



HAL
open science

Porphyromonas gingivalis, porte d'entrée vers la maladie d'Alzheimer ?

Thomas Jean-François Denis

► **To cite this version:**

Thomas Jean-François Denis. Porphyromonas gingivalis, porte d'entrée vers la maladie d'Alzheimer ?. Sciences du Vivant [q-bio]. 2021. dumas-03136377

HAL Id: dumas-03136377

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03136377>

Submitted on 9 Feb 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année : 2021

Thèse n°16

THESE POUR L'OBTENTION DU
DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par DENIS Thomas Jean-François

Né le 19 mai 1995 à TALENCE

Le 18 janvier 2021 à 18h30

***PORPHYROMONAS GINGIVALIS, PORTE D'ENTREE VERS LA
MALADIE D'ALZHEIMER ?***

Sous la direction de madame Océane MARTIN

Membres du jury :

Monsieur GUILLON Jean, professeur à L'UFR de pharmacie Bordeaux

Président

Madame MARTIN Océane, professeur à l'UFR de pharmacie Bordeaux

Directrice

Madame HETTE Aurélie : Docteur en pharmacie

Rapporteur

Monsieur DESPREZ-DAVERAT Antoine : Docteur en pharmacie

Rapporteur

Remerciement

Je tiens à remercier madame Océane MARTIN pour avoir acceptée de diriger ma thèse. Merci pour vos conseils, vos remarques pertinentes ainsi que les corrections que vous avez su apporter pour que cette thèse soit la plus complète possible.

Merci à monsieur Jean GUILLON d'avoir accepté de présider mon jury. Je remercie également madame Aurélia HETTE d'avoir acceptée de faire partie de mon jury ainsi que monsieur Antoine DESPREZ-DAVERAT. Je remercie aussi madame Cécile LE BOURDONNEC qui m'a accordée de son temps pour corriger mes fautes.

Je remercie ma famille pour m'avoir soutenu durant ces nombreuses années d'études. Vous m'avez supporté dans les joies comme dans les difficultés. Je ne pense pas que j'aurai pu arriver aussi loin dans mon parcours sans vous. Je dédie notamment cette thèse à mes grands parent Marcel, Yvette et Jean qui n'auront pas eu la chance de me connaître docteur.

Merci à ma chérie Camille qui m'aura accompagné et supporté durant cette dernière année malgré les confinements et la distance.

Je remercie également mes amis d'enfance pour avoir été la pour moi depuis toutes ces années. Je pense notamment à Corentin, Hadrien, Nathan, Raphaël, Reda et les deux Elias.

C'est avec émotions que je remercie mes copains du BCS, équipe de basket de la faculté pour tous les moments que j'aurai pu vivre avec eux sur et en dehors du terrain. Merci à Adam, Alexis, Arno, Amine, Fabien, Martin, Matthieu, Moussa, Remi, Théo, Thomas, Ugo, Valentin et Younès pour tous les bons moments que j'aurai partagé avec vous.

Je souhaite également remercier l'ensemble de ma promotion. J'ai eu la chance de faire mes études avec de super étudiants que je considère comme mes amis autant que confrères et consœurs. Parmi eux j'aimerais porter une note particulière à Pierre, Eugénie, Ezilda, Maxime, Sarah, Julien, Juliette, Alice, Lucie, Ségolène, Maylis et Florian qui je l'espère se reconnaîtront. J'ai également une pensée pour les étudiants des promotions en dessous comme Jean Baptiste, Lucas, Charles ou Adrien, ainsi que pour ceux des promotions au-dessus comme Olivier.

Pour finir, je tenais à saluer une personne en particulier, qui a été là pour moi durant l'ensemble de mon cursus universitaire. Je remercie Tonio pour avoir été mon binôme durant ces 5 années d'études en pharmacie, et avec qui j'ai traversé mes aléas d'étudiants dans la joie et la bonne humeur.

Tables des matières

Introduction	12
I. LA MALADIE D'ALZHEIMER	13
I.1 Épidémiologie	13
I.1.1 Prévalence	13
I.1.2 Facteurs de risque	14
I.2 Coût sociétal.....	15
I.3 Généralité sur la maladie d'Alzheimer et le cerveau	16
I.4 Les signes cliniques de la maladie d'Alzheimer	20
I.5 Description des atteintes cérébrales	23
I.5.1 Changements microscopiques et macroscopiques	24
I.5.2 Les plaques bêta-amyloïdes et leurs conséquences	26
I.5.2.1 Mécanisme de la voie non amyloïdogénique.....	28
I.5.2.2 Mécanisme de la voie amyloïdogénique et formation de peptide $\alpha\beta$:	29
I.5.2.3 Perturbation des récepteurs glutamatergiques.....	29
I.5.2.4 Perturbation des récepteurs cholinergiques.....	31
I.5.2.5 Perturbation mitochondriale.....	32
I.5.2.6 Génération de stress oxydatif.....	34
I.5.3 La protéine Tau.....	36
I.5.4 L'apolipoprotéine E.....	38
I.5.5 Angiopathie amyloïde cérébrale	38
I.5.6 Corps d'Hirano.....	39
I.5.7 Alzheimer et neuro-inflammation.....	40
I.6 Alzheimer et thérapeutiques.....	41
II. PORPHYROMONAS GINGIVALIS	45
II.1 Classification et structure	45
II.2 Milieu de vie de <i>P. gingivalis</i> : le microbiote oral.....	46
II.3 Facteurs de virulence de la bactérie <i>P. gingivalis</i>	50
II.3 Les fimbriaes	50
II.3.2 Les lipopolysaccharides.....	52
II.3.3 Hémagglutinines et acquisition de l'hème.....	54
II.3.4 Les vésicules de la membrane externe	55
II.3.5 La capsule	56
II.3.6 Les enzymes	57

II.3.6.1 Les cystéines protéases, rôle majeur des gingipaines.....	57
II.3.6.2 La dipeptidyl peptidase-4 (PgDPP4)	60
II.3.6.3 La prolyl tripeptidyl-peptidase A (PgPTPA).....	61
II.3.6.4 La superoxyde dismutase.....	61
II.4 Internalisation cellulaire et survie.....	62
II.5 Généralité sur les mécanismes de l'immunité induite après une infection par un organisme bactérien.....	64
II.5.1 L'immunité innée.....	64
II.5.2 Influence de <i>P.gingivalis</i> sur le système immunitaire innée.....	67
II.5.2.1 Induction de la voie TLR2 et détournement du complément	67
II.5.2.2 Manipulation des neutrophiles.....	70
II.5.3 L'immunité adaptative	72
II.5.4 Influence de <i>P. gingivalis</i> sur le système immunitaire adaptatif	73
II.6 <i>P. gingivalis</i> et parodontopathies	73
II.6.1 Généralités	73
II.6.2 Lien avec <i>P. gingivalis</i>	74
III. LIEN ENTRE <i>P. GINGIVALIS</i> ET ALZHEIMER.....	77
III.1 Alzheimer, parodontite et bactéries.....	77
III.2 Conséquences d'une infection chronique à <i>P. gingivalis</i> sur le développement de la maladie d'Alzheimer	79
III.2.1 Activation microgliale et neuro-inflammation.....	79
III.2.1.1 Activation indirecte de la microglie.....	80
III.2.1.2 Activation directe de la microglie	80
III.2.2 Afflux de peptide $\alpha\beta$ périphérique.....	84
III.3 Perspectives de nouveaux traitements dans la maladie d'Alzheimer.....	86
III.3.1 Place de l'antibiothérapie dans le traitement d'Alzheimer	86
III.3.2 Les inhibiteurs de gingipaines	89
III.3.2.1 KYT-36.....	89
III.3.2.2 L'étude GAIN.....	90
Conclusion.....	92
Serment de Galien	93
Bibliographie.....	94

Index des illustrations

Illustration 1 : Coupe sagittale médiale du cerveau, mettant en avant la localisation de l'hippocampe. Ecole Normale Supérieure de Lyon.....	16
Illustration 2 : Lobes du cerveau humain. Parlonssciences.ca.....	17
Illustration 3 : Le neurone. Nicolas Rougier. Wikipédia.....	18
Illustration 4 : Les différentes cellules du cerveau. GFME.free.fr.....	19
Illustration 5 : Test d'évaluation de déficits cognitifs : Le MMSE	21
Illustration 6 : Photomicrographie du cortex temporal d'un patient Alzheimer, coloration de Bielschowski modifiée. Les plaques séniles sont montrées à l'aide d'une flèche noire et les enchevêtrements neurofibrillaires à l'aide d'une flèche rouge. Daniel.P. PERL. Neu	25
Illustration 7 : IRM cérébral pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer, les flèches montrent les hippocampes d'un patient sain à gauche vs patient Alzheimer atrophié à droite. Collège des enseignants de neurologie 2019	25
Illustration 8 : Les différents domaines du précurseur du peptide amyloïde. INSERM.....	27
Illustration 9 : Circulation de la protéine APP dans le neurone. O'Brien and Wong. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease.	27
Illustration 10 : Schéma illustrant les deux voies de clivage de la protéine APP. Mora et al. Amyloid Beta : Multiple Mechanisms of Toxicity and Only Some Protective Effects ? (15)....	28
Illustration 11 : Fonctionnement d'une synapse glutamatergique. Med Sci (Paris).....	30
Illustration 12 : Synapse cholinergique. R Bordet Le système cholinergique central.....	32
Illustration 13 : Schéma de la respiration mitochondriale. M. Simon. Chaîne respiratoire et phosphorylation oxydative (21).	33
Illustration 14 : Origine des espèces réactives à l'oxygène. Migdal et Serres Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant (24).	35
Illustration 15 : Exemple de formule décrivant la formation de ERO à l'aide du peptide $\alpha\beta$. Smith et al, The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid β peptide.....	36
Illustration 16 : Microtubules sains en haut vs microtubules atteints dans la maladie d'Alzheimer en bas. news-médical.net	37
Illustration 17 : Inclusion immunohistochimique montrant les corps d'Hirano dans l'hippocampe de patient Alzheimer. Encyclopedia of the human brain, Hirano Body 2002..	39
Illustration 18 : Culture de <i>P. gingivalis</i> sur gélose au sang. Université de Rennes 1.....	45
Illustration 19 : Biofilm dentaire sur les dents, Arweiler and Netuschil. The oral microbiota.	47

Illustration 20 : Structure de la paroi des bactéries Gram positives et Gram négatives. Université de Bordeaux.....	48
Illustration 21 : Les complexes bactériens parodontaux de Socransky, HAIN Livescience.....	49
Illustration 22 : Micrographies de <i>P. gingivalis</i> après coloration au molybdate d'ammonium et observé sous un microscope électronique à transmission. Les fimbriaes longs et courts sont observables en périphérie. Hasegawa et Muraka Role of <i>Porphyromonas gingivalis</i>	52
Illustration 23 : Structure d'un lipopolysaccharide. Macrophi.co.....	53
Illustration 24 : Structure de l'hémine	54
Illustration 25 : Vésicules de <i>Porphyromonas gingivalis</i> observées en microscopie électronique à transmission après coloration négative à différents grossissements. On y observe les vésicules purifiées avec une membrane unique entourant les structures sphériques. XIE H.	56
Illustration 26 : Cibles des gingipaïnes dans le système kinine-kallikréine et dans la coagulation sanguine. Takahisa Imamura Activation of blood coagulation factor IX by gingipains R, arginine-specific cysteine proteinases from <i>Porphyromonas gingivalis</i> (64)	59
Illustration 27 : Muqueuse épithéliale d'un patient sain (a) vs Invasion et endocytose de la bactérie <i>P. gingivalis</i> (b). Andrian et al. Epithelial Cell Interactions in Periodontitis <i>Porphyromonas gingivalis</i>	63
Illustration 28 : Voies de signalisation activées par les récepteurs TLR. Sabine Groeger et al. <i>Porphyromonas gingivalis</i> activates NFκB and MAPK pathways in human oral epithelial cells (73)	65
Illustration 29 : Le système du complément. M Daugnan et al. Le système du complément : Une épée à double tranchant dans la progression tumorale.	67
Illustration 30 : Utilisation de TLR2 et de la voie du complément par <i>P. gingivalis</i> . George Hajishengallis. Immune Evasion Strategies of <i>Porphyromonas gingivalis</i> (74).....	69
Illustration 31 : Stratégies de manipulation des neutrophiles par <i>P. gingivalis</i> . Maja Sochalska et al. Manipulation of Neutrophils by <i>Porphyromonas gingivalis</i> in the Development of Periodontitis (76).....	71
Illustration 32 : Parodontite agressive marquée par des migrations dentaires et une perte osseuse très prononcée. Revue du praticien.....	74
Illustration 33 : La résorption osseuse. P. Marie et al. OPG/RANKL : Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose (81)	75
Illustration 34 : Contrôle du remodelage osseux par le système RANKL/OPG. P. Marie et al. OPG/RANKL : Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose (82).....	76

Illustration 35 : Schéma de la transduction des signaux inflammatoires dans le système nerveux central provoqués par <i>P. gingivalis</i> . Wu Z et al. Connection Between Periodontitis and Alzheimer's Disease : Possible Roles of Microglia and Leptomeningeal Cells (91).....	79
Illustration 36 : Organes circumventriculaires. On observe l'organe subfornical (SFO), la neurohypophyse (NH), l'organe vasculaire de la lame terminale (OVLT), l'area postrema (AP), l'organe subcommissural (SCO) et la glande pinéale (PI). William F Ganong. Circumvent	81
Illustration 37 : Activation microgliales par les gingipaines. Lyu et al. Infection of microglia with Porphyromonas gingivalis promotes cell migration and an inflammatory response (93)	83
Illustration 38 : Mécanisme de transport du peptide $\alpha\beta$ au sein de la BHE. Fabien Gosselet et Al. La barrière hémato-encéphalique : Une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer ? (96)	85
Illustration 39 : Mécanismes d'action de la ceftriaxone dans l'amélioration d'Alzheimer. Tai et al. A new avenue for treating neuronal diseases : Ceftriaxone, an old antibiotic demonstrating behavioral neuronal effects (100).....	88
Illustration 40 : Schéma structurel de la molécule KYT-36. Guevara et al. Structural determinants of inhibition of Porphyromonas gingivalis gingipain K by KYT-36, a potent, selective, and bioavailable peptidase inhibitor (103)	90

Index des tableaux

Tableau 1 : Évaluation du taux de démences dans la population française en 2018. Alzheimer Europe	13
Tableau 2 : Présentation des sept stades de la maladie d'Alzheimer. Alzheimer's Association.	20
Tableau 3 : Spectre usuel des antibiotiques sur les bactéries rencontrées en infectiologie odontologique et stomatologique en 2005. ANSM	86

Lexique des abréviations

AAC : angiopathie amyloïde cérébrale

ADN : acide désoxyribonucléique

AICD : APP intracellular domain

AMPA : α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate

AMPC : adénosine monophosphate cyclique

AP-1 : activator protein 1

ApoE : apolipoprotéine E

APP : amyloïd precursor protein

ATP : adénosine triphosphate

AVC : accident vasculaire cérébral

BACE : β -site APP cleaving enzyme

BCL-2 : b-cell lymphoma 2

BDNF : brain-derived neurotrophic factor

BHE : barrière hémato-encéphalique

CD : cluster de différenciation

CMH : complexe majeur d'histocompatibilité

CR3 : récepteur du complément 3

CTF- α : fragment c-terminal α

DAMPs : damage associated molecular patterns

eATP : ATP extracellulaire

EHPAD : établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

ERK : extracellular signal-regulated kinases

ERO : espèce réactive à l'oxygène

HCNP : peptide cholinergique neurostimulant de l'hippocampe

Ig : immunoglobuline

I κ B : inhibitor of κ B

iNOS : oxyde nitrique synthase

JNK : kinase c-Jun N-terminal

IRM : imagerie par résonance magnétique
LB : lymphocyte B
LCR : liquide céphalo-rachidien
LPS : lipopolysaccharides
LT : lymphocyte T
LTh : lymphocyte T helper
MAPK : mitogen-activated protein kinases
MMSE : mini mentale state examination
NADH : nicotinamide adénine dinucléotide
NADPH : nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
Ndk : nucléoside diphosphate kinase
NF-kB : nuclear factor-kappa B
NK : natural killer
NMDA : n-méthyl-D-aspartate
OPG : ostéoprotégérine
PAMPS : pathogene associated molecular patterns
PAR : protease-activated receptor
PdDPP4 : protéine dipeptidyl peptidase-4
Peptide $\alpha\beta$: peptide β -amyloïde
PgPTPA : prolyl tripeptidyl-peptidase A
PRR : pattern recognition receptors
RANK : receptor activator of nuclear factor kappa-B
RANKL : receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
SAPP : soluble amyloïd precursor protein
SNC : système nerveux central
SOCS : suppressor of cytokine signaling protein
TEP : tomographie par émissions de position
TLR : toll like receptor
TNF- α : tumor necrosis factor α

Introduction

Face au vieillissement de la population, la maladie d'Alzheimer fait figure de problématique majeure du XXI siècle. Elle est la première cause de démences, touchant plus d'1,2 millions de personnes en France et environ 60 millions dans le monde.

