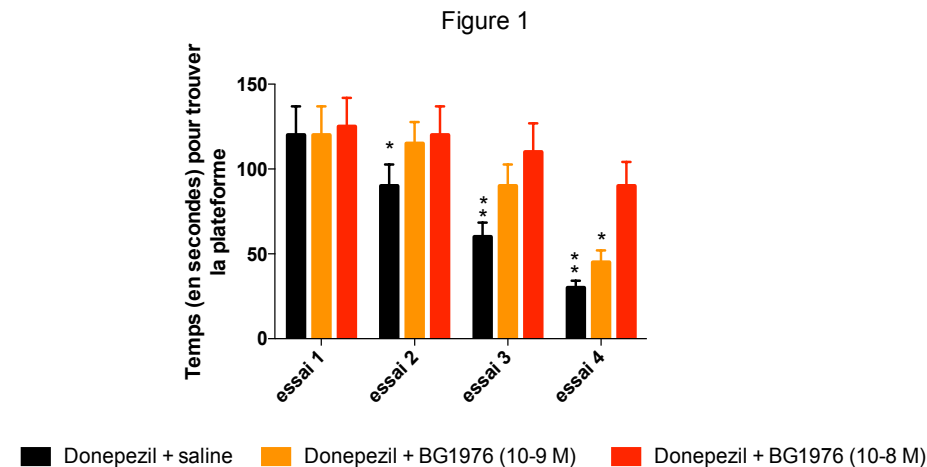


La maladie d'Alzheimer est un trouble neurologique invalidant se traduisant par des troubles de la mémoire. Dans une première série d'expériences, les capacités mnésiques de différents lots de souris ont été étudiées en présence de Donepezil, un inhibiteur réversible de l'Acétylcholinestérase, seul ou associé au BG1976. Le test utilisé est celui de la « piscine de Morris ». Le principe réside dans la motivation de l'animal à échapper à l'aversion causée par l'eau, celui-ci devant trouver une plateforme pour s'y réfugier. Les données analysées sont le temps pour trouver la plateforme au cours des différents essais. Les résultats de cette expérience sont présentés dans la Figure 1.

Les signes « * » représentent le niveau de significativité comparé au premier essai du groupe correspondant.

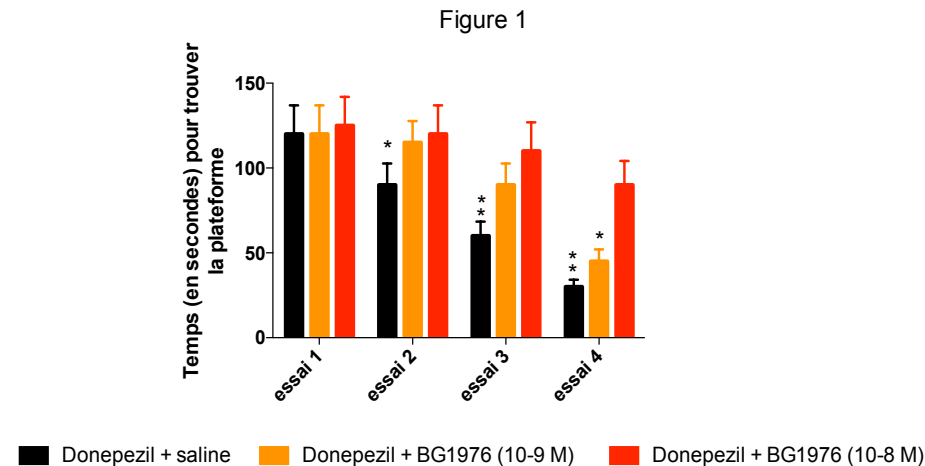


QUESTION N°1 : (5 points).

Commentez les résultats de la Figure 1.

