 2012. L'amélioration de la mémoire épisodique et spatiale démontrée au cours de la Phase préclinique semble prometteuse [82,88].

## Conclusion sur les GSI et GSM en essais cliniques

Le problème majeur des GSI est leur marge de sécurité entre l'abaissement d'A $\beta$  et l'atteinte de Notch, conduisant souvent à des échecs (même pour les GSI de deuxième génération dits « inhibiteurs épargneurs de Notch »). De nombreux scientifiques pensent que les GSM sont plus sûrs que les GSI. Mais sont-ils suffisants ? Sûrement pas si le cerveau est déjà envahi par les PS, donc il sera sûrement nécessaire en plus du GSI, d'ajouter un GSM et une immunothérapie.

Quand commencer à prendre le médicament ? Les dépôts abondants de peptides amyloïdes dans le cerveau sont déjà présents plusieurs années avant de développer des symptômes... Le traitement initié à un stage léger est sans doute trop tardif, car les autres processus pathologiques (DNF, inflammation,...) sont devenus plus importants et irréversibles. Il sera donc nécessaire de traiter tôt, idéalement au moins 10 ans avant l'apparition des symptômes (Figure LXII).

Cependant, ni le dépistage précoce, ni la prévention, ni les traitements combinés ne sont encore une réalité...



**Figure LXII :** Progression en parallèle de la MA au niveau neurobiologique, des biomarqueurs et de la clinique [126].

Néanmoins, les études cliniques sont nécessaires pour définir quel degré d'inhibition de Notch peut-être toléré, quel degré d'inhibition d'A $\beta$  est nécessaire pour produire une efficacité, et si l'inhibition de la production d'A $\beta$  peut même modifier la progression de la maladie si les symptômes se sont déjà manifestés.

D'autres hypothèses sont émises sur le développement de cibles thérapeutiques différentes.

On pourrait développer des inhibiteurs ciblant la Préséniline 1 plus puissante que la Préséniline 2 sur le clivage de l'APP. L'homme développerait alors la PS2 pour continuer à cliver Notch et les autres substrats et il y aurait donc moins d'effets indésirables potentiels.

On pourrait aussi agir sur les régulateurs du complexe  $\gamma$ -secrétase, par exemple en ciblant GSAP (protéine d'activation de la  $\gamma$ -secrétase favorisant la liaison avec l'APP, mais pas avec Notch, son inhibition réduit les concentrations de peptide A $\beta$  et la formation de PS sans affecter les voies dépendantes de Notch). Le développement de composés pouvant s'accumuler dans le cerveau et ciblant GSAP représente une approche pour le développement de thérapies contre la MA.

L'inhibition de GSAP in vitro et chez des modèles de souris transgéniques réduit la production d'A $\beta$  de 40 à 50%. Reste à savoir si GSAP n'est pas impliqué dans d'autres processus cellulaires ?

Un essai clinique a été réalisé avec la molécule d'imatinib ou Glivec® (inhibiteur de tyrosine kinase utilisé en cancérologie). Il cible la liaison entre GSAP et l'APP et diminue la production d'A $\beta$ 38, 40 et 42 mais il ne s'agit pas d'un bon candidat médicament car il ne passe pas la barrière hémato-encéphalique... [60,82].

## **CONCLUSION**

La  $\gamma$ -secrétase est une cible prometteuse dans le traitement de la Maladie d'Alzheimer. Cependant, 10 questions au moins restent à élucider dans le succès du développement d'un médicament :

### ***1- La Maladie d'Alzheimer est-elle une maladie ou un syndrome ?***

La Maladie d'Alzheimer peut-être soit complètement sporadique, soit due à une prédisposition génétique, une conséquence à long-terme d'un traumatisme crânien, etc... La réalité clinique est aussi extrêmement hétérogène. S'agit-il de la même maladie ou d'un syndrome commun ? Développer un médicament pour une Maladie d'Alzheimer « unique », semble donc être difficile.

### ***2- La pathogénie et l'étiologie de la Maladie d'Alzheimer sont-elles suffisamment comprises pour permettre la conception d'un médicament ?***

Les molécules en développement sont essentiellement basées sur l'« hypothèse amyloïde », alors que les dépôts amyloïdes ne pourraient être que secondaires à d'autres processus pathologiques.

### ***3- Quel est le rôle physiologique normal du peptide A $\beta$ et de l'APP ?***

Leurs rôles potentiels n'étant pas encore élucidés, l'interférence avec ces composés pourrait avoir de graves conséquences à long terme...

### ***4- Les médicaments devraient-ils cibler une ou plusieurs cibles ?***

De multiples stades de la cascade neuropathologique de la MA peuvent faire l'objet d'une cible potentielle.

### ***5- Les données structurelles expérimentales sont-elles suffisantes pour permettre la conception d'un médicament ?***

Il n'existe pas de structure tridimensionnelle du peptide A $\beta$ , alors qu'il est la cible thérapeutique principale des approches conventionnelles de la Maladie d'Alzheimer.