Les principales spécificités de cette maladie sont l'apparition de plaques amyloïdes, l'hyper-phosphorylation de la protéines Tau, la neuro-inflammation et l'accroissement du stress oxydatif. Ces phénomènes participent à la dysfonction ou à la mort des cellules du système nerveux central, responsables à long terme des signes cliniques observés. Jusqu'à aujourd'hui, les traitements de la maladie d'Alzheimer se sont montrés relativement peu efficaces et sans réel avantage sur la cognition du patient. L'amélioration symptomatique a longtemps été privilégiée, cependant sans conséquence sur l'évolution de la maladie.

Cette thèse a pour vocation d'étudier une possible étiologie bactérienne en lien avec une infection buccale dans le développement de la maladie en se focalisant notamment sur une bactérie particulière, *Porphyromonas gingivalis*. Dans un premier temps, nous analyserons la maladie d'Alzheimer et notamment ses atteintes cérébrales. Ensuite, nous nous pencherons sur une des bactéries majeures des infections parodontales, la bactérie *Porphyromonas gingivalis*. Pour finir, nous discuterons des liens qui unissent la bactérie au développement d'Alzheimer et les solutions qui peuvent être envisagées pour y remédier.

I LA MALADIE D'ALZHEIMER

I.1 Épidémiologie

I.1.1 Prévalence

La médecine moderne a permis, au cours des 30 dernières années notamment, un allongement important de l'espérance de vie. Il est estimé qu'en 2050 la France métropolitaine attendra la barre des 68 voire des 70 millions d'habitants. Dans cette optique, on prédit à plus d'un tiers la population âgée de plus de 60 ans, contre un sur cinq au début des années 2000.

France 2018						
Age ranges	Total population	Men	Men with dementia	Women	Women with dementia	Total number of people with dementia
30-59	25 842 677	12 663 026	20 261	13 179 651	11 862	32 123
60-64	4 071 654	1 942 389	3 885	2 129 265	19 163	23 048
65-69	3 955 130	1 869 316	20 687	2 085 814	31 295	51 982
70-74	3 043 023	1 409 982	43 676	1 633 041	55 568	99 244
75-79	2 148 540	949 714	66 262	1 198 826	107 017	173 279
80-84	1 862 822	749 196	79 920	1 113 626	145 355	225 275
85-89	1 328 037	461 824	75 244	866 213	215 259	290 503
90+	814 214	216 618	64 325	597 596	267 779	332 104
Population 30-90+	43 066 097	20 262 065	374 260	22 804 032	853 298	1 227 558
Total population	66 926 166	% of total population 1.83				

Tableau 1 : Évaluation du taux de démences dans la population française en 2018. Alzheimer Europe

Cependant, cet allongement s'accompagne directement d'une forte hausse des maladies liées à l'âge, avec notamment la maladie d'Alzheimer présente dans 60 à 70 % des cas rapportés de démences d'après le rapport d'Alzheimer's Disease International publié en 2015 (1). Dans le monde, on évalue entre 50 et 60 millions le nombre de personnes potentiellement atteintes de démences avec une augmentation de 10 millions de nouveaux cas par an. La société Alzheimer Europe fait part de statistiques alarmantes, avec près de 8,8 millions de personnes atteintes de démences en Europe dont 1,2 millions en France en 2018 (Tableau 1). Cette maladie touche majoritairement les personnes à revenus faibles ou intermédiaires. En termes de prédiction, on estime que le nombre total

de personnes atteintes de démence dans le monde pourrait atteindre les 82 millions en 2030 et approcher les 152 millions d'ici 2050 (2).

I.1.2 Facteurs de risque

La maladie d'Alzheimer est une pathologie multifactorielle. De nombreux facteurs de risques sont impliqués dans son développement, montrant des inégalités entre les individus et les classes sociales.

Le facteur de risque principal n'est autre que l'âge. En Europe on estime à 1 % le nombre de personnes atteintes de démences parmi les 65-69 ans et jusqu'à 22 % chez les personnes âgées de 85 à 89 ans. Ce pourcentage peut monter à 40 % pour les plus de 90 ans. Bien que l'incidence chez les hommes et les femmes soit presque similaire jusqu'à 80 ans, la maladie affecte plus de femmes que d'hommes à partir de 80 ans. Les femmes sont également susceptibles d'être sujettes à l'apparition de cette pathologie plus tôt que les hommes (60 ans pour la femme, 65 ans pour l'homme) (2).

On considère que 1 ou 2 % des cas de maladies d'Alzheimer ont pour origine une forme héréditaire ou génétique. Cette forme particulière touche généralement les patients avant l'âge de 65 ans. Ces phénomènes sont dus à une transmission autosomique dominante. Les mutations de 3 gènes sont en cause, provoquant une surproduction de peptide β -amyloïde ($\alpha\beta$). Ces gènes sont les gènes codant pour les protéines préséniline 1 et 2 et pour la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) (3).

D'autres facteurs sociaux tels que l'isolement social, un niveau culturel bas, des tendances dépressives ou l'absence d'activités cognitives influencent également le développement de la maladie. Certaines pathologies cardiovasculaires (hypertension, diabète, accident vasculaire cérébral, surpoids, obésité) ainsi que la consommation de tabac ou un alcoolisme chronique sont des facteurs aggravants. Environ un tiers des cas de maladie d'Alzheimer dans le monde sont attribués à des facteurs de risque potentiellement modifiables (4).

1.2 Coût sociétal

La maladie d'Alzheimer est une des principales sources de handicaps dans le monde pour les personnes âgées.

D'un point de vue budgétaire, le coût sociétal représente environ 1,1 % du Produit Intérieur Brut mondial. En 2015, le coût mondial était estimé à 818 milliards de dollars et devrait monter à 2 billions en 2030. Cette somme risque de mettre à mal le développement social et économique de la plupart des états. D'après un rapport de la Fondation Médéric Alzheimer publié en 2015, le coût de l'aide en France pour la maladie d'Alzheimer est estimé à 14 milliards d'euros par an (5). Cependant, le budget de l'État français établit pour les 3 pathologies neurodégénératives principales que sont la maladie d'Alzheimer, Parkinson et la Sclérose en plaque est de 470 millions d'euros sur 5 ans (6).

De ce fait, cette maladie a été définie comme l'une des priorités de santé mondiale par l'Organisation Mondiale de la Santé et figure au cœur d'un projet de plan mondial d'action contre la démence pour les années 2017 à 2025 (7). En étant d'une part sous diagnostiquée, la démence est également détectée de manière trop tardive tandis que les soins au long cours sont couramment absents. Le projet de ce plan d'action mondial est de contribuer à l'amélioration de la qualité de la vie des personnes atteintes de démence mais également celle des aidants et de leur famille, tout en limitant l'impact du développement de la maladie.

Au niveau national, la prise en charge de la maladie d'Alzheimer figure dans le plan maladie neuro-dégénérative de 2014 (8). Ce plan mis en place par le gouvernement français s'inscrit dans une politique de stratégie nationale de santé. Il a permis d'ériger en priorité nationale l'amélioration de la qualité de vie et la réponse aux attentes des personnes atteintes de maladies neuro-dégénératives, dont la maladie d'Alzheimer figure au premier plan. Ces pathologies sont fortement handicapantes et n'ont pas de traitements curatifs à disposition. Ce plan se structure autour de 4 grands axes :

- Assister les patients tout au long de leur vie.
- Contribuer à l'acceptation de la société aux enjeux que ces maladies représentent et limiter les conséquences sur la vie au quotidien.

- Favoriser et harmoniser la recherche sur les maladies neuro-dégénératives.
- Faire de ce plan un outil d'innovation pour la santé et les politiques publiques.

Il est important de souligner qu'à l'ensemble de ces investissements doivent s'ajouter les coûts financés par les patients ou par leur famille, notamment pour ceux résidant en EHPAD qui représenteraient plus de 1700 euros par mois. C'est également un poids, car les patients sont totalement dépendants.

I.3 Généralité sur la maladie d'Alzheimer et le cerveau

On décrit généralement la maladie d'Alzheimer comme une affection dite démentielle associée à une diminution du volume cérébral dont la cause est la perte neuronale.

Les capacités intellectuelles sont fortement impactées dans le développement de cette affection. On parle de « syndrome démentiel », incluant la détérioration de plusieurs fonctions cognitives avec des conséquences particulièrement invalidantes pour les patients touchés dont l'évolution est progressive et définitive. Il est courant d'observer une baisse de l'autonomie ainsi que le développement de troubles du comportement. Le diagnostic se fait au travers d'un interrogatoire auprès de l'entourage du patient pour évaluer un déclin des activités du quotidien associé à la réalisation d'un examen neuropsychologique (9).

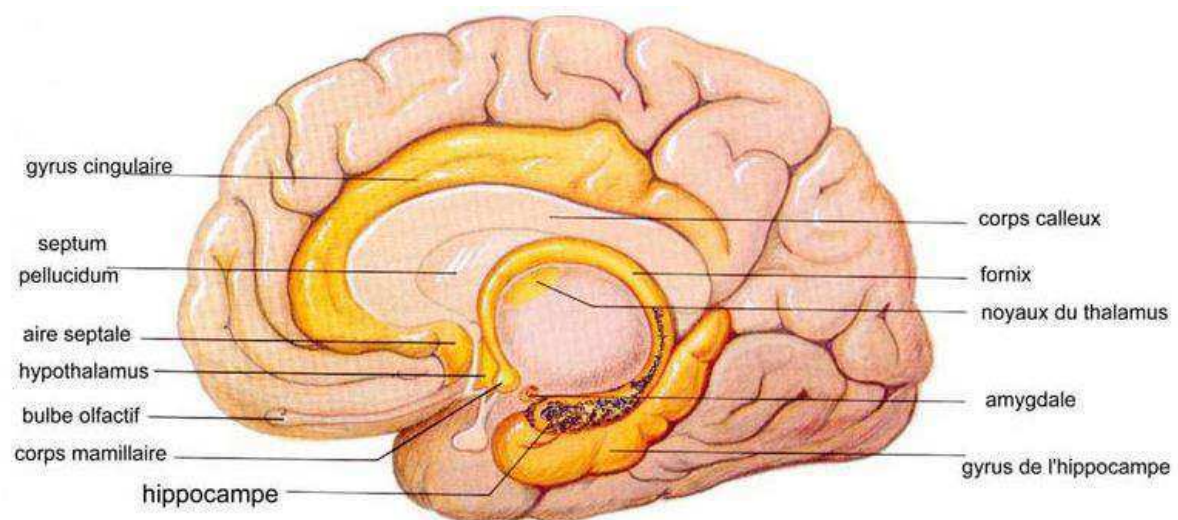


Illustration 1 : Coupe sagittale médiale du cerveau, mettant en avant la localisation de l'hippocampe. Ecole Normale Supérieure de Lyon.

L'un des éléments caractéristiques de la maladie d'Alzheimer est l'apparition d'une amnésie, touchant en premier lieu les événements récents. Cette amnésie est le résultat d'une atteinte de l'hippocampe, zone du cerveau essentielle à la mémorisation (Illustration 1). On y observe une importante atrophie qui s'accroît avec les années. La partie temporo-pariétale du cerveau est particulièrement atteinte dans le développement de cette maladie, sachant que chaque partie du cerveau possède un rôle qui lui est propre (Illustration 2). Pour la zone pariétale on retrouve la coordination et la maîtrise du corps dans l'espace ainsi que le contrôle dans la réalisation des gestes, tandis que la partie temporelle est plus spécifiquement associée à la mémoire et au processus du langage. De cette atteinte découle un autre syndrome, dit « aphaso-apraxo-agnosique », qui est lui aussi présent et qui apporte son lot de complication sur le quotidien des patients. On décrit comme aphasie une perturbation du langage et plus spécifiquement une difficulté à trouver ses mots. L'apraxie relève d'une complexité dans la réalisation d'actions volontaires. Enfin la reconnaissance visuelle et auditive sont les éléments touchés lorsqu'on évoque une agnosie (9).

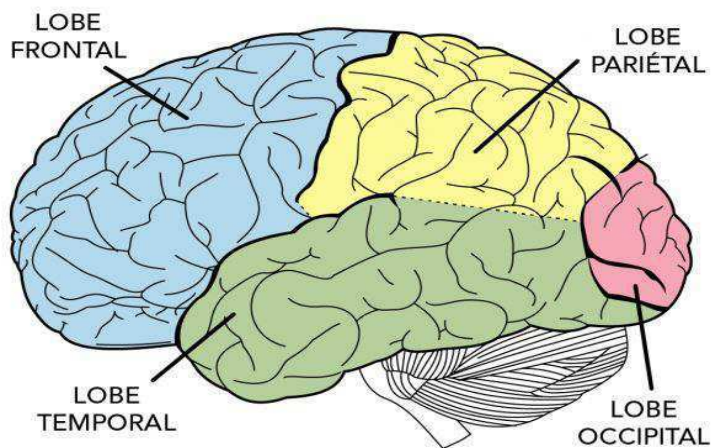


Illustration 2 : Lobes du cerveau humain. Parlonssciences.ca

La cellule primordiale au bon fonctionnement du système nerveux est le neurone (Illustration 3). Un neurone est une cellule excitable composée de différents éléments dont un corps cellulaire, d'abondantes ramifications nommées dendrites ainsi que d'un axone ayant la forme d'une tige allongée. Cette cellule est connue pour engendrer un

signal bioélectrique, appelé influx nerveux, le long de son axone qui a la particularité d'être recouvert d'une gaine de myéline. On observe au niveau de cette gaine des amaigrissements nommés nœuds de Ranvier qui sont des amaigrissements facilitant la conduction du signal en augmentant sa vitesse. Le rôle de cet influx nerveux est de permettre la libération de neurotransmetteurs à l'extrémité de son axone dans la fente synaptique séparant deux neurones afin de permettre la communication et la propagation des signaux entre les cellules neuronales. Le développement de la maladie d'Alzheimer est en grande partie due à la dégénérescence de ces neurones.

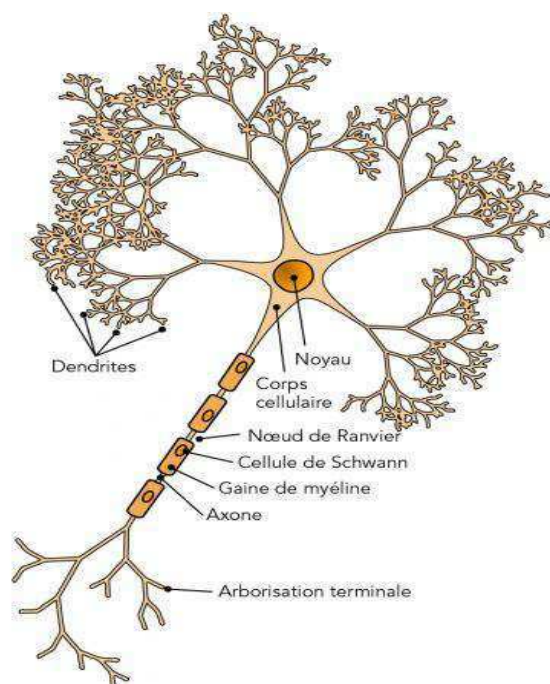


Illustration 3 : Le neurone. Nicolas Rougier. Wikipédia

Il existe 4 autres types de cellules composant le cerveau, généralement regroupées sous le nom de cellules gliales (Illustration 4) : les cellules microgliales ou microglies, les astrocytes, les oligodendrocytes et les cellules de Schwann.

La formation de la gaine de myéline est assurée par les oligodendrocytes au sein du système nerveux central, et de se fait la gestion de la conduction de l'influx nerveux. Les astrocytes ont plusieurs rôles, notamment dans la régulation de l'influx sanguin, le contrôle de l'apport de nutriments, la participation à la neurotransmission, le maintien de

la barrière hémato-encéphalique et la détoxification du milieu extracellulaire. La myélinisation du système nerveux périphérique est régit par les cellules de Schwann. Enfin, les microglies assurent la fonction de macrophages dans le système nerveux central. Ces dernières sont des petites cellules ayant une forte capacité de déplacement et dont la forme d'étoile est caractéristique. Elles ont également la capacité de sécréter des cytokines, protéines jouant le rôle de signaux permettant à certaines cellules d'agir à distance sur d'autres cellules, et notamment des cytokines pro-inflammatoires. Les astrocytes et les neurones ont également la capacité de lutter contre les infections. De manière générale, le développement des processus neurodégénératifs peut également être associé à l'affection de ces cellules gliales. Pour exemple, des preuves scientifiques ont mis en évidence que les premiers paliers du développement de la neurodégénérescence sont associés à une diminution des cellules astrocytaires. La connectivité synaptique s'en retrouve impactée, entraînant des déséquilibres avec en premier lieu une atteinte des neurotransmetteurs pouvant contribuer à la mort neuronale (10).