La maladie d'Alzheimer est un trouble neurologique invalidant se traduisant par des troubles de la mémoire. Dans une première série d'expériences, les capacités mnésiques de différents lots de souris ont été étudiées en présence de Donepezil, un inhibiteur réversible de l'Acétylcholinestérase, seul ou associé au BG1976. Le test utilisé est celui de la « piscine de Morris ». Le principe réside dans la motivation de l'animal à échapper à l'aversion causée par l'eau, celui-ci devant trouver une plateforme pour s'y réfugier. Les données analysées sont le temps pour trouver la plateforme au cours des différents essais. Les résultats de cette expérience sont présentés dans la Figure 1.

Les signes « * » représentent le niveau de significativité comparé au premier essai du groupe correspondant.



QUESTION N°1 : (5 points).

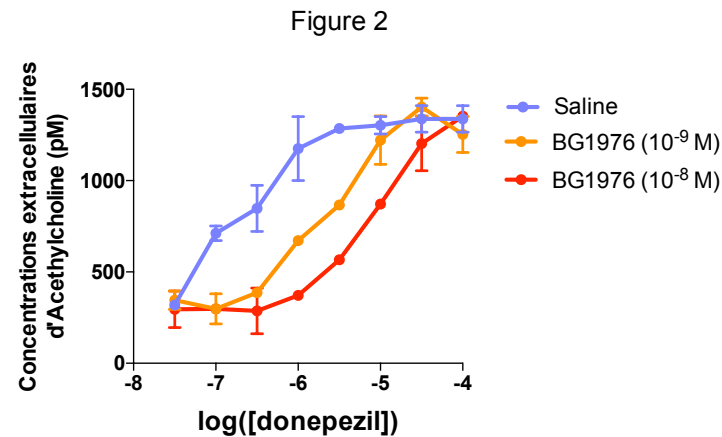
Commentez les résultats de la Figure 1

La répétition des essais permet aux souris de trouver la plateforme plus rapidement en présence de donepezil seul. Cet effet met en évidence la capacité des souris à mémoriser l'emplacement de la plateforme (3 points).

Lorsque le donepezil est associé au BG1976, notamment à la concentration de 10-8 M, l'effet de cet agent pharmacologique est atténué. Ce résultat suggère que le BG1976 s'oppose aux effets pro-mnésique du donepezil (2 points).

Différentes études soulignent le rôle bénéfique de l'acétylcholine (ACh) dans les performances mnésiques. Au contraire, un déficit d'ACh dans le cerveau serait responsable, du moins en partie, de l'apparition des certaines formes de démence.

Les résultats de la Figure 2 présentent les taux extracellulaires d'ACh dans l'hippocampe de souris dans différentes conditions expérimentales.

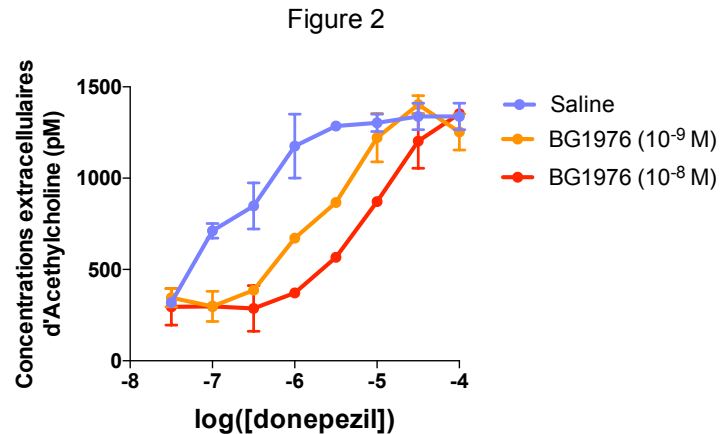


QUESTION N°2 : (10 points).

Décrivez brièvement le type d'étude réalisé dans la Figure 2 et donner les valeurs des paramètres pharmacologiques pouvant être extraits de cette représentation.