### ***6- Les méthodes de criblage virtuel sont-elles assez puissantes pour concevoir de nouvelles molécules ?***

La structure tridimensionnelle du peptide A $\beta$  et les processus de maturation de l'APP et des autres protéines impliquées ne sont pas encore bien connus, c'est pourquoi les méthodes numériques de modélisation restent imparfaites.

### ***7- Les modèles animaux sont-ils assez réalistes ?***

Chez l'homme, les mutations de l'APP et des Présénilines sont à l'origine de Maladie d'Alzheimer avec plaques séniles, dégénérescences neurofibrillaires, inflammation, atrophie... Chez les modèles animaux, ces mêmes mutations ne sont la plupart du temps à l'origine que de plaques séniles. Il faut donc être prudent en terme de prédiction de l'efficacité des traitements chez l'homme, car la représentation clinique de la maladie est encore limitée chez les modèles animaux.

### ***8- Comment devrait-être mené idéalement un essai clinique afin de démontrer l'efficacité d'un médicament ?***

La plupart des essais cliniques dans la Maladie d'Alzheimer se basent sur les symptômes de la maladie, utilisant les mesures neuropsychologiques conventionnelles (comme le MMSE).



Mais prouver qu'un médicament est réellement actif nécessiterait d'autres paramètres comme des mesures d'évaluation améliorées et reproductibles avec une durée d'essai prolongée...

***9- Les méthodes diagnostiques de la Maladie d'Alzheimer sont-elles acceptables ?***

Le diagnostic de certitude de Maladie d'Alzheimer requiert une autopsie, c'est pourquoi le diagnostic posé n'est que « fortement probable ». Ceci est donc un obstacle lors des essais cliniques, notamment pour les Maladie d'Alzheimer « légères », car les définitions actuelles et les stades caractéristiques de la maladie ne permettent pas d'identifier une Maladie d'Alzheimer jusqu'à ce que les symptômes soient évidents.

***10- Les médicaments en développement sont-ils plutôt « modulateurs » de la Maladie d'Alzheimer, « curatifs », « préventifs » ou la combinaison des trois ?***

La plupart des traitements actuellement en développement seraient plutôt actifs dans la prévention de la maladie ou au stade de MCI...

## **BIBLIOGRAPHIE**

- [1] INSTITUT NATIONALE DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM). *Maladie d'Alzheimer : enjeux scientifiques, médicaux et sociétaux*. Paris : Les éditions Inserm, 2007, 654 p. (Expertise collective)  
ISBN 9782-85598-858-6
- [2] TOUCHON J., PORTET F. *La maladie d'Alzheimer*. 3<sup>e</sup> éd. Issy-les-Moulineaux : Masson ; Levallois-Perret : Le Quotidien du médecin, 2004, 177 p. (Consulter/prescrire)  
ISBN 2-294-01967-9
- [3] CUMMINGS JL. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2004 ; 351 : 56-67.
- [4] HELMER C., PASQUIER F., DARTIGUES JF. Epidémiologie de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés. *Médecine/Sciences* 2006 ; 22 : 288-96.
- [5] ANKRI J. Epidémiologie des démences et de la maladie d'Alzheimer. *BEH* 2006 ; 5-6 : 42-44.
- [6] ALZHEIMER'S DISEASE INTERNATIONAL. *World Alzheimer Report 2009* [en ligne]. London : Prince M., Jackson J., 2009, 96 p. Disponible sur : <http://www.alz.co.uk/research/worldreport/> (consulté le 05.05.2010)
- [7] SCHENK F., LEUBA G., BÜLA C. *Du vieillissement cérébral à la maladie d'Alzheimer : autour de la notion de plasticité*. Bruxelles : Editions De Boeck Université, 2004, 338 p. (Neurosciences et cognition)  
ISBN 2-8041-4595-6
- [8] CLEMENT JP. Facteurs de risque et facteurs protecteurs des démences. *Morphologie* 2007 ; 91 : 207-20.
- [9] Image provenant du *WebPath : The Internet Pathology Laboratory for Medical Education* [en ligne]. Disponible sur : <http://library.med.utah.edu/WebPath/CNSHTML/CNS094.html> (consulté le 23.12.2008)
- [10] ARBEZ Nicolas. Etude des effets des peptides amyloïdes : du fonctionnement de la synapse aux modifications du cytosquelette dans l'apoptose neuronale [thèse en ligne]. Biologie du vieillissement. Paris 5 (France) : Université René Descartes, 2005, 253 p. Disponible sur : [http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/08/52/31/PDF/these\\_Arbez.pdf](http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/08/52/31/PDF/these_Arbez.pdf) (consulté le 12.01.2009)
- [11] Image provenant du site de la *Société Alzheimer du Canada* [en ligne]. Disponible sur : [http://www.alzheimer.ca/french/alzheimer\\_brain\\_mini\\_site/09.htm](http://www.alzheimer.ca/french/alzheimer_brain_mini_site/09.htm) (consulté le 26.10.2008)
- [12] Image provenant du site *Journals on the web* [en ligne]. Disponible sur : [http://journals.prous.com/journals/dof/20022709/html/df270863/images/Luigi\\_fl.gif](http://journals.prous.com/journals/dof/20022709/html/df270863/images/Luigi_fl.gif) (consulté le 26.01.2009)