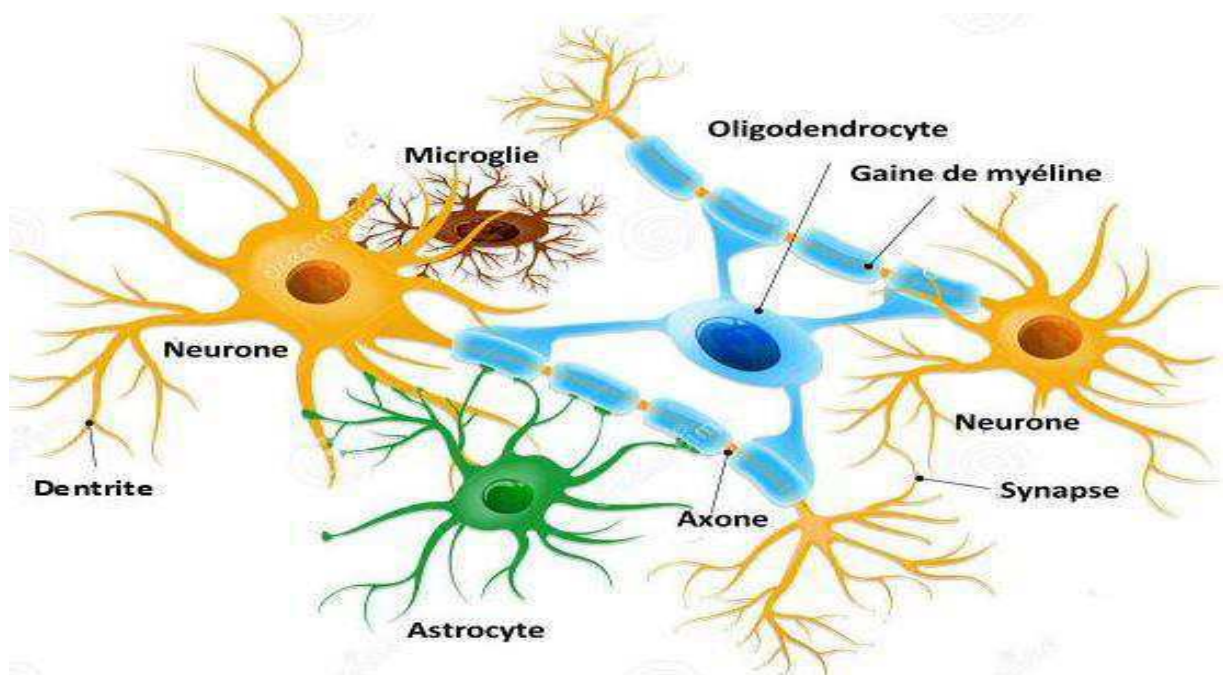


Illustration 4 : Les différentes cellules du cerveau. GFME.free.fr

La séparation du système nerveux central avec la circulation sanguine est primordiale pour l'harmonie du cerveau. Cette séparation repose sur le fonctionnement d'une barrière appelée barrière hémato-encéphalique (BHE). Elle assure la protection du cerveau contre

les différentes toxines présentent dans le sang mais également contre l'entrée d'éventuels agents pathogènes tout en permettant le transport de composants nutritifs essentiels. Elle est constituée de cellules endothéliales qui jointent entre elles par des jonctions serrées. Toutefois, la barrière n'est pas imperméable à certains éléments déclenchant la maladie d'Alzheimer, notamment au peptide $\alpha\beta$ en grande partie responsable du développement de la maladie et qui sera évoqué plus en détails lorsque nous aborderons les atteintes neurologiques d'Alzheimer. Le système nerveux central est également enveloppé par 3 membranes appelées méninges. La pie mère et l'arachnoïde forment les leptoméninges tandis que la 3ème membrane est appelée dure mère.

I.4 Les signes cliniques de la maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer entraîne des dérèglements sur le plan cognitif mais engendre également des troubles au niveau social et comportemental. Cette maladie évolue en 7 stades, allant de l'absence de déficiences à la présence de déficits cognitifs très sévères. Ces stades ont été décrit par l'Alzheimer's association (Tableau 2).

Stade 1	Absence de Symptômes.
Stade 2	Apparition des premiers signes d'un déficit cognitif très léger, pouvant être également liés à l'âge. Cela peut se traduire par des oublis de mots ou des trous de mémoire mais ils ne sont pas associés à de la démence.
Stade 3	Présence d'un déficit cognitif léger, qui peut être décelable pour diagnostiquer la maladie à un stade précoce symbolisé par des troubles de la mémoire ou de la concentration. Ce déficit se traduit par une difficulté à trouver ses mots, se souvenir d'événements récents ou pour effectuer des tâches du quotidien.
Stade 4	Présence d'un déficit cognitif modéré. A ce stade les signes sont évidents et détectables facilement par le corps médical. L'oubli de son passé s'associe à celui d'événements récents, les capacités cognitives telles que la réalisation de calculs sont affectées et on peut commencer à observer des sauts d'humeur.
Stade 5	Déficit cognitif modérément sévère. Les signes cliniques s'intensifient et le patient commence à avoir besoin d'aide pour sa gestion des activités du quotidien.
Stade 6	Déficit cognitif sévère. L'aggravation des troubles de la mémoire s'accroît, laissant place à des changements importants du comportement et à des besoins conséquents en matière d'aides au quotidien.
Stade 7	Stade terminal. Le patient ne peut plus avoir de conversation et ne contrôle plus ses gestes rendant impossible l'interaction avec son entourage. Les aides deviennent primordiales, y compris pour manger ou se rendre aux toilettes.

Tableau 2 : Présentation des sept stades de la maladie d'Alzheimer. Alzheimer's Association.

L'évaluation d'un déclin cognitif se fait avant tout sur le plan clinique. Toutefois l'impression clinique du médecin peut être renforcée par l'utilisation de divers tests de repérage. Il existe une grande variété de test, souvent protégé par copyright (11). Les tests existants sont le Mini Mentale State Examination MMSE (Illustration 5), le General Practitioner-Cognition GP-Cog, le Montreal Cognition Assessment, le 6-Item Impairment test, le Memory Impairment Screening, les 5 mots de Dubois et les tests codex.

MINI MENTAL STATE EXAMINATION (M.M.S.E)		Etiquette du patient	
Date :			
Évalué(e) par :			
Niveau socio-culturel :			
ORIENTATION			
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 ?	[]	4. Quel jour du mois ?	[]
2. en quelle saison ?	[]	5. Quel jour de la semaine ?	[]
3. en quel mois ?	[]		
* Je vais vous poser maintenant quelques questions sur l'endroit où nous 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 situé ce département ?	[]		
10. A quel étage sommes-nous ici ?	[]		
APPRENTISSAGE			
Je vais vous dire 3 mots ; je voudrais que vous me les répétiez et que vous essayiez de les retenir car je vous les demanderai tout à l'heure.			
11. Cigare	[citron	ou	[fauteuil
12. fleur	[clé	ou	[tulipe
13. porte	[ballon	ou	[canard
Répéter les 3 mots.			
ATTENTION ET CALCUL			
* 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 » : E D N O M.			
RAPPEL			
* Pouvez-vous me dire quels étaient les 3 mots que je vous ai demandé de répéter et de retenir tout à l'heure ?			
19. Cigare	[citron	ou	[fauteuil
20. fleur	[clé	ou	[tulipe
21. porte	[ballon	ou	[canard
LANGAGE			
22. quel est le nom de cet objet?	Montrer un crayon.	[]	
23. Quel est le nom de cet objet	Montrer une montre	[]	
24. Écoutez bien et répétez après moi : « PAS DE MAIS, DE SI, NI DE ET »		[]	
* Poser une feuille de papier sur le bureau, le montrer au sujet en lui disant : « écoutez bien et faites ce que je vais vous dire » (consignes à formuler en une seule fois) :			
25. prenez cette feuille de papier avec la 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 caractères : « FERMEZ LES YEUX » et dire au sujet :			
28. « faites ce qui est écrit ».		[]	

Illustration 5 : Test d'évaluation de déficits cognitifs : Le MMSE

Il existe 10 signes qu'il convient de détecter rapidement chez un patient atteint afin d'établir un diagnostic précoce de la maladie (12).

Perte de mémoire ou amnésie :

Cette perte est la plus perturbante pour la vie au quotidien et est l'un des signes les plus courants. Elle se traduit par l'oubli d'informations récentes, d'événements, de dates et s'illustre par la répétition des demandes pour les mêmes renseignements. Cette perte de mémoire est liée à la dégradation de l'hippocampe qui gère en partie la mémoire à court et long terme.

Difficulté à planifier et à résoudre des problèmes :

Cette anomalie se traduit par différents accroc lors de la réalisation de tâches du quotidien comme la gestion des factures par exemple. Cela peut se manifester par des difficultés pour la concentration, un temps de réalisation plus long ou des erreurs occasionnelles.

Difficulté à réaliser des tâches familières ou apraxie :

Ces difficultés se ressentent pour des actes qui semblaient banales auparavant mais qui nécessitent de l'aide désormais pour le patient. Certaines gestuelles telles que la conduite de véhicule peuvent être impactées, mais également le fait d'utiliser ses clés ou la gestion de la prise de médicaments.

Confusion entre l'espace et le temps :

L'orientation dans l'espace et le temps peut parfois être altérée chez un patient Alzheimer. Les notions de temps qui passe, de dates ou de saison peuvent s'effacer. Le patient peut également exprimer une complexité pour reconnaître le lieu où il se trouve et comment il y est arrivé, notamment lors de changement de résidence comme lors d'un transfert en établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD). Cette difficulté d'orientation est mise en évidence lors de la réalisation de test diagnostique MMSE.

Difficulté à comprendre les images et les représentations spatiales ou agnosie :

Les patients Alzheimer ont des difficultés à lire, écrire, évaluer les distances et les contrastes. Ces symptômes peuvent être accentués par des atteintes oculaires telles que la cataracte ou le glaucome. Le patient peut également ne plus reconnaître le visage de sa famille et des personnes proches.

Expression orale ou aphasie :

Lorsqu'un patient a des difficultés à s'exprimer il aura tendance à s'effacer des conversations et à se replier sur lui-même. Il peut avoir des difficultés à trouver ses mots, s'arrêter au milieu d'une phrase ou se tromper dans le nom de différents objets.

Perte d'objets et difficultés à retracer son parcours :

Le patient peut exprimer des difficultés pour se souvenir du lieu où il a posé des objets, ce qui peut s'avérer problématique lorsque cela concerne ses clés ou son téléphone portable. Il sera également dans l'incapacité de se remémorer le parcours qu'il a fait avant de les égarer.

Perte de jugement :

La perte de jugement peut se traduire par le fait de ne pas prendre en considération la gravité d'une maladie, porter des vêtements chauds en été, accorder moins d'importance à son hygiène ou se montrer trop généreux à l'égard d'inconnu.

Isolement social :

Les personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer peuvent arrêter leurs activités de loisirs, sociales ou sportives. Ce retrait se fait par honte ou par oubli, notamment si le loisir nécessite certaines règles comme pour les jeux de cartes.

Changement de personnalité, d'humeur et de comportement :

Ces changements peuvent s'accompagner d'agressivité et de délires. Les patients peuvent avoir tendance à devenir craintifs, soupçonneux, déprimés ou anxieux. Ce changement de personnalité est d'autant plus marqué lorsque le patient perd ses repères, notamment lors d'un changement de domicile.

I.5 Description des atteintes cérébrales

Les altérations touchant le cerveau d'un patient atteint de la maladie d'Alzheimer ne sont pas toujours diagnosticables lors de la réalisation d'une autopsie. Cependant, Alzheimer provoque chez les patients atteints une forte modification du cerveau, autant sur le plan macroscopique que microscopique. Dans un premier temps on observe la diminution des neurones pyramidaux, neurones à l'aspect particulier riches en dendrites présents principalement au niveau de l'hippocampe et du néocortex. Une baisse du volume du cerveau apparaît également. D'un point de vue histologique, les atteintes sont visualisables par imagerie par résonance magnétique (IRM) ou tomographie par émission de positon (TEP). Cela offre la possibilité de différencier la maladie d'Alzheimer d'autres

causes de démences. De manière générale, on observe une importante atrophie de l'encéphale chez les patients.

I.5.1 Changements microscopiques et macroscopiques

C'est lors d'un examen histologique de l'échantillon cérébral après autopsie post-mortem que l'identification d'une série d'anomalies morphologiques permettant d'établir un diagnostic définitif de la maladie d'Alzheimer peut éventuellement être fait. Cependant la réalisation d'un prélèvement de liquide céphalo-rachidien (LCR) au travers d'une ponction lombaire permet de détecter divers éléments caractéristiques de la maladie, notamment la présence de protéines Tau hyper-phosphorylées et de peptide $\alpha\beta$.

Les deux mécanismes prépondérants dans la maladie d'Alzheimer sont (Illustration 6) :

- La formation de plaques bêta-amyloïdes séniles due à l'accroissement et à l'agrégation de peptides $\alpha\beta$, dont les mécanismes de formations et de toxicités seront expliqués ultérieurement, en feuillet β antiparallèles insolubles. Au niveau microscopique, les plaques séniles ont une forme de sphères de 5 à 100 micromètres de diamètre. Ces sphères sont constituées d'amas de filaments rectilignes d'une longueur variant entre 6 à 9 nanomètres et occupant le domaine extracellulaire du tissu nerveux central.
- La présence d'enchevêtrements neurofibrillaires. Ces enchevêtrements sont la conséquence d'une hyperphosphorylation d'une protéine associée aux microtubules du cytosquelette cellulaire, appelée protéine Tau. A l'état physiologique cette protéine maintient la structure des microtubules qui sont des éléments essentiels pour la division cellulaire ou encore la morphologie cellulaire et qui composent l'axone du neurone. Cependant, dans la maladie d'Alzheimer la protéine Tau, hyperphosphorylée, perd cette capacité de fixation. Les protéines Tau ont même tendance à s'agglomérer entre elles, formant des fibres nerveuses connues sous le nom de neurofibrilles. Ce sont des fibrilles singulières faites de filaments appariés en hélice mesurant 10 nm avec un pas d'hélice d'environ 80 nm.

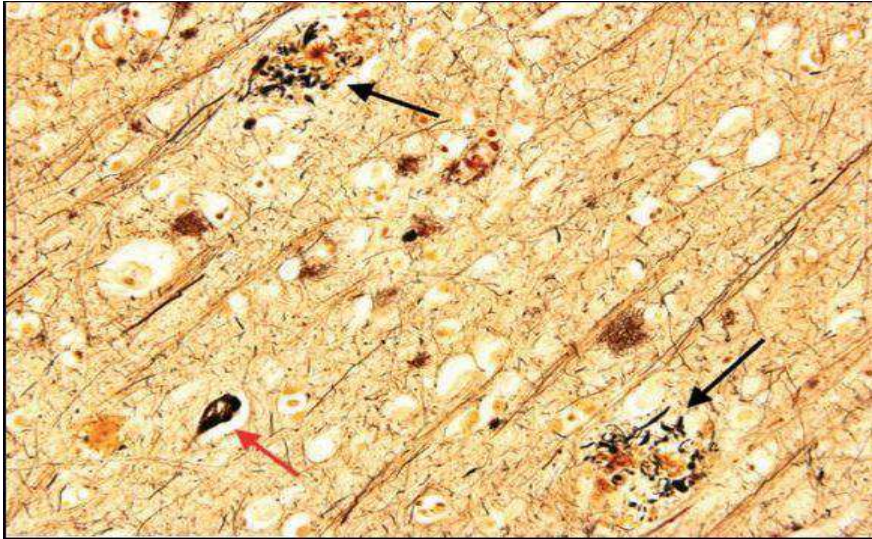


Illustration 6 : Photomicrographie du cortex temporal d'un patient Alzheimer, coloration de Bielschowski modifiée. Les plaques séniles sont montrées à l'aide d'une flèche noire et les enchevêtrements neurofibrillaires à l'aide d'une flèche rouge. Daniel.P. PERL. Neu

L'atrophie de l'hippocampe peut être visualisée par IRM (Illustration 7). Cette technique sert également à écarter les cas de lésions vasculaires, tumeurs cérébrales ou hématomas. Un grossissement des ventricules est également observé, ainsi que la présence d'une diminution de la consommation cérébrale de glucose appelée également hypométabolisme. Les plaques amyloïdes demeurent cependant particulièrement caractéristiques de cette maladie.