Différentes études soulignent le rôle bénéfique de l'acétylcholine (Ach) dans les performances mnésiques. Au contraire, un déficit d'Ach dans le cerveau serait responsable, du moins en partie, de l'apparition des certaines formes de démence.

Les résultats de la Figure 2 présentent les taux extracellulaires d'Ach dans l'hippocampe de souris dans différentes conditions expérimentales.



QUESTION N°2 : (10 points).

Décrivez brièvement le type d'étude réalisé dans la Figure 2 et donner les valeurs des paramètres pharmacologiques pouvant être extraits de cette représentation.

Ce graphe représente l'effet de doses croissantes de donepezil sur les concentrations extracellulaires d'Acétylcholine. Il s'agit donc d'une courbe effet-dose (2 points) montrant que le donepezil augmente les taux d'acétylcholine de manière dose-dépendante (1 point).

Un décalage vers la droite de la courbe dose-réponse du donepezil est observé en présence de BG1976 (2 points).

On peut déterminer E_{max} qui est identique quel que soit le groupe expérimental = 1400 pM (2 points)

On peut alors calculer l'EC₅₀ de chaque groupe : (3 points)

EC₅₀ donépézil = $\sim 10^{-7}$ M

EC₅₀ donépézil + BG1976 (10⁻⁹ M) = $\sim 10^{-6}$ M

EC₅₀ donépézil + BG1976 (10⁻⁸ M) = $\sim 5 \cdot 10^{-5}$ M

QUESTION N°3 : (5 points).

Quelles hypothèses pouvez-vous formuler quant aux propriétés pharmacologiques du Donépézil et du BG1976 et leur intérêt respectif dans le traitement de la maladie d'Alzheimer ?

QUESTION N°3 : (5 points).

Quelles hypothèses pouvez-vous formuler quant aux propriétés pharmacologiques du Donépézil et du BG1976 et leur intérêt respectif dans le traitement de la maladie d'Alzheimer ?

Le BG1976 s'oppose aux effets du donepezil faisant perdre de la puissance à ce dernier sur sa capacité à augmenter les taux d'acetylcholine. Plusieurs hypothèses pourraient expliquer les effets du BG1976 : (3 points)

- Le BG1976 est un antagoniste/inhibiteur/bloqueur de la cible du donepezil
- Le BG1976 est un agoniste inverse de la cible du donepezil
- Le BG1976 est un modulateur allostérique de la cible du donepezil

Or il est mentionné dans l'énoncé que le donepezil cible l'Acétylcholinestérase, c'est-à-dire une enzyme.

D'où le BG pourrait avoir des effets opposés au donepezil sur l'Acétylcholinestérase (2 points)

Afin de préciser la cible et le mécanisme d'action du BG1976, de nouvelles études ont été menées. Une première a permis de mesurer le K_i du BG1976 (Tableau 1) vis-à-vis de différentes cibles du système cholinergique.

Tableau 1

Cible pharmacologique	K_i
Récepteur muscarinique : <ul style="list-style-type: none"> • M1 • M2 • M3 • M4 • M5 	1.10 ⁻⁶ M 1.7 10 ⁻⁶ M 4. 10 ⁻⁶ M 1. 10 ⁻⁶ M 1.9 10 ⁻⁶ M
Transporteur cholinergique : <ul style="list-style-type: none"> • Choline transporteur (CT) 	5.4 10 ⁻⁶ M
Enzymes cholinergiques : <ul style="list-style-type: none"> • Choline-acétyl-transférase • Butyrylcholinestérase • Acetylcholinestérase 	3.2 10 ⁻⁷ M 6.8 10 ⁻⁷ M 0.7 10 ⁻⁸ M

QUESTION N°4 : (6 points).

Définissez le terme de K_i et le type d'expérience qui permet de mesurer ce paramètre. Quelles conclusions tirez-vous de ces résultats ?

Afin de préciser la cible et le mécanisme d'action du BG1976, de nouvelles études ont été menées. Une première a permis de mesurer le K_i du BG1976 (Tableau 1) vis-à-vis de différentes cibles du système cholinergique.