- [13] COLE S., VASSAR R. The Alzheimer's disease  $\beta$ -secretase enzyme, BACE1. *Molecular neurodegeneration* 2007 ; 2 : 22.
- [14] CHECLER F., ALVES DA COSTA C., DUMANCHIN-NJOCK C., LOPEZ-PEREZ E., MARAMBAUD P., PAITEL E., *et al.* Métabolisme du précurseur du peptide amyloïde et présénilines. *Médecine/Sciences* 2002 ; 18 : 717-24.
- [15] SEVALLE Jean. Etude de la production et de la dégradation du peptide amyloïde dans la maladie d'Alzheimer [thèse en ligne]. Biologie moléculaire et cellulaire. Nice (France) : Université de Nice-Sophia Antipolis, 2008, 193 p. Disponible sur : [http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/41/93/65/PDF/J.SEVALLE\\_2008-12-01.pdf](http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/41/93/65/PDF/J.SEVALLE_2008-12-01.pdf) (consulté le 23.02.2010)
- [16] WEI W., NORTON DD., WANG X., KUSIAK JW. A $\beta$  17-42 in Alzheimer's disease activates JNK and caspase-8 leading to neuronal apoptosis. *Brain* 2002 ; 125 : 2036-43.
- [17] CHTIOUI-BASTIEN Valérie. *Maladie d'Alzheimer : traitement actuel et perspectives d'avenir*. Th.D. : Pharm : Université du Droit et de la Santé de Lille 2 : 2001 ; n° 50378DE200145, 155f.
- [18] Image [en ligne]. Disponible sur : [http://www.mpasmb-hamburg.mpg.de/webpage\\_tau/hypothese.gif](http://www.mpasmb-hamburg.mpg.de/webpage_tau/hypothese.gif) (consulté le 16.03.2010)
- [19] BUEE L., DELACOURTE A. La maladie d'Alzheimer : une tauopathie parmi d'autres ? *Médecine/Sciences* 2002 ; 18 : 727-36.
- [20] GOVAERTS L., SCHOENEN J., BOUHY D. Pathogénie de la maladie d'Alzheimer : les mécanismes moléculaires et cellulaires. *Revue médicale de Liège* 2007 ; 62(4) : 209-15.
- [21] EKELOO Aurélie. *Perspectives immunothérapeutiques de la maladie d'Alzheimer*. Th. D. : Pharm : Université du Droit et de la Santé de Lille 2 : 2008 ; n° 50378DE2008113, 106 f.
- [22] HENEKA MT., O'BANION MK. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 2007 ; 184 : 69-91.
- [23] LABIS Elise, ZAKARDJIAN Fabien. Mémantine : une nouvelle option thérapeutique pour combattre la maladie d'Alzheimer. Module MSBM : Pharmacie : Université du Droit et de la Santé de Lille 2 : 2004 ; 58 p.
- [24] WALTON HS., DODD PR. Glutamate-glutamine cycling in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 2007 ; 50 : 1052-66.
- [25] DELACOURTE A., BUEE L. Modélisation de la maladie d'Alzheimer : un parcours semé d'embûches. *Psychol NeuroPsychiatr Vieil* 2005 ; 3 (4) : 261-70.
- [26] CHRISTEN Y. Un nouveau regard sur les maladies neurodégénératives. *Gérontologie et société* 2001 ; 97 : 63-73.

- [27] SELLAL F., KRUCZEK E. *Maladie d'Alzheimer*. 2<sup>e</sup> éd. Rueil-Malmaison : Doin, 2007, 152 p. (Collection Conduites)  
ISBN 978-2-7040-1211-4
- [28] SOTO M., REYNISH E., NOURHASHEMI F., VELLAS B. Aspects cliniques de la maladie d'Alzheimer. *Presse Med* 2007 ; 36(10-C2) : 1491-99.
- [29] MOREAUD O., DAVID D., BRUTTI-MAIRESSE MP., DEBRAY M., MEMIN A. L'aphasie du sujet âgé. *Psychol NeuroPsychiatr Vieil* 2010 ; 8(1) : 43-51.
- [30] CROISILE B. Ecriture, vieillissement, Alzheimer. *Psychol NeuroPsychiatr Vieil* 2005 ; 3(3) : 183-97.
- [31] LANDREAU V. La personne âgée désorientée en institution. *Etudes sur la mort* [en ligne]. 2004 ; 126 : 71-83. Disponible sur : [http://www.cairn.info/article.php?ID\\_REVUE=ESLM&ID\\_NUMPUBLIE=ESLM\\_126&ID\\_ARTICLE=ESLM\\_126\\_007](http://www.cairn.info/article.php?ID_REVUE=ESLM&ID_NUMPUBLIE=ESLM_126&ID_ARTICLE=ESLM_126_007)  
1 (consulté le 21.03.2010)
- [32] PANCRAZI MP., METAIS P. Repérer les signes psychologiques et comportementaux de la démence d'Alzheimer. *La revue du praticien : Médecine générale* 2004 ; Tome18(n°660/661) : 899-902.
- [33] BOMBOIS S., PASQUIER F. Identifier le Mild Cognitive Impairment : quel bénéfice ? *La revue du praticien : Médecine générale* 2007 ; Tome21(n°780/781) : 767-70.
- [34] HAUTE AUTORITE DE SANTE. Diagnostic et prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées [en ligne]. Recommandations professionnelles, décembre 2011. Disponible sur : [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-01/reco2clics\\_maladie\\_d\\_alzheimer\\_et\\_maladies\\_apparentees\\_diagnostic\\_et\\_prise\\_en\\_charge.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2012-01/reco2clics_maladie_d_alzheimer_et_maladies_apparentees_diagnostic_et_prise_en_charge.pdf) (consulté le 31.01.2012)
- [35] HUGUENOT-DIENER L., BARBEAU E., MICHEL BF., THOMAS-ANTERION C., ROBERT P. *Grémoire : tests et échelles de la maladie d'Alzheimer et des syndromes apparentés*. Marseille : Solal, 2008, 308 p. (Collection GRECO)  
ISBN 978-2-35327-056-9
- [36] LEJEUNE Marie. *La maladie d'Alzheimer. La pathologie : de la détection à la prise en charge globale du patient à l'officine*. Th. D. : Pharm : Université du Droit et de la Santé de Lille 2 : 2007 ; n° 50378DE2007112, 208 f.
- [37] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://www.techno-science.net/illustration/Autres/Medecine/alzheimer-IRM-cerebrale.jpg.jpg> (consulté le 21.06.2010)
- [38] Image [en ligne]. Disponible sur : [http://i.usatoday.net/community/\\_photos/alzheimers-topper.jpg](http://i.usatoday.net/community/_photos/alzheimers-topper.jpg) (consulté le 21.06.2010)