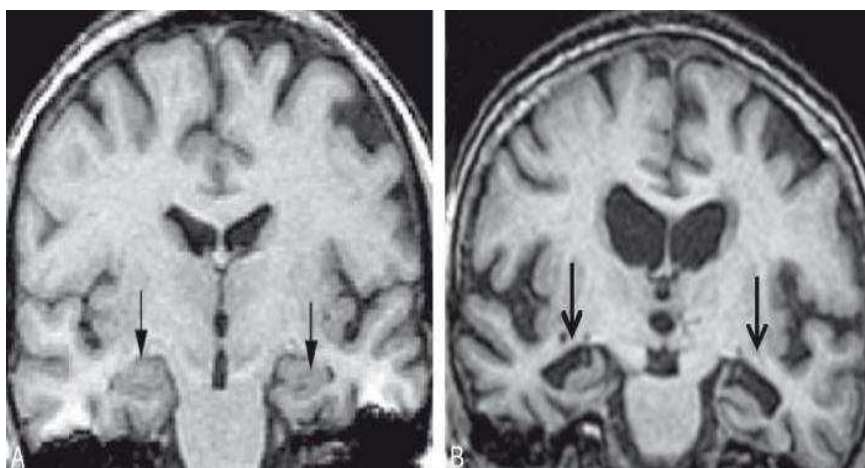


Illustration 7 : IRM cérébral pour le diagnostic de la maladie d'Alzheimer, les flèches montrent les hippocampes d'un patient sain à gauche vs patient Alzheimer atrophié à droite. Collège des enseignants de neurologie 2019

1.5.2 Les plaques bêta-amyloïdes et leurs conséquences

Le peptide $\alpha\beta$ joue un rôle important aussi bien dans l'origine que dans la progression des lésions cérébrales dans le développement de la maladie d'Alzheimer. L'hypothèse ayant menée à la découverte de cette formation amyloïde a pour la première fois été mentionnée par *Hardy et Allsop* en 1991, qui suggéraient qu'une mutation délétère dans le gène de la protéine APP, dont le gène est situé sur le chromosome 21, favorise un métabolisme différent de la protéine initiant le dépôt amyloïde (13).

Les plaques amyloïdes résultent de l'agrégat de peptides $\alpha\beta$. Le peptide $\alpha\beta$ est un peptide de 39 à 43 acides aminés classiquement retrouvé dans l'ensemble des neurones grâce au fractionnement d'une protéine de type 1 présente au niveau de la membrane appelée APP. APP est une protéine transmembranaire composée de 695 à 770 acides aminés ayant une masse moléculaire variant de 110 à 135 kilos dalton. Cette protéine possède des propriétés neuroprotectrices et joue divers rôles tels que récepteur de surface, molécule d'interaction entre les cellules ou régulatrice de la concentration de Ca^{2+} intracellulaire. Elle est également impliquée dans la formation des synapses et du cytosquelette (14).

La protéine APP est ubiquitaire et possède 8 isoformes dont 3 sont considérées comme les plus courantes. Elles sont composées de 695, 751 ou 770 acides aminés et possède plusieurs domaines (Illustration 8). Dans le système nerveux central la forme à 695 acides aminés est la plus exprimée. Le domaine extracellulaire N-terminal de APP contient une région riche en cystéines, un domaine anionique et des sites de glycosylation. APP fixe divers métaux comme le cuivre, le zinc mais peut également fixer l'héparine ainsi que le collagène. Cette protéine est composée de régions inhibitrices de protéases à sérine et de métalloprotéases. Elle possède enfin une activité nécessaire à la nutrition dite trophique mais produit aussi le peptide $\alpha\beta$ dont la séquence est en partie extracellulaire et en partie transmembranaire.

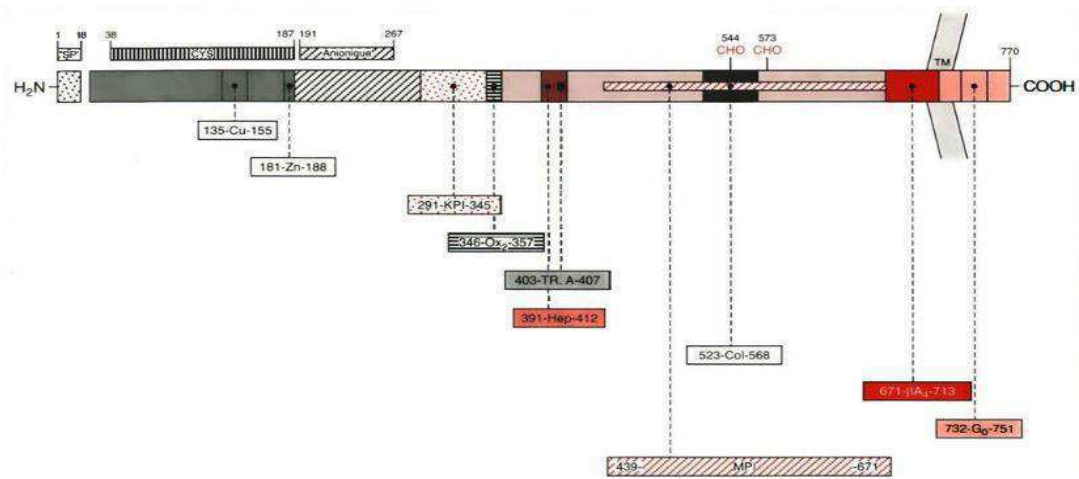


Illustration 8 : Les différents domaines du précurseur du peptide amyloïde. INSERM.

Le neurone est l'un des lieux de production principaux de la protéine APP. Une fois produite elle se déplace en partant de l'appareil de Golgi, zone de transit pour les protéines et lipides, en direction de l'axone (Illustration 9). En tant que protéine transmembranaire, sa destination finale est la membrane plasmique où elle interagira à la fois avec l'environnement extracellulaire et avec les différents éléments présents à l'intérieur de la cellule. La protéine peut également être internalisée au niveau du compartiment endosomal pour y être stockée afin d'être relâchée ultérieurement.

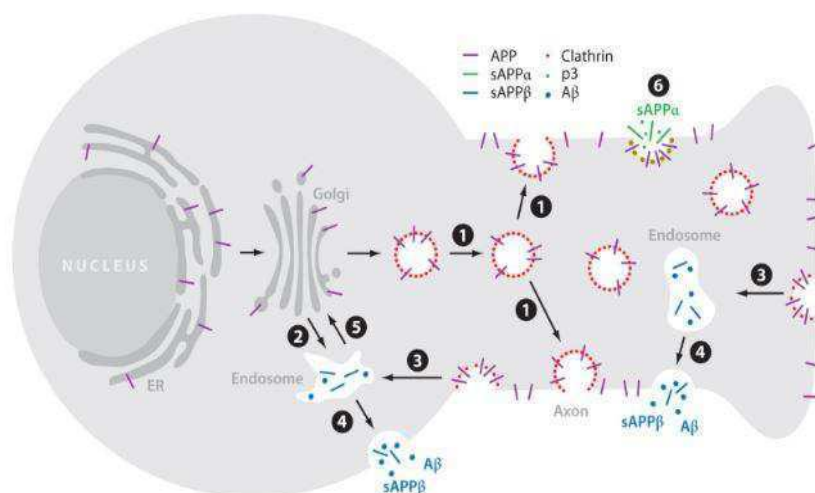


Illustration 9 : Circulation de la protéine APP dans le neurone. O'Brien and Wong. Amyloid precursor protein processing and Alzheimer's disease.

Une fois arrivée à destination au niveau de la membrane cellulaire, APP est métabolisée. Elle y est traitée via deux voies enzymatiques, la voie amyloïdogénique et la voie non amyloïdogénique comme nous le montre les recherches de *Mora et al* (Illustration 10).

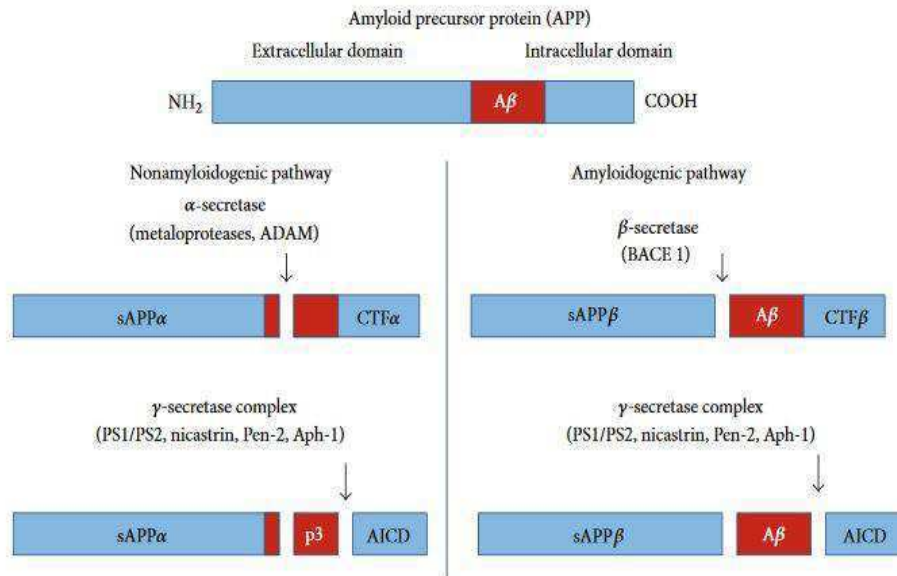


Illustration 10 : Schéma illustrant les deux voies de clivage de la protéine APP. *Mora et al. Amyloïd Beta : Multiple Mechanisms of Toxicity and Only Some Protective Effects ?* (15)

1.5.2.1 Mécanisme de la voie non amyloïdogénique

A l'état physiologique, la protéine APP est coupée au niveau de la membrane plasmique par une enzyme α -sécrétase à son extrémité N-terminale. Ce clivage permet de libérer le fragment « soluble amyloïd precursor protein α » (sAPP α) dans le milieu extracellulaire ainsi qu'un fragment C-terminal α (CTF- α) restant dans le cytoplasme. Les enzymes porteuses de ces α -sécrétases font parties d'une famille de métalloendopeptidases transmembranaires appelée ADAM. Lors de cette coupure, aucun des deux fragments ne possède entièrement la séquence nécessaire à la formation du peptide $\alpha\beta$. Par la suite, la sécrétase γ clive la partie restante, formant le fragment p3 ayant une faible toxicité cellulaire qui sera libéré à son tour dans le milieu extracellulaire. Les fragments d'APP solubles autres que le peptide $\alpha\beta$ possèdent des propriétés neurotrophiques et neuroprotectrices (15).

1.5.2.2 Mécanisme de la voie amyloïdogénique et formation de peptide $\alpha\beta$:

Lorsque que la protéine APP est clivée par la β -sécrétase BACE-1 (β -site APP cleaving enzyme 1), le peptide $\alpha\beta$ se forme. La BACE, en clivant la partie N-terminale de APP, libère dans le domaine extracellulaire un fragment sAPP β ne possédant aucun segment du peptide $\alpha\beta$. L'action successive de la γ -sécrétase clive en C-terminale un domaine intracellulaire de APP (AICD), et le peptide $\alpha\beta$ peut être libéré dans le domaine extracellulaire. Le fragment, insoluble, circule et s'agrège avec d'autres peptides pour former des plaques grâce à ses propriétés adhésives. Il existe 2 principaux lieux de clivage pour le peptide $\alpha\beta$ lui conférant 40 ou 42 acides aminés. Le peptide $\alpha\beta_{42}$ semble plus toxique que le peptide $\alpha\beta_{40}$ (15).

Le peptide $\alpha\beta$ possède des propriétés antibactériennes mais également une grande variété de propriétés toxiques pour le cerveau en perturbant notamment la qualité de la transmission des signaux neuronaux, la respiration mitochondriale, en favorisant la neuro-inflammation et en induisant une production accrue d'espèces réactives à l'oxygène. Les dommages engendrés conduisent à la mort neuronale et à la symptomatologie du patient. Une partie de la perte de ces cellules nerveuses est également due à la diminution de la quantité de protéine APP ayant un rôle neuroprotecteur. Cette protéine APP protège notamment les neurones du phénomène d'excitotoxicité, définissant l'atteinte et la mort neuronale provoquée par le glutamate qui est le neurotransmetteur principal du système nerveux. De plus, la protéine APP protège également les neurones du calcium intracellulaire qui en trop grande quantité peut endommager le cerveau (16).

1.5.2.3 Perturbation des récepteurs glutamatergiques

Le glutamate est la forme anionique de l'acide glutamique. C'est un acide aminé considéré comme le principal neurotransmetteur exciteur du système nerveux central. La présence des récepteurs au glutamate est essentielle pour assurer le bon déroulement de la neurotransmission, notamment pour la plasticité synaptique en permettant la transmission du signal électrique entre deux neurones. Leur perturbation est l'un des

événements pathologiques les plus délétères dans la maladie d'Alzheimer. Les récepteurs aux glutamates sont très répandus dans l'hippocampe et sont essentiels dans les processus d'apprentissage et de mémorisation (Illustration 11).

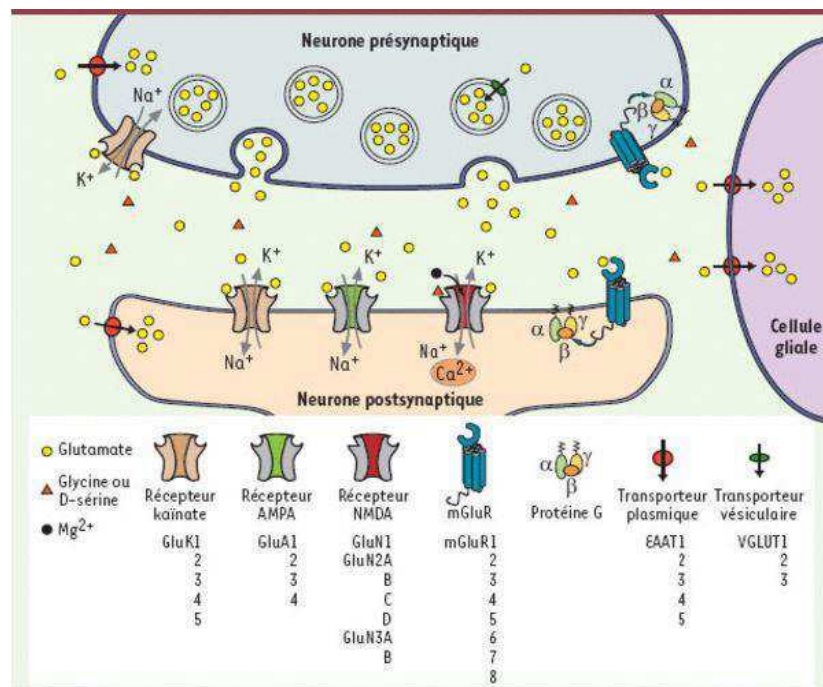


Illustration 11 : Fonctionnement d'une synapse glutamatergique. Med Sci (Paris)

Ces récepteurs dit ionotropes fixe le glutamate et sont couplés à un canal ionique. Ils en existent deux principaux qui sont les récepteurs α-amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate (AMPA) et les N-méthyl-D-aspartate (NMDA). Les récepteurs NMDA font rentrer du calcium et du sodium tandis que les récepteurs AMPA contribuent quant à eux à une entrée de sodium uniquement. L'activation de ces récepteurs initie un flux ionique le long de la membrane plasmique du neurone post-synaptique dont découle une dépolarisation, donnant lieu au potentiel d'action permettant de transmettre l'influx nerveux dans le neurone suivant.

Le mécanisme par lequel le peptide αβ perturbe la transmission synaptique n'est pas encore totalement connu. Il pourrait néanmoins déséquilibrer le niveau de densité post synaptique, région plus riche de la synapse glutamatergique organisée en complexe et permettant de réguler les récepteurs AMPA et NMDA. Cette densité post-synaptique est constituée de différentes protéines au niveau de la post-synapse régulant de nombreuses fonctions dans la transmission synaptique. Elles sont également essentielles à l'interaction

cellule-cellule. Parmi ces protéines, on retrouve notamment les protéines MAGUK (Membrane-Associated Guanylate Kinase) (17).

Des recherches scientifiques ont déjà mis en évidence que la simple présence du peptide $\alpha\beta$ peut abaisser le nombre de récepteurs NMDA dans les neurones de manière significative (18). La cause de ce dysfonctionnement synaptique est liée au phénomène d'endocytose (19). Concernant les récepteurs AMPA, l'activité délétère du peptide $\alpha\beta$ provoque à la fois une diminution du fonctionnement et une diminution de la quantité de ces récepteurs. Le phénomène d'endocytose est également privilégié.