Tableau 1

Cible pharmacologique	K_i
Récepteur muscarinique : <ul style="list-style-type: none"> • M1 • M2 • M3 • M4 • M5 	1.10 ⁻⁶ M 1.7 10 ⁻⁶ M 4. 10 ⁻⁶ M 1. 10 ⁻⁶ M 1.9 10 ⁻⁶ M
Transporteur cholinergique : <ul style="list-style-type: none"> • Choline transporteur (CT) 	5.4 10 ⁻⁶ M
Enzymes cholinergiques : <ul style="list-style-type: none"> • Choline-acétyl-transférase • Butyrylcholinestérase • Acetylcholinestérase 	3.2 10 ⁻⁷ M 6.8 10 ⁻⁷ M 0.7 10 ⁻⁸ M

QUESTION N°4 : (6 points).

Définissez le terme de K_i et le type d'expérience qui permet de mesurer ce paramètre. Quelles conclusions tirez-vous de ces résultats ?

Le K_i représente l'affinité d'une molécule vis-à-vis d'une cible pharmacologique. Ce paramètre peut être mesuré à l'aide d'une expérience de **compétition-déplacement** visant à saturer la cible testée avec un « ligand chaud radioactif » puis à regarder l'effet de concentrations croissantes d'un « ligand froid non-radioactif » sur l'évolution de la radioactivité. **(2 points)**

Si la radioactivité ne bouge pas : le ligand froid n'est pas un compétiteur du ligand chaud. Si la radioactivité diminue : le ligand froid se fixe sur la même cible que le ligand chaud (il s'agit d'un compétiteur) avec une affinité caractérisée par le K_i . Plus le K_i est faible plus l'affinité est bonne. **(1 point)**

Ici on s'aperçoit que le BG1976 à une affinité **très modeste** pour les différents récepteurs /transporteurs muscariniques (10⁻⁶ M). Concernant les enzymes cholinergiques, l'affinité du BG1976 est meilleure pour ces cibles (comparée aux récepteurs/transporteur) avec le K_i le plus faible pour l'Acetylcholinestérase → **le BG1976 se fixe à l'acetylcholinestérase (3 points)**

Une expérience de déplacement compétition a été également réalisée sur des cellules nerveuses isolées entre le [³H]-Donépézil en concentration saturante pour les sites actifs de l'Acétylcholinestérase et le BG1976.

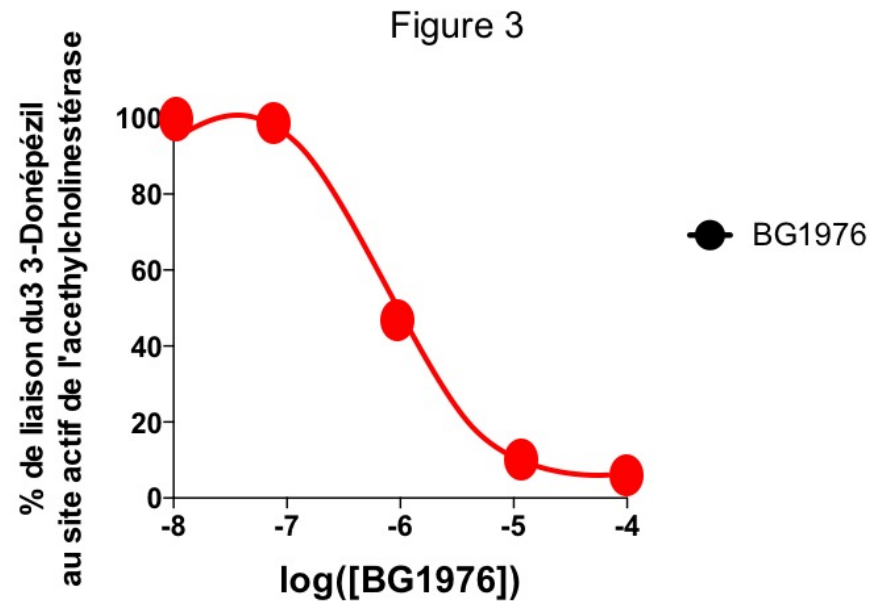
QUESTION N°5 : (3 points).