- [39] TRIVALLE C. Donepezil (Aricept®). *NPG Neurologie-Psychiatrie-Gériatrie* 2008 ; 8 : 19-23.
- [40] BELMIN J., PEQUIGNOT R., KONRAT C., PARIEL-MADJLESSI S. Prise en charge de la maladie d'Alzheimer. *Presse Med* 2007 ; 36(10-C2) : 1500-10.
- [41] Vidal 2010
- [42] LEVASSEUR C. Mémantine (Ebixa®). *NPG Neurologie-Psychiatrie-Gériatrie* 2010 ; 10 : 136-40.
- [43] HAUTE AUTORITE DE SANTE. Prise en charge de la maladie d'Alzheimer et des maladies apparentées : interventions médicamenteuses et non médicamenteuses [en ligne]. Recommandations professionnelles, mars 2008. Disponible sur : [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/maladie\\_dalzheimer-\\_synthese\\_-\\_interventions\\_medicamenteuses\\_et\\_non\\_medicamenteuses.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/maladie_dalzheimer-_synthese_-_interventions_medicamenteuses_et_non_medicamenteuses.pdf) (consulté le 30.06.2010)
- [44] TOLIA A., DE STROOPER B. Structure and function of  $\gamma$ -secretase. *Semin Cell Dev Biol* 2009 ; 20 : 211-18.
- [45] DRIES DR., YU G. Assembly, maturation, and trafficking of the  $\gamma$ -secretase complex in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2008 ; 5(2) : 132-46.
- [46] WOLFE MS. Structure, mechanism and inhibition of  $\gamma$ -secretase and presenilin-like proteases. *Biol Chem* 2010 ; 391 : 839-47.
- [47] LI H., WOLFE MS., SELKOE DJ. Toward structural elucidation of the  $\gamma$ -secretase complex. *Structure* 2009 ; 17 : 326-34.
- [48] DUNYS Julie. Le complexe  $\gamma$ -secrétase et la mort cellulaire par apoptose : implication dans la maladie d'Alzheimer [thèse en ligne]. Biologie moléculaire et cellulaire. Nice (France) : Université de Nice-Sophia Antipolis, 2007, 310 p. Disponible sur : [http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/31/67/88/PDF/PDF\\_These.pdf](http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/31/67/88/PDF/PDF_These.pdf) (consulté le 20.08.2010)
- [49] CHOI YH., GWON AR., JEONG HY., PARK JS., BAIK SH., ARUMUGAM TV., *et al.* Contribution of  $\gamma$ -secretase to calcium-mediated cell death. *Neurosci Lett* 2010 ; 469 : 425-8.
- [50] STEINER H., FLUHRER R., HAASS C. Intramembrane proteolysis by  $\gamma$ -secretase. *J Biol Chem* 2008 ; 283(44) : 29627-31.
- [51] WOO HN., PARK JS., GWON AR., ARUMUGAM TV., JO DG. Alzheimer's disease and Notch signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2009 ; 390 : 1093-7.
- [52] LI YM.  $\gamma$ -secretase : a catalyst of Alzheimer disease and signal transduction. *Mol Interv* 2001 ; 1(4) : 198-207.