1.5.2.4 Perturbation des récepteurs cholinergiques

L'acétylcholine est un indispensable neurotransmetteur actif à la fois au niveau du système nerveux central et sur le système nerveux périphérique. C'est un ammonium quaternaire chargé composé d'acétyl et de choline liée ensemble par une liaison ester. L'acétylcholine peut être dégradée au niveau de cette liaison ester par une estérase appelée acétylcholinestérase.

Les voies cholinergiques centrales demeurent principalement au niveau du striatum, du noyau septal médian près de l'hippocampe ou au niveau basal du cortex ou de l'amygdale. Elles sont nécessaires à la régulation de la motricité, de la mémoire et de l'apprentissage. L'acétylcholine a également une fonction au niveau périphérique dans le fonctionnement du système nerveux somatique pour la motricité volontaire ainsi que pour l'activité du système nerveux autonome. Les deux récepteurs principaux de l'acétylcholine sont les récepteurs muscariniques et nicotiniques (Illustration 12).

Le peptide $\alpha\beta$, et notamment le peptide $\alpha\beta_{42}$, possède une forte affinité pour les récepteurs cholinergiques. Cette corrélation est la source de l'accumulation de peptide $\alpha\beta$ au niveau de ces récepteurs. Grâce à des expériences menées chez le rat, il a été déterminé que le peptide $\alpha\beta_{42}$ immobilisé spécifiquement les récepteurs de l'acétylcholine contenant le gène $\alpha 7$ ($\alpha 7$ -nAChR) présents notamment dans l'hippocampe. Ces récepteurs sont très fréquents, ont une perméabilité élevée et régulent de nombreux mécanismes du système nerveux central. Leur atteinte par les peptides $\alpha\beta$ est à même de causer du tort au niveau des transmissions synaptiques (20).

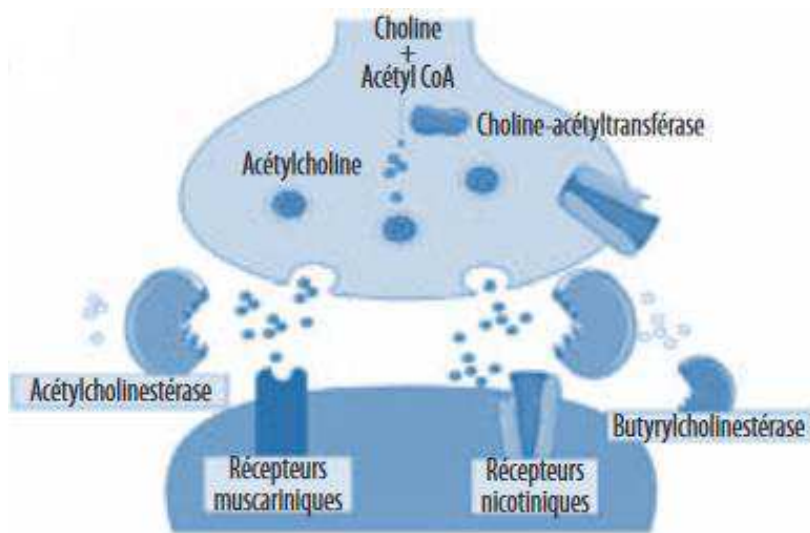


Illustration 12 : Synapse cholinergique. R Bordet *Le système cholinergique central.*

1.5.2.5 Perturbation mitochondriale

Le peptide $\alpha\beta$ est présent dans de nombreux organites intracellulaires tels que le réticulum endoplasmique ou l'appareil de Golgi. Cependant, l'origine de la présence du peptide $\alpha\beta$ dans les mitochondries demeure inconnue malgré quelques suppositions. Il est difficile de déterminer la cause de ce phénomène étant donné que les mitochondries ne possèdent pas de bêta-sécrétases.

Les mitochondries nous sont précieuses grâce à l'activité de leur chaîne respiratoire. Cette chaîne est un élément essentiel à la production d'Adénosine Triphosphate (ATP), molécule de base fournissant l'énergie pour le déroulement des différentes réactions chimiques du métabolisme du corps humain produite à partir de protéines, glucides ou lipides. La respiration mitochondriale a notamment lieu au niveau de la membrane mitochondriale interne. A ce niveau figure une circulation d'électrons au travers de la chaîne respiratoire provenant de molécules d'hydrure de nicotinamide adénine dinucléotide (NADH) ou de flavine adénine dinucléotide (FADH₂) issue de la glycolyse et du cycle de Krebs. Le transfert d'électrons qui en découle libère de l'énergie, utilisée pour pomper des protons hors de la matrice mitochondriale et générant un gradient de concentration de protons à travers la membrane mitochondriale interne. Ce gradient électrochimique est ensuite utilisé par l'ATP synthase pour produire de l'ATP.

Il existe 4 complexes dans la chaîne respiratoire mitochondriale composés d'enzymes respiratoires agissant de manière successive appelées NADH déshydrogénase, succinate déshydrogénase, cytochrome c réductase et cytochrome c oxydase.

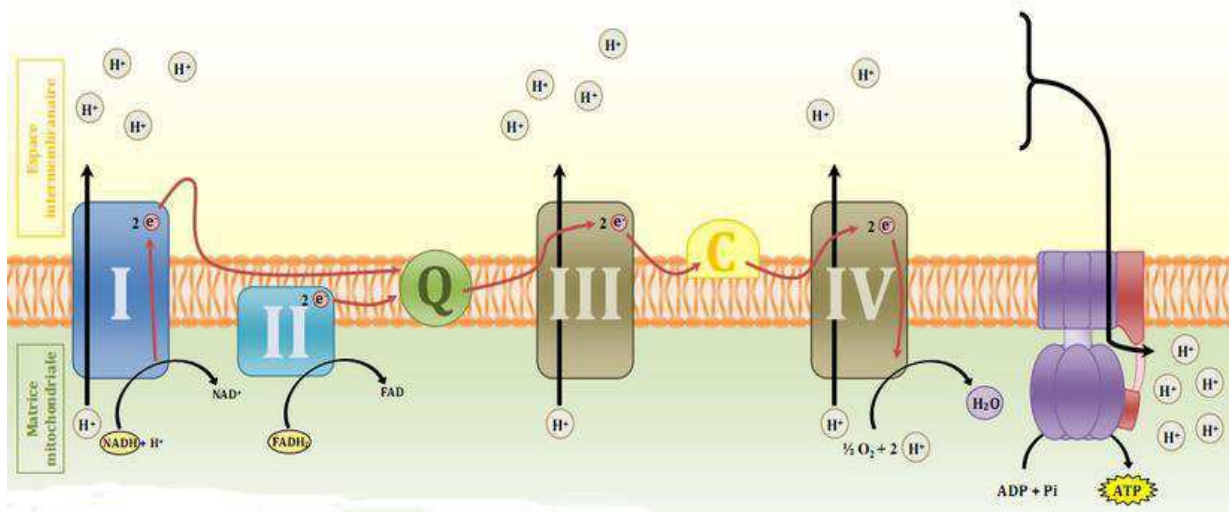


Illustration 13 : Schéma de la respiration mitochondriale. M. Simon. Chaîne respiratoire et phosphorylation oxydative (21).

Sur l'illustration 13 nous observons en I la NADH réductase en train d'assimiler les électrons du NADH afin d'exporter des protons vers l'espace intermembranaire. En II la succinate déshydrogénase permet de capter des protons provenant de molécule de succinate $FADH_2$. En III figure la cytochrome c réductase faisant sortir des protons de la matrice. Enfin, le complexe IV appelé cytochrome c oxydase permet de relarguer deux protons dans l'espace intermembranaire. Le dioxygène est l'accepteur final des électrons, il va également fixer les protons pour former une molécule d'eau. Le coenzyme Q (Ubiquinone) et le cytochrome c sont des éléments de transition entre les différents complexes. Le gradient de protons ainsi formé sert *in fine* à la formation d'ATP grâce à l'ATP synthase (21). L'exposition des mitochondries au peptide $\alpha\beta$ diminue la respiration mitochondriale, notamment l'activité de la c oxydase (22). Une diminution de la production d'ATP peut avoir de lourdes conséquences car cette molécule est l'élément énergétique de base de l'ensemble des cellules du corps humains. Elle est également nécessaire au bon déroulement de nombreuses fonctions physiologiques comme la contraction musculaire, les mécanismes de phosphorylation ou la synthèse de neurotransmetteurs comme l'acétylcholine.

1.5.2.6 Génération de stress oxydatif

Le stress oxydatif définit l'agression des cellules par des radicaux libres, molécules produites par le métabolisme cellulaire ou certains métabolismes exogènes comme ceux des bactéries. Il existe une grande variété d'espèces réactives à certaines molécules comme le sulfure, le nitrogène ou le carbonyle. Toutefois, le stress oxydatif concerne principalement les espèces réactives de l'oxygène ERO. Les principaux ERO sont le radical hydroxyle (OH^-), le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le composé réactif peroxynitrite (ONOO^-) et ses précurseurs le monoxyde d'azote ($\text{N}=\text{O}$) et l'anion superoxyde (O_2^{2-}) (23).

Chez les organismes vivants en aérobie ces ERO sont formés en permanence et de manière naturelle (Illustration 14). Cette production a notamment lieu au niveau des mitochondries lors du métabolisme de réduction de l'oxygène en eau ou au travers de la NADPH oxydase. Ce phénomène se déroule en plusieurs étapes donnant naissance à des entités pouvant être beaucoup plus réactives que l'oxygène. A l'état physiologique, elles sont neutralisées par des molécules antioxydantes. La dégradation de ces radicaux est contrôlée par trois enzymes : la superoxyde dismutase, la catalase et la glutathion peroxydase.

Lorsque les ERO sont produits en quantité raisonnable elles contribuent au bon déroulement de nombreuses fonctions physiologiques. Parmi ces fonctions, nous retrouvons la régulation du tonus vasculaire, la relaxation du muscle lisse, l'adhésion plaquettaire, la régulation des fonctions contrôlées par la concentration en oxygène et l'apoptose. L'un des rôles primordiaux des ERO est également la participation à la défense antimicrobienne (24).

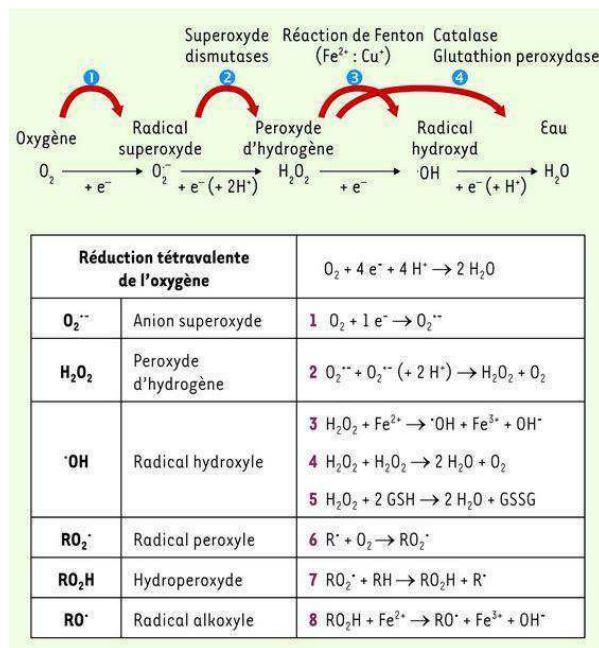


Illustration 14 : Origine des espèces réactives à l'oxygène. Migdal et Serres *Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydatif* (24).

Cependant, leur effet délétère en cas d'accumulations excessives est aussi connu dans des pathologies telles que l'athérosclérose, les pathologies articulaires, les pathologies cardiaques ou neurodégénératives. Les chaînes polypeptidiques ou les acides gras poly-insaturés composants les membranes plasmiques sont impactés par ces ERO s'ils ne sont pas pris en charge par des molécules antioxydantes. Le stress oxydatif est responsable d'un phénomène particulier appelé peroxydation lipidique. Ce phénomène atteignant les lipides membranaires provoque une perte de fluidité altérant la fonction de la membrane ainsi que des dommages sur les protéines liées à la membrane. L'atteinte des protéines entraîne des effets délétères évidents, avec notamment des oxydations au niveau des chaînes latérales des acides aminés ou des liaisons au niveau des chaînes polypeptides (23). Certaines de ces fonctions sont essentielles dans de nombreuses voies métaboliques et biochimiques telles que le métabolisme du glucose, l'activation de la protéine m-TOR ou la phosphorylation des protéines (25). Enfin, les lésions de l'acide désoxyribonucléique (ADN) induisent des phénomènes délétères comme des substitutions, des délétions ou des mutations.

Les régions du cerveau exposées au peptide $\alpha\beta$ ont un taux de stress oxydatif augmenté. *Hensley et al* ont mis en évidence au travers de l'étude de 4 biomarqueurs neuronaux que

la présence de caractéristiques histopathologiques de la maladie d'Alzheimer était associée à une élévation du stress oxydatif. Les radicaux libres favorisent notamment l'agrégation du peptide $\alpha\beta$ (26).

Le cerveau accumule des ions métalliques au cours du vieillissement tels que le fer, le cuivre et le zinc. A l'état physiologique, il possède normalement suffisamment d'éléments anti-oxydants pour lutter contre les ERO. Cependant, l'accumulation de peptide $\alpha\beta$ lors du développement de maladie d'Alzheimer perturbe ces voies de détoxication. Le peptide $\alpha\beta$ peut interagir notamment avec le cuivre Cu^{2+} et le fer Fe^{3+} qui ont des fortes capacités d'oxydoréduction. Les complexes formés par le peptide $\alpha\beta$ et les métaux réduits interagissent et réduisent l'oxygène présent dans le cerveau ainsi que des molécules d'eau. Les molécules d'oxygènes et d'hydrogènes chargées ainsi libérées vont s'associer et produire du peroxyde d'hydrogène nocif. La méthionine joue également un rôle dans la formation de ce complexe redox. (Illustration 15). D'autres ERO peuvent également être générés à partir du peroxyde d'hydrogène grâce aux réactions de Fenton et Haber-Weiss (27).

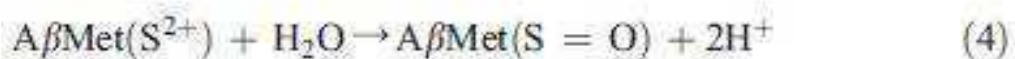
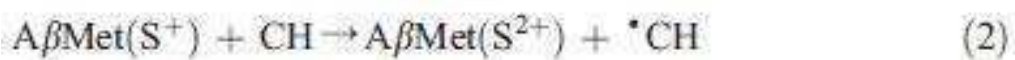


Illustration 15 : Exemple de formule décrivant la formation de ERO à l'aide du peptide $\alpha\beta$. Smith et al, The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid β peptide

1.5.3 La protéine Tau

Tau fait partie des protéines associées aux microtubules, appelées également MAPs, décrite pour la première fois en 1975 par Weingarten et al (28). Ils existent 16 exons qui

permettent de coder la protéine Tau, permettant de définir six isoformes majeures exprimées dans le cerveau humain. Elle joue un rôle clé dans le mécanisme d'arrangement et de stabilisation des fibres de microtubules en aidant la fixation de la guanosine triphosphate sur la tubuline. Les microtubules sont des composants du cytosquelette cellulaire et sont primordiales pour les mouvements intracellulaires, la division cellulaire, le transport neuronal ou la mobilité cellulaire. Les microtubules sont très présents dans les différents éléments composant le neurone, notamment les axones.