Représenter sur le Figure 3 l'allure possible de la courbe.

Une expérience de déplacement compétition a été également réalisée sur des cellules nerveuses isolées entre le [³H]-Donépézil en concentration saturante pour les sites actifs de l'Acétylcholinestérase et le BG1976.

QUESTION N°5 : (5 points).

Représenter sur le Figure 3 l'allure possible de la courbe.



A la lumière des résultats précédents, l'effet du BG1976 seul a été comparé à celui de différentes molécules de référence sur l'activité fonctionnelle de l'Acétylcholinestérase. Pour cela, une mesure des concentrations d'acétate, un métabolite de l'Ach, a été réalisée sur des neurones isolées.

Les résultats expérimentaux sont fournis dans le Tableau 2.

Tableau 2

	$1. 0^{-9}$ M	$5. 10^{-9}$ M	10^{-8} M	$5. 10^{-8}$ M	$1. 10^{-7}$ M	$5. 10^{-7}$ M	10^{-6} M
Physostigmine	100	100	82	70	50	35	0
Ambénonium	100	90	78	50	33	21	0
Donépézil	99	80	50	40	25	15	0
BG1976	102	110	119	169	190	200	230

QUESTION N°6 :

Parmi ces molécules quel est l'inhibiteur de l'Acétylcholinestérase le plus puissant ? Justifiez votre réponse.

A la lumière des résultats précédents, l'effet du BG1976 seul a été comparé à celui de différentes molécules de référence sur l'activité fonctionnelle de l'Acétylcholinestérase. Pour cela, une mesure des concentrations d'acétate, un métabolite de l'Ach, a été réalisée sur des neurones isolées.

Les résultats expérimentaux sont fournis dans le Tableau 2.

Tableau 2

	1. 0 ⁻⁹ M	5. 10 ⁻⁹ M	10 ⁻⁸ M	5. 10 ⁻⁸ M	1. 10 ⁻⁷ M	5. 10 ⁻⁷ M	10 ⁻⁶ M
Physostigmine	100	100	82	70	50	35	0
Ambénonium	100	90	78	50	33	21	0
Donépézil	99	80	50	40	25	15	0
BG1976	102	110	119	169	190	200	230

QUESTION N°6 : (8 points).

Parmi ces molécules quel est l'inhibiteur de l'Acétylcholinestérase le plus puissant ? Justifiez votre réponse.

Le tableau ci-dessus représente l'effet de doses croissantes de différentes molécules sur la production du métabolite de l'Acetylcholine, l'acétate.

1) On s'aperçoit que la physostigmine, l'ambénonium et le donépézil diminue la production du métabolite. → Ces molécules sont **donc des inhibiteurs de l'enzyme de dégradation** (3 points)

2) La puissance de ces 3 composés peut être mesurée à l'aide de leur CE50 (3 points)

-Physostigmine = 1. 10⁻⁷ M

-Ambénonium = 5. 10⁻⁸ M

-Donépézil = 1. 10⁻⁸ M

Le donepezil est l'inhibiteur de l'acétylcholinestérase le plus puissant car CE50 la plus faible

3) Le BG1976 augmente la production de métabolite. Il s'agit au contraire, d'un activateur de l'enzyme de dégradation : l'acétylcholinestérase (2 points)

QUESTION N°7 : (3 points)

Présentez sous forme de schéma le mécanisme d'action du BG1976 en plaçant sur celui-ci les termes : Acétylcholine, Acétylcholinestérase, Donépézil, BG1976, activateur, inhibiteur et mémoire.