- [53] ZHOU S., ZHOU H., WALIAN PJ., JAP BK. Regulation of  $\gamma$ -secretase activity in Alzheimer's disease. *Biochemistry* 2007 ; 46(10) : 2553-63.
- [54] ZHOU H., ZHOU S., WALIAN PJ., JAP BK. Dependency of  $\gamma$ -secretase complex activity on the structural integrity of the bilayer. *Biochem Biophys Res Commun* 2010 ; 402 : 291-6.
- [55] VETRIVEL KS., THINAKARAN G. Membrane rafts in Alzheimer's disease beta-amyloid production. *Biochim Biophys Acta* 2010 ; 1801 : 860-7.
- [56] ST GEORGE-HYSLOP P., SCHMITT-ULMS G. Selectively tuning  $\gamma$ -secretase. *Nature* 2010 ; 467 : 36-7.
- [57] BUOSO E., LANNI C., SCHETTINI G., GOVONI S., RACCHI M.  $\beta$ -amyloid precursor protein metabolism : focus on the functions and degradation of its intracellular domain. *Pharmacol Res* 2010 ; 62 : 308-17.
- [58] PARKS AL., CURTIS D. Presenilin diversifies its portfolio. *Trends Genet* 2007 ; 23(3) : 140-50.
- [59] JO DG., ARUMUGAM TV., WOO HN., PARK JS., TANG SC., MUGHAL M., *et al.* Evidence that  $\gamma$ -secretase mediates oxidative stress-induced  $\beta$ -secretase expression in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2010 ; 31 : 917-25.
- [60] HE G., LUO W., LI P., REMMERS C., NETZER WJ., HENDRICK J., *et al.* Gamma-secretase activating protein is a therapeutic target for Alzheimer's disease. *Nature* 2010 ; 467 : 95-9.
- [61] THATHIAH A., SPITTAELS K., HOFFMANN M., STAES M., COHEN A., HORRE K. *et al.* The orphan G protein-coupled receptor 3 modulates amyloid-beta peptide generation in neurons. *Science* 2009 ; 323 : 946-51.
- [62] WOO HN., BAIK SH., PARK JS., GWON AR., YANG S., YUN YK., *et al.* Secretases as therapeutic targets for Alzheimer's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2010 ; 404(1) : 10-5.
- [63] SIMON Arnaud. Mutations de Notch1 dans les leucémies aiguës lymphoblastiques T de l'adulte [thèse en ligne]. Méd. Paris 5 (France) : Université René Descartes, 2006, 61 p. Disponible sur : <https://www.medecine.univ-paris5.fr/IMG/pdf/Simon.pdf> (consulté le 13.12.2010)
- [64] BESSETTE Barbara. Notch1, développement normal et cancers [thèse en ligne]. Neuroscience, cancérologie. Limoges (France) : Université de Limoges, 2006, 187 p. Disponible sur : <http://epublications.unilim.fr/theses/2006/bessette-barbara/bessette-barbara.pdf> (consulté le 17.12.2010)
- [65] TALORA C., CAMPESE AF., BELLAVIA D., FELLI MP., VACCA A., GULINO A., *et al.* Notch signaling and diseases : an evolutionary journey from a simple beginning to complex outcomes. *Biochim Biophys Acta* 2008 ; 1782 : 489-97.

- [66] YIN L., VELAZQUEZ OC., LIU ZJ. Notch signaling : emerging molecular targets for cancer therapy. *Biochem Pharmacol* 2010 ; 80 : 690-701.
- [67] BROU C., LOGEAT F. Endocytose et voie de signalisation Notch. *Médecine/Sciences* 2006 ; 22 (8-9) : 685-8.
- [68] SCHWANBECK R., MARTINI S., BERNOTH K., JUST U. The Notch signaling pathway : molecular basis of cell context dependency. *Eur J Cell Biol* 2010.
- [69] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://www.kgu.de/ni/Seite3-Notch.gif> (consulté le 28.01.2011)
- [70] LATHIA JD., MATTSON MP., CHENG A. Notch : from neural development to neurological disorders. *J Neurochem* 2008 ; 107(6) : 1471-81.
- [71] JUNGHANS D., HAAS IG., KEMLER R. Mammalian cadherins and photocadherins : about cell death, synapses and processing. *Curr Opin Cell Biol* 2005 ; 17 : 446-52.
- [72] PASQUALE EB. Eph-Ephrin bidirectional signaling in physiology and disease. *Cell* 2008 ; 133 : 38-52.
- [73] BERNET A., MEHLEN P. La Nétrine-1 et ses récepteurs à dépendance : rôle dans les cancers colorectaux. *Pathol Biol* 2005 ; 53 : 328-33.
- [74] VIDAL GA., NARESH A., MARRERO L., JONES FE. Presenilin-dependent  $\gamma$ -secretase processing regulates multiple ERBB4/HER4 activities. *J Biol Chem* 2005 ; 280(20) : 19777-83.
- [75] ARASADA RR., CARPENTER G. Secretase-dependent tyrosine phosphorylation of Mdm2 by the ErbB-4 intracellular domain fragment. *J Biol Chem* 2005 ; 280(35) : 30783-7.
- [76] TOMITA T. Secretase inhibitors and modulators for Alzheimer's disease treatment. *Expert Rev Neurother* 2009 ; 9(5) : 661-79.
- [77] CARTER MD., SIMMS GA., WEAVER DF. The development of new therapeutics for Alzheimer's disease. *Clin Pharmacol Ther* 2010 ; 88(4) : 475-86.
- [78] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://www.jbc.org/content/281/21/14670.full> (consulté le 05.07.2011)
- [79] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://www.eisai.com/news/enews200616pdf.pdf> (consulté le 28.06.2011)
- [80] YI P., HADDEN C., KULANTHAIVEL P., CALVERT N., ANNES W., BROWN T., *et al.* Disposition and metabolism of Semagacestat, a  $\gamma$ -secretase inhibitor, in humans. *Drug Metab Dispos* 2010 ; 38(4) : 554-65.