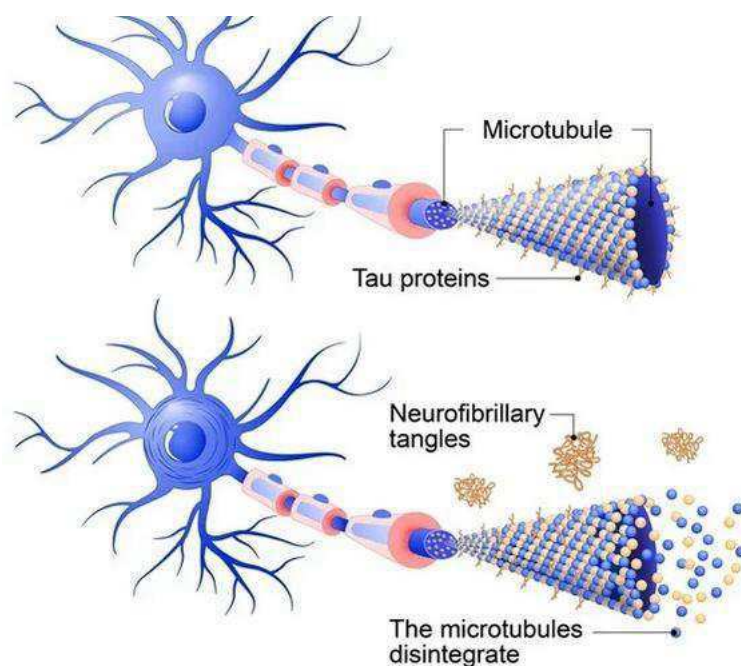


Illustration 16 : Microtubules sains en haut vs microtubules atteints dans la maladie d'Alzheimer en bas. news-médical.net

« Tauopathies » est un terme qui englobe les troubles neurodégénératifs initiés par un dépôt anormal de protéine Tau. Dans ces maladies, les agglomérats prennent la forme d'enchevêtrements neurofibrillaires. Bien que la protéine Tau subisse de multiples modifications, la modification post-traductionnelle majeure est due à son degré de phosphorylation, régulant notamment son activité biologique. Ces phosphorylations contrôlent les fonctions biologiques normales de la protéine telles que son implication dans la stabilité des microtubules ainsi que ses fonctions pathologiques comme sa capacité à s'auto-assembler en filaments neuronaux. Les protéines Tau hyperphosphorylée se distinguent des autres protéines Tau par une structure physico-chimique particulière les rendant moins solubles, plus acides et avec un poids moléculaire plus élevé. En

conséquence, elles vont se détacher des microtubules et s'agréger sous forme de neurofibrilles à l'aspect hélicoïdal insolubles. Ces neurofibrilles vont provoquer des entremêlements au niveau des axones et les compresser, compromettant le transport d'éléments vitaux au niveau de l'axone (Illustration 16). Cet écrasement aboutit à la mort neuronale par apoptose. On parlera ici de dégénérescence neurofibrillaire. Dans la maladie d'Alzheimer, la capacité de liaison aux microtubules de Tau s'altère. Son rôle protecteur du microsquelette n'est, de ce fait, plus efficace (29).

I.5.4 L'apolipoprotéine E

L'apolipoprotéine E ou apoE est une molécule sécrétée majoritairement au niveau du foie ayant un rôle physiologique prépondérant pour le métabolisme des lipoprotéines, le transport des lipides et celui du cholestérol. Au niveau du cerveau, les particules de apoE, chargée en lipides, se fixent à plusieurs récepteurs de surface cellulaire pour consolider l'équilibre membranaire et permettre la réparation de diverses lésions. Elles sont fondamentales pour les neurones car elles assurent la restauration de la membrane neuronale composée d'une bicouche lipidique.

Bien que ApoE soit une protéine clé pour le bon fonctionnement du cerveau, elle s'avère fixer fortement le peptide $\alpha\beta$ et de ce fait favorise son agglomération. Dans le développement de la maladie d'Alzheimer, l'accumulation de cette protéine a été révélée dans les plaques séniles et les neurofibrilles. Parmi les conséquences de sa présence, ApoE peut notamment accélérer le trafic d'APP et augmenter la production de peptide $\alpha\beta$ (30). L'apoE régule le trafic d'APP et la production d' $\alpha\beta$ d'une manière spécifique à l'isoforme, apoE4 favorisant notamment l'internalisation de l'APP et augmentant la production de $\alpha\beta$ dans une plus grande mesure que l'apoE3.

I.5.5 Angiopathie amyloïde cérébrale

L'angiopathie amyloïde cérébrale (AAC) est une pathologie cérébrovasculaire. Sa cause initiale est due au dépôt de peptide $\alpha\beta$ au niveau de la paroi des artères, artérioles et capillaires du cerveau. Lorsque le peptide $\alpha\beta$ se dépose au niveau de ces parois il a tendance à se substituer aux cellules musculaires lisses puis aux éléments du tissu

conjonctif Ces changements provoquent une fragilité des vaisseaux pouvant s'acheminer vers un micro-anévrisme puis potentiellement à la nécrose des tissus (31).

L'hémorragie cérébrale est la principale problématique causée par le risque de saignement qui découle de cette fragilité. L'hémorragie intra-cérébrale de topographie lobaire touchant les structures corticales et sous corticales est généralement caractéristique de l'AAC. Il est courant que l'AAC soit accompagner de troubles neurologiques sensitifs ou moteurs transitoires. Cependant, il ne faut pas que ces troubles soient confondus avec des crises d'épilepsies ou des accidents ischémiques.

1.5.6 Corps d'Hirano

Les corps d'Hirano sont des structures éosinophiles en forme de bâtonnet, plus nombreux chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer dont la localisation se situe au niveau de la couche pyramidale du secteur du Sommer de l'Hippocampe.

Les principaux composants des corps d'Hirano sont des microfilaments anormaux (Illustration 17). Ces molécules semblent associées au cytosquelette cellulaire mais aussi à certaines protéines liées au stress ainsi qu'à des facteurs de croissance, notamment le peptide cholinergique neurostimulant de l'hippocampe HCNP (32). L'accumulation de HCNP dans les corps d'Hirano suggère que les patients porteurs de ces inclusions peuvent avoir une perturbation du système cholinergique septo-hippocampique, considérée comme importante pour le développement et la formation de la mémoire (32).

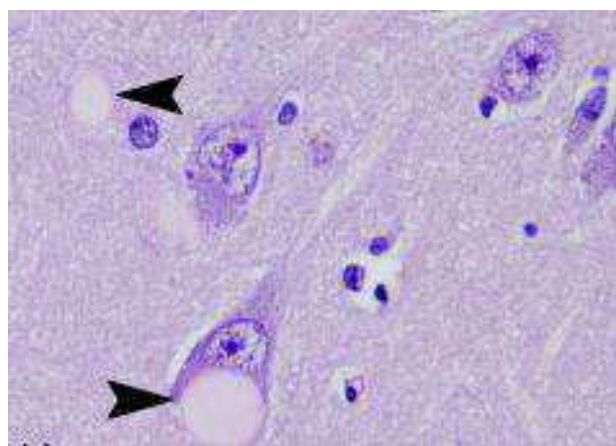


Illustration 17 : Inclusion immunohistochimique montrant les corps d'Hirano dans l'hippocampe de patient Alzheimer. Encyclopedia of the human brain, Hirano Body 2002

1.5.7 Alzheimer et neuro-inflammation

L'inflammation est protectrice pour le corps car elle permet de lutter contre les différents agents pathogènes. Toutefois, une réponse inflammatoire excessive et continue provoque ou contribue aux lésions tissulaires et au développement de la pathologie. Lors d'une infection, d'une lésion cérébrale traumatique, d'une présence d'agent toxique ou dans le cas d'une maladie auto-immune, un phénomène d'inflammation au niveau du système nerveux se met en place. Ce phénomène, appelé neuro-inflammation, est une inflammation chronique du système nerveux central.

Les cellules microgliales demeurent au repos tant qu'elles ne sont pas confrontées à un stimulus étranger. A l'état physiologique, des facteurs neurotrophiques sont produits par les neurones afin de freiner l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II) présent à la surface des cellules microgliales et limitant ainsi leur action. Lorsqu'elles sont stimulées par un élément pathogène, ces cellules microgliales ont la capacité de s'activer et de migrer vers le lieu concerné afin de libérer des cytokines et agents neurotoxiques qui augmentent les dommages dans le système nerveux central. Il est courant de voir un dépôt de plaquette et un œdème dans ce phénomène de neuro-inflammation.

Deux phénotypes de microglies existent, appelés respectivement M1 et M2. Les microglies M1 sont spécifiques des lipopolysaccharides (LPS) présents à la surface des bactéries et produisent de l'interleukine 1- β , de l'interleukine 12, du facteur de nécrose tumorale (TNF- α) et l'oxyde nitrique synthase (iNOS). Les microglies M2a répondent aux interleukines 4 et 13 et ont préférentiellement un rôle anti-inflammatoire. Enfin les microglies M2b sont stimulées par l'activation des récepteurs Toll like (TLR) ou par l'interleukine 1- β et produisent des agents anti-inflammatoires. Enfin, les microglies M2c sont des macrophages désactivés qui auront pour rôle de supprimer l'expression des cytokines pro-inflammatoires (33).

La présence d'une neuro-inflammation dans le développement de la maladie d'Alzheimer est depuis longtemps prouvée par l'augmentation de médiateurs pro-inflammatoires, notamment le TNF- α (34). La localisation particulière des cellules microgliales autour des plaques amyloïdes ainsi que la présence de dépôts de peptides $\alpha\beta$ dans les microglies et

astrocytes actifs dans le cerveau des patients atteints a également été mis en évidence (33). En plus de leur effet neurotoxique, l'activation des microglies et des astrocytes favorise le maintien de l'inflammation en augmentant le dépôt de peptides $\alpha\beta$ (35). Les cytokines produites sont capables de réguler à la hausse l'expression de la bêta-sécrétase permettant de cliver APP.

1.6 Alzheimer et thérapeutiques

La prise en charge thérapeutique de la maladie d'Alzheimer est particulièrement réduite aujourd'hui. Les traitements après l'apparition de la maladie se sont montrés relativement peu efficaces avec le temps et ont peu d'avantages sur la cognition du patient.

Les médicaments destinés à la maladie d'Alzheimer ont une efficacité limitée et ne sont pas prescrits systématiquement. Il existe 2 familles de médicaments prescrits montrant une efficacité plus ou moins significative sur les symptômes cognitifs et non cognitifs pendant une durée relativement courte, de l'ordre de 6 mois, sur un tiers des patients environ (36). Ces deux familles regroupent les inhibiteurs des cholinestérases et la Mémantine. Ces médicaments sont symptomatiques et ne modifient pas l'évolution de la maladie.

En 2016, la commission de la transparence de la Haute Autorité de Santé a réévalué les traitements de la maladie d'Alzheimer (36). Face à la confirmation de la faible efficacité de ces médicaments et à l'existence d'effets indésirables potentiellement graves, la Commission de la Transparence a conclu à un service médical rendu insuffisant pour justifier leurs remboursements. L'efficacité des médicaments avait été établi à court terme, essentiellement sur les troubles cognitifs dans des études cliniques *versus* placebo. Les patients de ces études étaient plus jeunes que ceux pris en charge en pratique réelle, et contrairement à eux ne présentaient ni comorbidités, ni risques d'interactions médicamenteuses.

Les anticholinestérasiques regroupent les médicaments Donépézil (ARICEPT), Galantamine (REMINYL) et Rivastigmine (EXELON). Ce sont des médicaments à prendre par voie orale. La Rivastigmine existe aussi en patch pour les patients non observants. Ces molécules augmentent la capacité de l'acétylcholine à stimuler les récepteurs nicotiques

et muscariniques en empêchant la dégradation de l'acétylcholine après sa sécrétion par les neurones. Cependant, pour que ces médicaments soient efficaces il faut que les neurones pré-synaptiques soient suffisamment fonctionnels pour synthétiser le neurotransmetteur. Ainsi, ils sont réservés à des situations précoces. La mémantine (EBIXA) est, quant à elle, un antagoniste non compétitif d'affinité modérée et potentiel dépendant des récepteurs NMDA agissant sélectivement sur le cerveau et la rétine.

L'objectif thérapeutique de la prise en charge de la maladie d'Alzheimer à l'aide de ces médicaments est de retarder la progression des déficits cognitifs tout en minimisant les manifestations psychologiques et comportementales qui découlent de ces déficits. La bonne posologie de chaque médicament doit être déterminée par titration. Le dosage doit être augmenté par palier progressif afin de répondre aux objectifs d'efficacité tout en ayant le meilleur rapport bénéfice/risque. L'objectif est de trouver la dose minimale efficace. Les plus grandes fourchettes de titration sont pour la Rivastigmine et la mémantine. Il existe un risque d'interactions médicamenteuses avec les inducteurs et les inhibiteurs des cytochromes P450 3A4 pour les molécules Donépézil et Rivastigmine. L'élimination de ces médicaments est urinaire, hors la plupart des sujets âgés souffrent d'insuffisance rénale.

Les effets indésirables des anticholinestérasiques sont divers :

- Cardiovasculaire : un électrocardiogramme est nécessaire avant la mise en place d'un traitement anticholinestérasique devant le risque d'apparition de syncopes, bradycardie, bloc sino-auriculaire et auriculoventriculaire.
- Digestif : diarrhée, nausées, vomissements.
- Oculaire : myosis, baisse de la pression oculaire.
- Neuropsychiatriques : hallucination, agitation, comportements agressifs, crises convulsives, fatigue, crampes musculaires, insomnie, cauchemars, céphalées, douleurs, vertiges.

La mémantine est mieux tolérée, les effets indésirables les plus courants sont digestifs (constipation, diarrhées, vomissements) et neuropsychiatriques (hallucinations, confusion, vertiges, céphalées, fatigue).

En l'absence de traitements efficace à long terme, il est nécessaire de découvrir de nouvelles approches et de les perfectionner pour ralentir la progression de la maladie d'Alzheimer. Les nouveautés en matière de traitement ne sont possibles que grâce à des essais pré-cliniques et cliniques menés chez l'homme. Aujourd'hui, la majorité des essais cliniques menés autour de la maladie d'Alzheimer sont des essais visant à ralentir, arrêter ou inverser la maladie. Parmi ces thérapeutiques, la plupart sont considérées comme des anti-amyloïdes ou anti-Tau. Le développement de médicaments dans la maladie d'Alzheimer a connu de nombreux échecs au cours des dernières années, ce qui témoigne de la complexité de comprendre et traiter cette maladie. Au-delà de l'immunothérapie et de l'amélioration symptomatologique, l'amélioration cognitive pourrait passer par le développement d'éléments neuroprotecteurs améliorant la plasticité synaptique et la régénération des synapses.

De nombreuses cibles ont été étudiées, notamment les β -sécrétase 1 et 2 permettant la formation de peptide $\alpha\beta$ à partir de APP. Trois molécules ont été testées : le verubecestat, le lanabecestat et le atabecestat. Le verubescestat a été analysé dans différentes études pré-cliniques et cliniques. Cependant, les recherches concernant cette molécule ont été annulées à la suite de l'échec des études de phase 3 nommées « APECS » et « EPOCH » n'ayant pas eu de résultats satisfaisants (37). De la même manière le traitement par lanabecestat n'a pas montré d'amélioration dans le ralentissement du déclin cognitif lors de la réalisation des études « AMARANTH » et « DAYBREAK-ALZ » (38). Pour finir, l'atabescestat a également montré des résultats négatifs dans l'étude « EARLY », en induisant une toxicité hépatique avec une hausse de certaines enzymes (39). Le solanezumab, un anticorps humanisé dirigé contre le peptide $\alpha\beta$ étudié par la société Eli Lilly a également montré des signes prometteurs. Malheureusement, il s'est avéré inefficace dans des études de phase 3 menées sous le nom d' « EXPEDITION 1, 2 et 3 » (40). Le récepteur des produits de glycation avancée RAGE a également été le fruit d'étude dans la maladie d'Alzheimer (41). Azeligaron, un inhibiteur du récepteur RAGE, a été testé dans un essai clinique de phase 3 intitulé « STEADFAST » mais cette étude a été arrêtée précocement au cours de l'année 2018 devant l'absence d'efficacité. Parmi les facteurs de risques de la maladie d'Alzheimer, le diabète de type 2 est un élément non négligeable. Des études ont démontré que les augmentations de la phosphorylation de Tau et du dépôt

de $\alpha\beta$ sont favorisé par une résistance accrue à l'insuline. Face à cette découverte, le pioglitazone, molécule antidiabétique agoniste des récepteurs PPAR- γ a été testé dans le but de réduire l'inflammation et la plaque amyloïde. L'étude de phase 3 « TOMMORROW » liée à la pioglitazone a échoué dans l'amélioration de la symptomatologie et dans la prévention d'Alzheimer (42).

Le traitement de la symptomatologie est l'élément prédominant de l'objectif thérapeutique tant les évolutions comportementales et sociales sont des fardeaux pour les patients. Même si la maladie évolue chez chaque patient de manière différente, l'apparition de comportements chroniques tels que l'anxiété ou l'agressivité sont des éléments primordiaux à traiter pour le bien être du patient. Des thérapeutiques utilisées dans le traitement de la dépression majeure ou de la schizophrénie sont également en cours d'étude pour diminuer les symptômes. C'est notamment le cas du brexpiprazole, un agoniste partiel des récepteurs de dopamine D2 en cours d'étude pour soulager les épisodes d'agitation chez le patient atteint d'Alzheimer (43). D'autres alternatives, comme certaines molécules contenues dans le cannabis tels que le tétrahydrocannabinol ou le nabilone ayant déjà montrées des signes encourageants dans le traitement de symptômes comportementaux chez des personnes atteintes de maladie cognitive méritent d'être étudiées et sont actuellement en études de phases 2 et 3.

II PORPHYROMONAS GINGIVALIS

II.1 Classification et structure

Porphyromonas gingivalis désigne une espèce de bactérie pathogène exclusive de la flore buccale appartenant au genre *Porphyromonas* de la famille des *Porphyromonodaceae*. Cette bactérie est un bacille ou coccobacille à Gram -, non sporulé, non-mobile, anaérobie stricte encapsulé, mesurant environ 0,5 à 1 µm de diamètre pour 2 µm de long, de forme lisse et brillante (44).

Elle a la particularité d'être cultivable sur gélose contrairement à de nombreuses bactéries buccales. Sa croissance peut prendre 4 à 8 jours et est optimale à 37 degrés Celsius. *P. gingivalis* fait partie du groupe des bactéroïdes à pigmentation noire. Elle prend une coloration brune à noire non fluorescente à la lumière ultraviolette lors de sa culture sur gélose au sang (Illustration 18). Les colonies sont de petites tailles, de forme lisse et brillante (44).

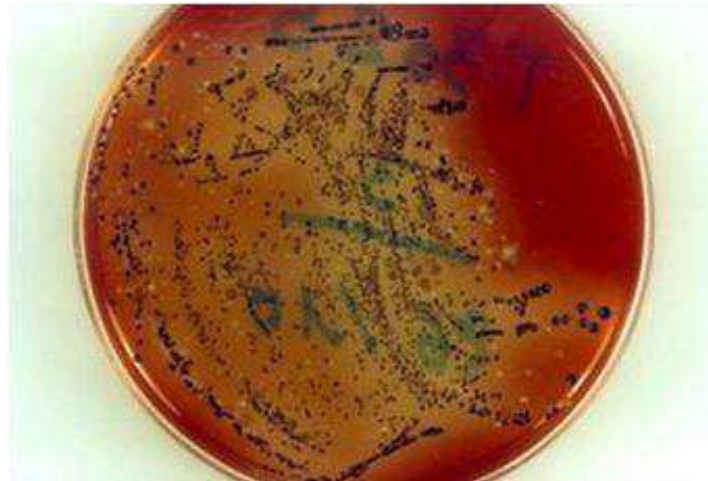


Illustration 18 : Culture de *P. gingivalis* sur gélose au sang. Université de Rennes 1

C'est une bactérie assacharolytique, incapable d'utiliser les glucides comme source d'énergie. Elle utilise un métabolisme protéolytique se servant des acides aminés ou des peptides pour subvenir à ses besoins (44). Pour se faire, la bactérie dégrade les protéines

contenues notamment dans les tissus de la sphère gingivale à l'aide de peptidases, enzymes coupant les liaisons peptidiques entre les protéines.

L'identification définitive se fait en laboratoire au travers des critères suivants : absence de fermentation des sucres, agglutination des érythrocytes, absence de production de catalase, présence de pseudo-trypsine, présence de *N*-acétyl-bD-glucosaminidase, et production d'acide phénylacétique (45). *P. gingivalis* possède une grande diversité. Six sérotypes correspondant à des antigènes de la capsule ont été identifiés, ainsi que cinq sérotypes selon les fimbriaes et de nombreux types clonaux.

II.2 Milieu de vie de *P. gingivalis* : le microbiote oral

Le microbiote oral représente une partie non négligeable du microbiote humain. Il se compose de plusieurs centaines à plusieurs milliers d'espèces différentes. Ce microbiote est inhérent à la cavité buccale et a une fonction de protection contre la colonisation bactérienne extrinsèque. La cavité buccale est une zone riche en diversité composée de nombreuses bactéries commensales ou pathogènes. La population bactérienne composant cette flore est capitale pour le bon fonctionnement de notre corps et influe également sur notre état de santé. La stabilité intra-individuelle de cet écosystème est la garantie d'un bon état de santé bucco-dentaire et limite les complications.

Ce microbiote est un système en perpétuelle évolution et il existe une grande diversité entre les personnes. La flore buccale est dépendante des événements qui peuvent toucher les individus. Le mode d'alimentation peut avoir un retentissement sur cette flore, notamment chez les nourrissons. Pour illustrer cet exemple, on note que la présence de lactobacilles est plus répandue chez les enfants allaités comparés à ceux nourris par lait infantile. Les changements hormonaux engendrés par la puberté ou la grossesse mais également les changements liés au vieillissement telles que l'affaiblissement de la quantité salivaire ou la chute de l'activité du système immunitaire sont tout autant de facteurs influents sur la composition du microbiote, au même titre que la présence de dispositif d'orthodontie ou de prothèse dentaire (46). Il existe quatre sites écologiques : la salive, la langue et les muqueuses, le site sous gingival et la plaque dentaire. La salive est la principale provenance de cette colonisation bactérienne mais elle sert également à une partie de son élimination.

Cette cavité orale offre un environnement propice au développement des bactéries. Le genre *Streptocoque* est le plus dominant, notamment *Streptococcus salivarius* et *Streptococcus mitis* (47). Elle offre de la nourriture et des nutriments essentiels à la survie au travers des aliments que nous ingérons, un milieu humide avec de l'eau grâce à la salive ainsi qu'une température idéale pour leur prolifération (45). D'autres organismes peuvent également composer ce microbiote tel que des mycoplasmes, des levures (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*...), des protozoaires (*Entamoeba gingivalis*, *Trichomonas tenax*...) ou des virus comme celui de l'*Herpès Simplex Virus* (45).



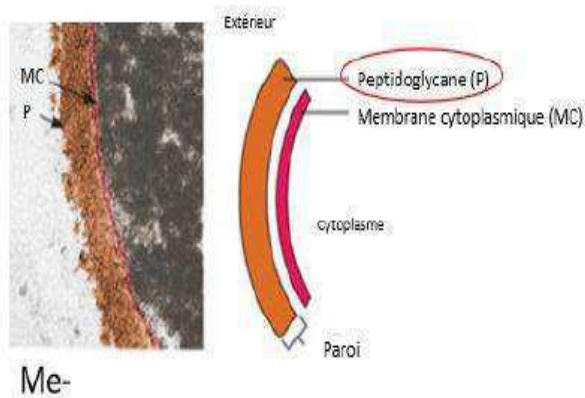
Illustration 19 : Biofilm dentaire sur les dents, Arweiler and Netuschi. The oral microbiota.

Les maladies bucco-dentaires les plus fréquentes sont basées sur le développement d'un certain nombre de bactéries pathogènes, organisées pour la plupart en biofilm. Un biofilm est un écosystème composé de micro-organismes, agissant la plupart du temps de manière coopérative, adhérant entre eux et à une surface immobile. Cette adhésion permet la production d'une matrice, en l'occurrence la plaque dentaire, composée de certains éléments des organismes constituant le biofilm ainsi que de déchets métaboliques protecteurs ou nutritifs (Illustration 19). Le biofilm peut apporter différents bénéfices aux bactéries. Il leur permet de proliférer, d'échapper au système immunitaire, de se protéger de l'environnement et leur confère une résistance aux antibiotiques.

Le développement des maladies infectieuses d'origine bactérienne est dû à un changement concernant la population bactérienne buccale. Un grand nombre des

bactéries commensales de la cavité buccale sont des bactéries à Gram + (Illustration 20). La paroi de ces bactéries est composée en trois parties, visualisables par coloration de Gram. La partie la plus extérieure est une paroi épaisse de 15 à 80 nm constituée de peptidoglycane et d'acides téichoïques et lipoteichoïques ayant un rôle de structure et de maintien. Cette paroi est séparée de la membrane cytoplasmique par un espace périplasmique. Ces bactéries font parties de la flore commensale et sont des marqueurs de santé bucco-dentaire. Lors d'une infection parodontale on retrouve un nombre important de bactéries pathogènes à Gram - (Illustration 20). La paroi de ces bactéries dispose d'une membrane externe faite de phospholipides avec des grandes chaînes de lipopolysaccharides (LPS), un espace périplasmique ainsi qu'une fine couche de peptidoglycane. Ces bactéries sont majoritairement des bactéries anaérobies, mourant lors d'une exposition au dioxygène à teneur atmosphérique et se cachant dans les poches parodontales ce qui les rend plus difficile à déloger. Parmi ces bactéries de la cavité buccale certaines sont anaérobies facultatives et peuvent utiliser le dioxygène à leur avantage pour la respiration aérobie. Elles ont des caractéristiques propres et non pas les mêmes sensibilités aux antibiotiques.

Bactéries à Gram positif



Bactéries à Gram négatif

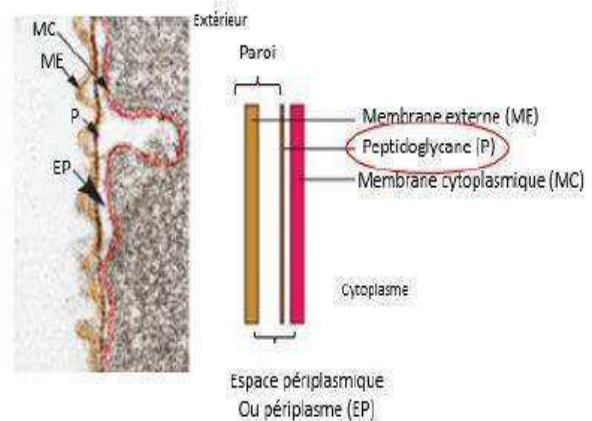


Illustration 20 : Structure de la paroi des bactéries Gram positives et Gram négatives. Université de Bordeaux

On retrouve notamment parmi les bactéries à pathogènes de la cavité buccale :

- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, Gram -, anaérobie facultatif.
- *Porphyromonas gingivalis*, Gram -, anaérobie.

- *Tannerella forsythia*, Gram -, anaérobie.
- *Treponema denticola*, Gram -, anaérobie.
- *Prevotella intermedia*, Gram -, anaérobie.
- *Parvimonas micra*, Gram +, anaérobie.
- *Fusobacterium nucleatum*, Gram -, anaérobie.
- *Campylobacter rectus*, Gram -, microaérophile.
- *Eubacterium nodatum*, Gram +, anaérobie.
- *Eikenella corrodens*, Gram -, anaérobie facultatif.
- *Capnocytophaga spec*, Gram -, anaérobie facultatif.

Socransky a établi en 1998 une classification impliquant les bactéries pathogènes parodontales. Cette classification schématisée permet de définir une organisation des espèces bactériennes bucco-dentaires en groupes appelés complexes (Illustration 21) (48). Ces complexes mettent en évidence la coopération préférentielle de certaines bactéries par rapport à d'autres. Parmi les raisons de telles coopérations on retrouve la possibilité qu'ont certaines bactéries à produire des facteurs de croissance pour les autres, ou à l'inverse un antagonisme empêchant certaines colonies d'évoluer de manière concomitante.

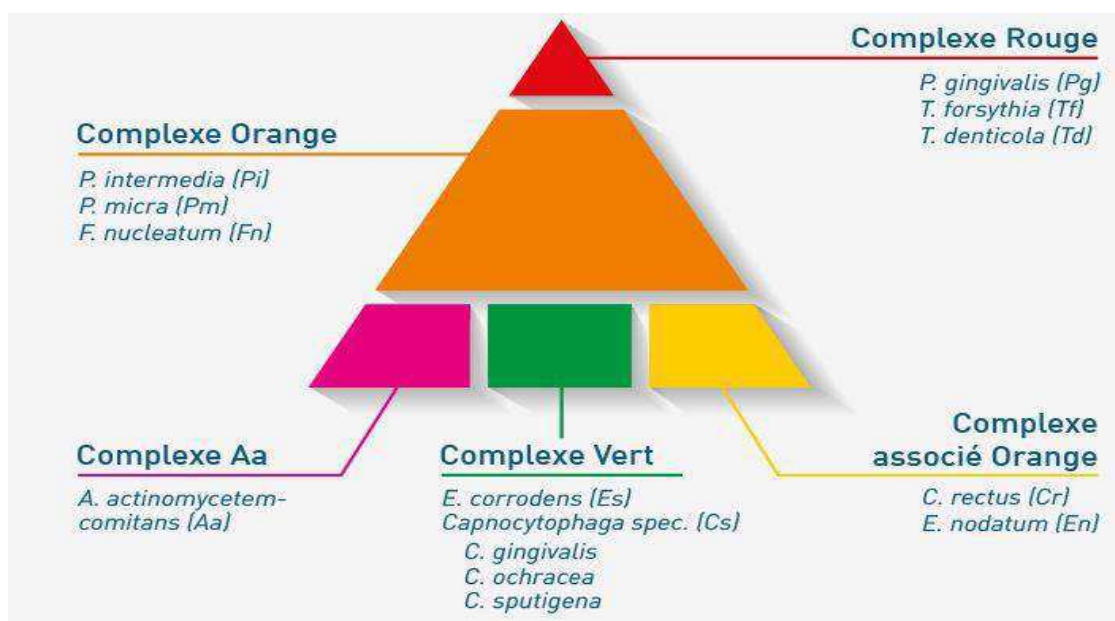


Illustration 21 : Les complexes bactériens parodontaux de Socransky, HAIN Livescience

Le complexe vert et le complexe jaune peuvent se retrouver chez les sujets sains comme chez les sujets atteints. Ces complexes regroupent des colonisateurs précoces formant le point de départ de la colonisation pour d'autres bactéries. Habituellement, un simple traitement mécanique comme le détartrage est requis pour en venir à bout. Le complexe orange a un rôle d'intermédiaire entre les complexes précoces cités précédemment et les germes hautement pathogènes en fournissant aux germes du complexe rouge les métabolites dont ils ont besoin. Le pouvoir pathogène des bactéries de ce complexe orange est également plus marqué, notamment par leur capacité à produire des toxines ou des enzymes. Les bactéries du complexe rouge et du complexe Aa sont synonymes d'une formation bactérienne stable. Elle marque la fin de la phase de colonisation parodontale. Le complexe Aa est uniquement dédié à la bactérie *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. Originellement prévue dans le complexe vert à cause de son apparition précoce, elle est désormais classée à part car elle reste particulièrement pathogène en raison de sa production de redoutables facteurs de virulence tels que des phosphatases, leucotoxines ou facteurs immunosuppresseurs. *Porphyromonas gingivalis* fait partie du complexe rouge, au même titre que *Tannerella forsythia* et *Treponema denticola*. Elles forment un trident particulièrement infectieux et sont les bactéries les plus incriminées dans les parodontites car capables de désagréger les tissus mous comme les tissus osseux.

II.3 Facteurs de virulence de la bactérie *P. gingivalis*

La pathogénicité d'une bactérie peut être due, dans certain cas, à son association synergique avec d'autres bactéries de la flore buccale. Cependant, il est reconnu que *P. gingivalis* a la particularité de produire de nombreux facteurs de virulence lui permettant de coloniser l'espace sous gingival, d'échapper au système immunitaire, de détruire les tissus ou de provoquer des réactions immunodestructrices. Ces particularités font de cette bactérie un cas à part.

II.3.1 Les fimbriaes

Le terme fimbriaes regroupent des appendices protéiques, des filaments fins présents au niveau de la surface extérieure de la bactérie (Illustration 22).

Ce sont des appendices non flagellaires ayant différentes fonctions primordiales pour la bactérie. Elles lui permettent entre autres de se fixer et d'envahir des cellules hôtes, de participer à la formation de biofilm, d'agir dans la motilité cellulaire nécessaire à son déplacement ainsi que dans le transport de protéines et d'ADN au travers des membranes cellulaires.

P. gingivalis exprime deux types de fimbriaes à sa surface :

- Des fimbriaes longs composés d'une protéine appelée fimbrilline codée par le gène fimA. Ces fimbriaes varient en longueur de 0,3 à 3 µm et ont une largeur de 5 nm (49). Les fimbrillines agissent comme adhésines. Cette spécificité facilite grandement l'adhésion aux surfaces ou aux autres cellules présentes. Elles lui permettent notamment d'interagir avec les cellules épithéliales de l'Homme ainsi qu'avec les cristaux d'hydroxyapatite composant l'émail des dents. Les fimbrillines se fixent également la Glycéraldéhyde-3-phosphate déshydrogénase, enzyme nécessaire dans la dégradation du glucose afin de libérer de l'énergie métabolique. Cette enzyme cytosolique est présente à la surface de certaines bactéries colonisatrices précoces de la sphère bucco-dentaire, notamment chez les bactéries du groupe Streptocoque offrant un nouveau point de fixation à *P. gingivalis* (50). Les fimbriae longs présentent une forte hétérogénéité génomique. Le gène FimA peut être classé en six types (I, Ib, II, III, IV, V). De ce fait il existe une pathogénicité différente chez ces fimbriaes. Les génotypes II, Ib et IV de fimA se révélant plus enclin à développer des symptômes infectieux au même titre que pour les réactions inflammatoires. Le génotype II bénéficie d'une plus grande capacité d'adhésion à l'épithélium humain.
- Des fimbriaes courts composés d'homopolymères de protéines codés par le gène mfa1. Ces fimbriaes ne sont visualisables que lorsque les fimbriaes longs sont absents. Elles ont une capacité pro-inflammatoire plus élevée (49).