- [81] IMBIMBO BP. Alzheimer's disease :  $\gamma$ -secretase inhibitors. *Drug Discov Today* 2008 ; 5 (3) : 169-75.
- [82] Site internet *Alzheimer Research Forum* <http://www.alzforum.org/>
- [83] BATEMAN RJ., SIEMERS ER., MAWUENYEGA KG., WEN G., BROWNING KR., SIGURDSON WC., *et al.* A  $\gamma$ -secretase inhibitor decreases amyloid- $\beta$  production in the central nervous system. *Ann Neurol* 2009 ; 66 : 48-54.
- [84] SAMSON K. Nervecenter : Phase III Alzheimer trial halted : Search for therapeutic biomarkers continues. *Ann Neurol* 2010 ; 68(4) : A9-A12.
- [85] SIEMERS ER., QUINN JF., KAYE J., FARLOW MR., PORSTEINSSON A., TARIOT P., *et al.* Effects of a  $\gamma$ -secretase inhibitor in a randomized study of patients with Alzheimer disease. *Neurology* 2006 ; 66 : 602-4.
- [86] PORTELIUS E., DEAN RA., GUSTAVSSON MK., ANDREASSON U., ZETTERBERG H., SIEMERS E., *et al.* A novel A $\beta$  isoform pattern in CSF reflects  $\gamma$ -secretase inhibition in Alzheimer disease. *Alzheimers Res Ther* 2010 ; 2(2) : 1-7.
- [87] FLEISHER AS., RAMAN R., SIEMERS ER., BECERRA L., CLARK CM., DEAN RA., *et al.* Phase 2 safety trial targetting amyloid  $\beta$  production with a  $\gamma$ -secretase inhibitor in Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2008 ; 65(8) : 1031-8.
- [88] Site internet *Clinical trial* <http://clinicaltrials.gov/>
- [89] Site internet *ONRA : Observatoire National de la Recherche sur la Maladie d'Alzheimer* <http://cm2r.enamax.net/onra/>
- [90] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://www.chemblink.com/structures/471905-41-6.gif> (consulté le 13.06.2011)
- [91] ROSEN LB., STONE JA., PLUMP A., YUAN J., HARRISSON T., FLYNN M., *et al.* The gamma-secretase inhibitor MK-0752 acutely and significantly reduces CSF Abeta40 concentrations in humans. *Alzheimers Dement* 2006 ; 2(3) : S79.
- [92] MARTONE RL., ZHOU H., ATCHISON K., COMERY T., XU JZ., HUANG X., *et al.* Begacestat (GSI-953) : A novel, selective thiophene sulfonamide inhibitor of amyloid precursor protein  $\gamma$ -secretase for the treatment of Alzheimer's disease. *J Pharmacol Exp Ther* 2009 ; 331(2) : 598-608.
- [93] WAN H., BARD J., MARTONE R., RAGE S., FORLOW S., KREFT A., *et al.* GSI-953, a potent and selective gamma-secretase inhibitor, modulates Abeta peptides in mice and humans : Translating the PK/PD biomarker relationships in different biological compartments between rodent and human. *Alzheimers Dement* 2008 ; 4(4) : T548.
- [94] JACOBSEN S., COMERY T., KREFT A., MAYER S., ZALESKA M., RIDDELL D., *et al.* GSI-953 is a potent APP-selective gamma-secretase inhibitor for the treatment of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2009 ; 5(4) : P139.



- [95] FRICK G., RAJE S., WAN H., FORLOW SB., BALLIET C., PASTORE A., *et al.* GSI-953, a potent and selective gamma-secretase inhibitor : Modulation of beta-amyloid peptides and plasma and cerebrospinal fluid pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships in humans. *Alzheimers Dement* 2008 ; 4(4) : T781.
- [96] Protocole de Phase Ib publié par Pfizer. Disponible sur : [http://www.clinicalstudyresults.org/documents/company-study\\_11264\\_0.pdf](http://www.clinicalstudyresults.org/documents/company-study_11264_0.pdf) (consulté le 19.05.2011)
- [97] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://www.selleckchem.com/products/BMS-708163.html> (consulté le 08.06.2011)
- [98] Présentation power point du laboratoire Bristol-Myers Squibb. Disponible sur : [http://www.bms.com/Documents/investors/ICM\\_Cuss.pdf](http://www.bms.com/Documents/investors/ICM_Cuss.pdf) (consulté le 09.06.2011)
- [99] Site internet *Répertoire public des essais cliniques de médicaments* publié par l'Afssaps <https://icrepec.afssaps.fr/Public/index.php>
- [100] TONG G., CASTANEDA L., WANG JS., SVERDLOV A., HUANG SP., SLEMMON R., *et al.* A study to evaluate the effects of single oral doses of BMS-708163 in the cerebrospinal fluid of healthy young men. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S143.
- [101] TONG G., WANG JS., SVERDLOV A., HUANG SP., SLEMMON R., CROOP R., *et al.* The safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of single doses of BMS-708163 in young and elderly subjects. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S539.
- [102] WANG JS., CASTANEDA L., SVERDLOV A., HUANG SP., SLEMMON R., GU H., *et al.* A placebo-controlled, ascending, multiple-dose study to evaluate the safety, pharmacokinetics (PK) and pharmacodynamics (PD) of BMS-708163 in healthy young and elderly subjects. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S540.
- [103] ALBRIGHT C., ANDREASEN N., MINTHON L., BLENNOW K., FELDMAN H., SOARES H., *et al.* The gamma-secretase inhibitor BMS-708163 causes dose-dependent reductions in CSF A $\beta$ 40 levels in patients with mild-to-moderate Alzheimer's disease (AD). *Alzheimers Dement* 2011 ; 7(4) : S311.
- [104] SALLOWAY S., CORIC V., BRODY M., ANDREASEN N., VAN DYCK C., SOININEN H., *et al.* Safety and tolerability of BMS-708163 in a phase II study in mild-to-moderate Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 2011 ; 7(4) : S695-S696.
- [105] PORTELIUS E., BLENNOW K., ANDREASSON U., ZETTERBERG H., SOARES H., SIMON A., *et al.* The gamma secretase inhibitor, BMS-708163 increases alpha secretase A $\beta$  peptide cleavage fragments and decreases the gamma secretase A $\beta$  peptide 1-34 fragment in cerebrospinal fluid. *Alzheimers Dement* 2011 ; 7(4) : S289.
- [106] LANZ TA., WOOD KM., RICHTER KEG., NOLAN CE., BECKER SL., POZDNYAKOV N., *et al.* Pharmacodynamics and pharmacokinetics of the  $\gamma$ -secretase inhibitor, PF-3084014. *J Pharmacol Exp Ther* 2010 ; 334(1) : 269-77.

- [107] WOOD KM., LANZ TA., COFFMAN KJ., BECKER SL., VAN DEUSEN J., NOLAN CE., *et al.* Efficacy of the novel  $\gamma$ -secretase inhibitor, PF-3084014, in reducing A $\beta$  in brain, CSF, and plasma in guinea pigs and Tg2576 mice. *Alzheimers Dement* 2008 ; 4 (4) : T482-T483.
- [108] AISEN PS. Tarenflurbil : a shot on goal. *Lancet Neurol* 2008 ; 7(6) : 468-9.
- [109] KUKAR T., PRESCOTT S., ERIKSEN JL., HOLLOWAY V., MURPHY MP., KOO EH., *et al.* Chronic administration of R-flurbiprofen attenuates learning impairments in transgenic amyloid precursor protein mice. *BMC Neurosci* 2007 ; 8(54) : 1-12.
- [110] WOLFE MS.  $\gamma$ -secretase in biology and medicine. *Semin Cell Dev Biol* 2009 ; 20(2) : 219-24.
- [111] WOLFE MS. Structure, mechanism and inhibition of  $\gamma$ -secretase and presenilin-like proteases. *Biol Chem* 2010 ; 391 : 839-47.
- [112] IMBIMBO BP., GIUDICE ED., CENACCHI V., VOLTA R., VILLETTI G., FACCHINETTI F., *et al.* In vitro and in vivo profiling of CHF5022 and CHF5074 : Two  $\beta$ -amyloid<sub>1-42</sub> lowering agents. *Pharmacol Res* 2007 ; 55 : 318-28.
- [113] CHRISTENSEN DD. Changing the course of Alzheimer's disease : Anti-amyloid disease-modifying treatments on the horizon. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry* 2007 ; 9(1) : 32-41.
- [114] WILCOCK GK., BLACK SE., HENDRIX SB., ZAVITZ KH., SWABB EA., LAUGHLIN MA. Efficacy and safety of tarenflurbil in mild to moderate Alzheimer's disease : a randomised phase II trial. *Lancet Neurol* 2008 ; 7 : 483-93.
- [115] VELLAS B. Tarenflurbil for Alzheimer's disease : a « shot on goal » that missed. *Lancet Neurol* 2010 ; 9 : 235-7.
- [116] Image [en ligne]. Disponible sur : <http://medchembuzz.wordpress.com/2011/01/17/review-gamma-secretase-modulators/> (consulté le 15.06.2011)
- [117] AMINO H., HAGIWARA H., MURATA Y., WATANABE H., SASAKI T., MIYAGAWA T., *et al.* E2012 : a novel gamma-secretase modulator-mechanism of action. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S541-S542.
- [118] HASHIMOTO T., ISHIBASHI A., HAGIWARA H., MURATA Y., TAKENATA O., MIYAGAWA T., *et al.* E2012 : a novel gamma-secretase modulator-pharmacology part. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S242.
- [119] NAGY C., SCHUCK E., ISHIBASHI A., NAKATANI Y., REGE B., LOGOVINSKY V., *et al.* E2012, a novel gamma-secretase modulator, decreases plasma amyloid-beta (A $\beta$ ) levels in humans. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S574.

- [120] IMBIMBO BP., GIUDICE ED., COLAVITO D., D'ARRIGO A., CARBONARE MD., VILLETI G., *et al.* 1-(3',4'-Dichloro-2-fluoro[1,1'-biphenyl]-4-yl)-cyclopropanecarboxylic Acid (CHF5074), a novel  $\gamma$ -secretase modulator, reduces brain  $\beta$ -amyloid pathology in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease without causing peripheral toxicity. *J Pharmacol Exp Ther* 2007 ; 323(3) : 822-30.
- [121] IMBIMBO BP., HUTTER-PAIER B., VILLETTI G., FACCHINETTI F., CENACCHI V., VOLTA R., *et al.* CHF5074, a novel  $\gamma$ -secretase modulator, attenuates brain  $\beta$ -amyloid pathology and learning deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brit J Pharmacol* 2009 ; 156 : 982-93.
- [122] SIVILIA S., LORENZINI L., GIULIANI A., FERNANDEZ M., GUSCIGLIO M., PIETRINI V., *et al.* Chronic administration of CHF5074, a novel  $\gamma$ -secretase modulator, prevents brain neurodegeneration in aged Alzheimer's disease transgenic mice. *Alzheimers Dement* 2011 ; 7(4) : S520.
- [123] IMBIMBO BP., GIARDINO L., GIULIANI A., GUSCIGLIO M., LORENZINI L., VILLETTI G., *et al.* Chronic administration of CHF5074, a novel gamma-secretase modulator, dose-dependently restores object recognition memory in aged Alzheimer's disease transgenic mice. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S591-S592.
- [124] IMBIMBO BP., BALDUCCI C., MARE L., FORLONI G., VILLETTI G., NISTICO R., *et al.* CHF5074, a novel gamma-secretase modulator, completely reverses hippocampal long-term potentiation and nonspatial memory deficits in young, plaque-free, human amyloid precursor protein transgenic mice. *Alzheimers Dement* 2010 ; 6(4) : S573.
- [125] IMBIMBO B., MACKINTOSH D., APONTE T., FRIGERIO E., BREDA M., FERNANDEZ M., *et al.* Safety and pharmacokinetics of CHF5074, a novel gamma-secretase modulator, after multiple oral administrations to healthy humans. *Alzheimers Dement* 2011 ; 7(4) : S462.
- [126] CUMMINGS JL. Biomarkers in Alzheimer's disease drug development. *Alzheimers Dement* 2011 ; 7 : e13-e44.



**DECISION D'AUTORISATION DE SOUTENANCE**

Nom et Prénom de l'étudiant : LARDÉ Perrine

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 17 04 2012 à 17h30 Amphithéâtre ou salle : Pauling  
jour mois année

**Avis du conseiller de thèse:**

Nom : LUYCKX

Prénom : Michel

☒ favorable

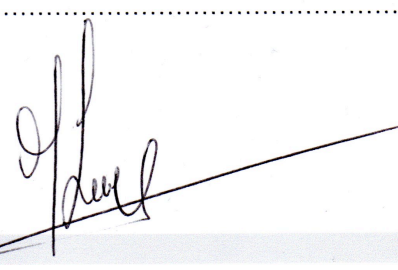
☐ défavorable

Motif de l'avis défavorable : .....

.....

.....

Date : 14-02-2012

Signature: 

**Décision de Monsieur le Doyen:**

☒ favorable

☐ défavorable

Le Doyen

  
L. DUBREUIL



NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

Université de Lille 2  
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE  
LILLE  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2011/2012

**Nom : Lardé**  
**Prénom : Perrine**

**Titre de la thèse : LA GAMMA-SECRETASE : Nouvelle cible thérapeutique  
de la Maladie d'Alzheimer**

**Mots-clés : Alzheimer, Gamma-sécrétase, Notch, Inhibiteurs, Modulateurs**

---

**Résumé :**

La Maladie d'Alzheimer, première cause de démence dans les pays développés, est caractérisée par la formation de plaques séniles et de dégénérescences neurofibrillaires dans le système nerveux central.

La Gamma-sécrétase, enzyme clé dans la formation des plaques séniles, est un complexe macromoléculaire responsable du clivage de l'APP donnant naissance au peptide amyloïde. Cependant, cette enzyme est impliquée dans de nombreux autres processus cellulaires, dont la voie Notch.

L'arsenal thérapeutique actuel ne faisant que retarder l'évolution de la maladie, des médicaments inhibiteurs ou modulateurs de Gamma-sécrétase sont actuellement en essais cliniques. Leur manque de sélectivité reste l'obstacle principal à déjouer.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Michel LUYCKX, Professeur de Pharmacie Clinique,  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

**Assesseur :** Thierry DINE, Professeur de Pharmacie Clinique,  
Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

**Membre extérieur :** Jessica DELEFORGE, Pharmacien