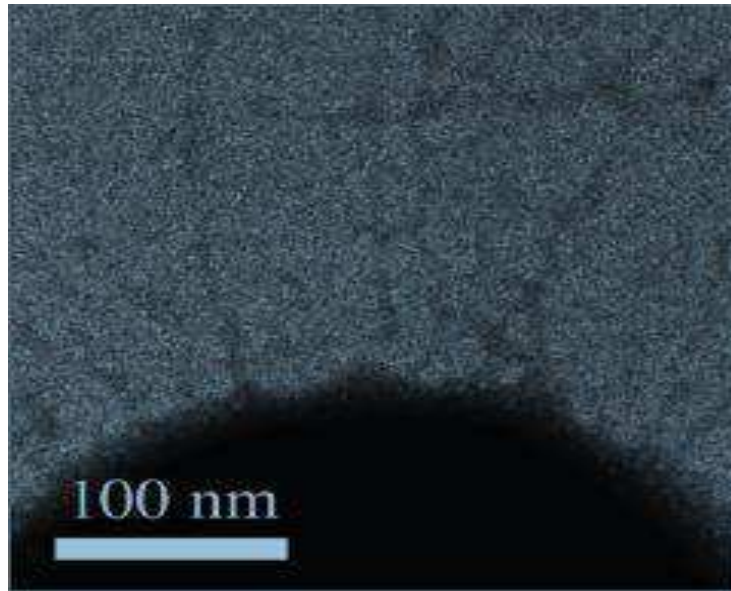


Illustration 22 : Micrographies de *P. gingivalis* après coloration au molybdate d'ammonium et observé sous un microscope électronique à transmission. Les fimbriaes longs et courts sont observables en périphérie. Hasegawa et Muraka
Role of Porphyromonas gingivalis

Le rôle des fimbriaes longs et courts ne s'arrêtent pas un rôle d'amarrage. Les fimbriaes sont également impliquées dans l'inflammation, engendrant entre autres l'érosion osseuse. Cette hausse de la réaction inflammation est liée à l'activation du récepteur Toll like TLR2 et du co-facteur CD14 présents sur les cellules immunitaires, induisant la production de NF- κ B. Ce facteur de transcription augmente la libération de cytokines responsables de l'inflammation, de la résorption et de la nécrose osseuse. De plus, la réponse cellulaire peut également être impactée par la bactérie au travers d'une diminution du niveau d'interféron ou via une action sur le récepteur du complément CR3 présent sur les macrophages (49). Ces phénomènes seront détaillés ultérieurement lorsque nous aborderons l'aspect inflammatoire de l'interaction avec *P. gingivalis*.

II.3.2 Les lipopolysaccharides

Les LPS sont des structures macromoléculaires toxiques. Ils figurent comme l'un des composants principaux de la membrane externe des bactéries à Gram négatif, ayant un rôle déterminant dans le déclenchement de l'inflammation par suite d'une infection bactérienne.

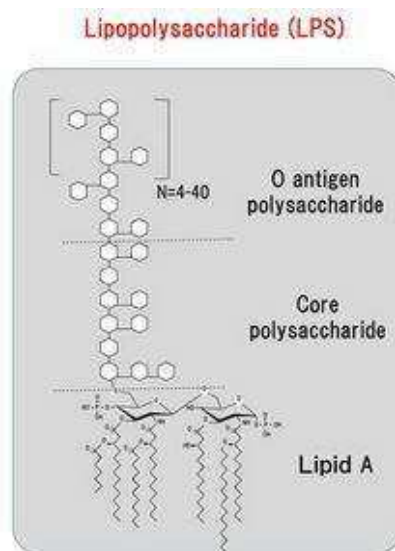


Illustration 23 : Structure d'un lipopolysaccharide. Macrophie.co

Les LPS sont constitués de 3 parties (Illustration 23) : un lipide A, une partie polysaccharidique et une chaîne latérale antigénique terminale appelée chaîne O. La chaîne O est la partie la plus variable et spécifique du LPS (51).

Les LPS ont la capacité d'exciter en permanence les cellules immunitaires de l'hôte. De cette stimulation découle la libération par les monocytes et les macrophages d'interleukine 1- β , cytokine prépondérante dans la riposte immunitaire et inflammatoire. Elle assure notamment l'activation du facteur de transcription NF- κ B. Cette réaction inflammatoire induite permet aux LPS de participer à leur manière à la propagation de phénomènes inflammatoires et de dommages tissulaires. Les LPS ont également la capacité d'inhiber l'expression de la E-Sélectine, protéine permettant la reconnaissance intracellulaire et exprimée par les cellules endothéliales (52). Les LPS de *P. gingivalis* sont dotés d'une particularité propre leur assurant une certaine protection. Ils ont la capacité de pouvoir être à la fois agoniste et antagoniste du complexe CD14/TLR4/MD2 dont les voies d'activation seront détaillées ultérieurement. A l'état physiologique, TLR4 est un récepteur de type Toll permettant d'activer le NF- κ B à la suite de la reconnaissance d'un LPS bactérien. MD2 est un corécepteur membranaire fixant le LPS essentiel pour le fonctionnement de TLR4. *P. gingivalis* utilise à ses fins les activités endogènes de certains lipides A phosphatases pour modifier son LPS, rendant son lipide A immunologiquement indétectable et lui permettant ainsi d'échapper aux réactions immunitaires animées par

ce récepteur TLR4 (52). Le lipide A phosphatase a pour rôle initial de soustraire un ou plusieurs groupements phosphates à une molécule, et son action sur le LPS de *P. gingivalis* serait soumise à la concentration d'hémine. L'hémine est une protoporphyrine IX, molécule à structure cyclique avec une molécule de fer ferrique Fe^{3+} et d'un ligand chlorure Cl^- en son centre (Illustration 24). Elle diffère de l'hème présente dans l'hémoglobine car cette dernière possède un ion ferreux Fe^{2+} à la place du chlore.

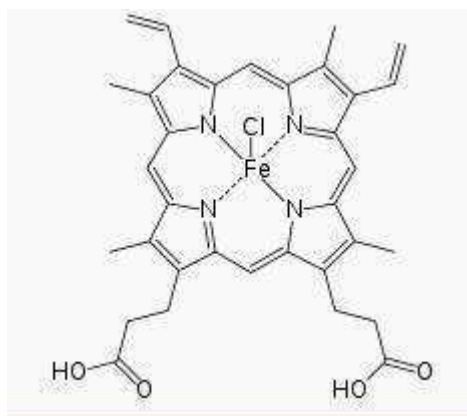


Illustration 24 : Structure de l'hémine

Les souches de *P. gingivalis* ayant été cultivées dans des conditions de faible teneur en hémine produisent un LPS faiblement agoniste constitué d'un lipide A diphosphorylé penta-acylé, tandis que celles cultivées dans des conditions d'hémine élevée produisent un antagoniste du TLR4 portant une structure lipidique A monophosphorylée ou non phosphorylée et tétra-acylée. La quantité d'hémine est augmentée dans la cavité buccale en cas d'inflammation et d'hémorragie. Ce système particulier et unique offre également une résistance pour la bactérie aux peptides antimicrobiens (53). Les LPS provoquent cependant, au même titre que les fimbriae, l'activation des récepteurs TLR2 (54).

II.3.3 Hémagglutinines et acquisition de l'hème

Afin de survivre dans son environnement, *P. gingivalis* utilise certains éléments du corps humain à son avantage pour accentuer sa virulence et favoriser sa croissance. Pour se faire, la bactérie a recouru à l'hème et à l'hémine qu'elle prélève notamment dans les globules rouges ou dans les hémoprotéines présentes dans la salive et qu'elle est incapable de synthétiser d'elle-même. La bactérie emmagasine un pigment à sa surface appelé oxobishème contenant de l'hème et de l'hémine (55). Cette particularité qu'à *P. gingivalis* de

pouvoir fixer ce pigment est une caractéristique unique parmi l'ensemble des bactéries existantes. En plus d'être une source de fer, cette couche de pigments offre un mécanisme unique de résistance au stress oxydatif. D'une part, elle protège la bactérie en inactivant le peroxyde d'hydrogène produit par les neutrophiles lors de la réaction inflammatoire et qui pourrait lui être nocif. D'autre part, l'hème présent à la surface est capable de fixer l'oxygène présent afin de maintenir la bactérie dans un environnement anaérobie nécessaire à sa survie car *P. gingivalis* est une bactérie anaérobie stricte (56).

On nomme « hémagglutinines » les glycoprotéines responsables de l'attache de l'hème à la surface de la bactérie. Généralement, elles possèdent plusieurs sites de fixations pour les érythrocytes. Une partie de l'activité hémagglutinante de *P. gingivalis* est liée à l'activité des fimbriaes. Cependant de nombreuses autres hémagglutinines distinctes des fimbriaes sont également présentes. On dénombre cinq variétés d'hémagglutinines, codées par les gènes hagA, hagB, hagC, hagD, et hagE.

Un excès d'hème et d'hémine est cependant nocif pour la bactérie, perturbant le bon déroulement de sa croissance. Les gingipaïnes, dont la description sera faite plus en détails, permettent à *P. gingivalis* de les dégrader si besoin notamment pour empêcher tout effet pro-oxydant médié par le complexe fer-protoporphyrine IX (56).

II.3.4 Les vésicules de la membrane externe

Les vésicules sont des extensions de la membrane externe de la bactérie, relâchées en grand nombre dans le milieu extérieur (Illustration 25).

Toutes les souches de *P. gingivalis* sont aptes à produire des vésicules. Elles servent à interagir avec l'environnement mais également à agrandir sa zone de contamination. Les vésicules assurent la propagation de ses éléments pathogènes, notamment ses enzymes. Elles contribuent grandement à la propagation de l'inflammation mais favorisent aussi les dégâts causés sur les cellules hôtes. Les vésicules sont des nanostructures variant en taille de 50 à 300 nm et sont constituées d'une seule membrane bicouche asymétrique dérivée de la membrane externe. La couche interne est composée de phospholipides tandis que la couche externe est composée d'un lipopolysaccharide (57).

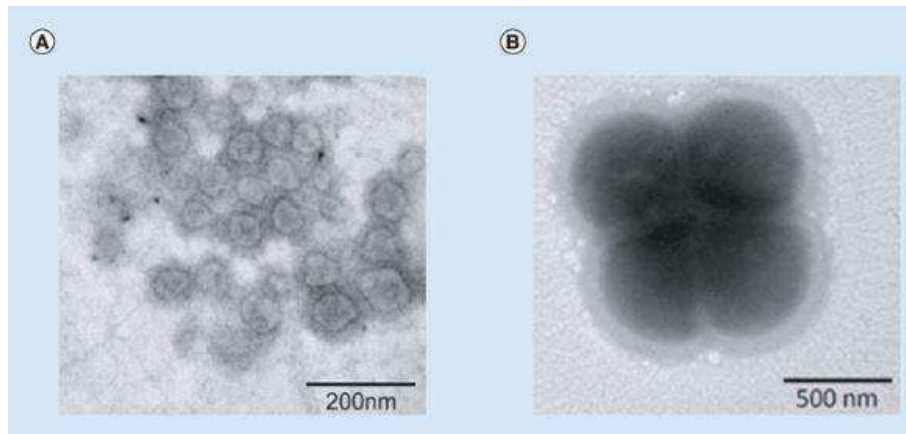


Illustration 25 : Vésicules de Porphyromonas gingivalis observées en microscopie électronique à transmission après coloration négative à différents grossissements. On y observe les vésicules purifiées avec une membrane unique entourant les structures sphériques. XIE H.

Les vésicules offrent de nombreux avantages à *P. gingivalis* en agissant notamment comme leurres (57). L'assimilation de l'hème est sous la dépendance des lipoprotéines HmuY et IhtB présentes à la surface des vésicules (58). La pénétration des vésicules dans les tissus gingivaux engendre une réaction inflammatoire, favorise la dégradation des tissus, empêche la cicatrisation et accélère l'hémorragie. Ces phénomènes libèrent de l'hème qui sera capté par les vésicules. Ces dernières, en revenant sur le biofilm, vont alimenter *P. gingivalis* en hème tout en fournissant des nutriments nécessaires au bon fonctionnement des autres bactéries présentes (58). Elles favorisent la coagrégation des différentes bactéries sur le biofilm et contribuent à la formation de ce dernier. Les vésicules de *P. gingivalis* sont porteuses de gingipaïnes, dont les activités essentielles à la virulence et à la survie seront décrites plus tard.

II.3.5 La capsule

Depuis de nombreuses années, l'encapsulation microbienne est reconnue comme un système efficace protégeant les bactéries des défenses immunitaires de l'hôte (59). Cette capsule est constituée d'une enveloppe polysaccharidique encerclant la paroi de la bactérie. L'apparence et l'épaisseur de la capsule peut varier suivant les souches, cependant celle de *P. gingivalis* reste moins dense que les autres bactéries à pigmentation noire.

En protégeant les composants de la surface microbienne des mécanismes immunitaires comme l'opsonisation, l'encapsulation à un effet sur la promotion de la virulence d'un micro-organisme en prolongeant sa survie. Les souches de *P. gingivalis* disposent d'une grande hétérogénéité et contrairement aux souches non encapsulées, les souches capsulées augmentent la production de protéines suppresseurs de la signalisation des cytokines SOCS 1 et SOCS 3 (60). Les protéines SOCS, en particulier SOCS1 et SOCS3, sont exprimées par les cellules immunitaires et notamment par les cellules du système nerveux central. Elles ont un rôle prépondérant sur les processus immunitaires en diminuant la production de cytokines inflammatoires, en inactivant les cellules de la microglie, les macrophages et les astrocytes ainsi qu'en modulant à la baisse la réponse cellulaire aux cytokines et aux facteurs de croissance. Ces sont des protéines anti-inflammatoires dont la surexpression favorise la pérennité bactérienne.

II.3.6 Les enzymes

II.3.6.1 Les cystéines protéases, rôle majeur des gingipainés

P. gingivalis produit un ensemble unique de protéases. Leurs présences sont impératives d'un point de vue nutritionnel lors de la croissance assacharolytique de la bactérie. De même, ces protéases contribuent à l'évasion du système immunitaire de l'hôte ou à l'érosion de la matrice extracellulaire. Les protéases sont des enzymes coupant la liaison peptidique présente entre 2 acides aminés d'une même chaîne polypeptidique. Leur fonction majeure est de dégrader les protéines en peptides qui serviront de nutriments à la bactérie. La disponibilité de peptides est primordiale pour la croissance de *P. gingivalis* assacharolytique qui s'en sert comme source de carbone et d'azote. Les cystéines protéases sont des peptidases dont le résidu d'acide aminé nucléophile de la triade catalytique est une cystéine. Il existe une forte variété de protéases chez *P. gingivalis*, cependant la majeure partie de cette activité protéolytique dépend des agissements d'un certain type de cystéines protéases, les gingipainés. Les gingipainés sont soit ancrées à la membrane externe de la bactérie soit libres et solubles.

Il existe deux principales variétés de gingipaïnes :

- Les arginines-gingipaïnes 1 et 2, codées par les gènes RGP-1 et RGP-2, permettant d'hydrolyser des peptides avec une arginine en position terminale.
- Les lysine-gingipaïnes, codées par le gène KGP, permettant d'hydrolyser des peptides avec une lysine en position terminale.

Les gingipaïnes, en plus des fimbriaes, jouent un rôle prépondérant dans l'adhérence et la colonisation de la bactérie. Ce sont des puissantes adhésines capables de se lier à divers éléments comme le fibrinogène ou le collagène. Au niveau de la sphère buccale, elle se lient notamment aux cellules épithéliales et aux fibroblastes gingivaux. De plus, la dégradation de protéines de la matrice extracellulaire par les RGP expose des peptides avec une arginine en position terminale pour lesquels les long fimbriaes présentent une affinité préférentielle (61).

Les gingipaïnes sont des enzymes perturbant en de nombreux points les défenses de l'hôte. Elles permettent l'activation ou l'inactivation de cytokines inflammatoires, perturbent les voies du complément ainsi que l'action des cellules permettant la phagocytose. Entre autres, les peptides antimicrobiens cationiques sont dégradés efficacement par les gingipaïnes assurant ainsi une protection contre les défenses immunitaires de l'hôte (62). L'ensemble des perturbations du système immunitaire provoqué par la bactérie sera décrit ultérieurement. Les gingipaïnes influent également sur les récepteurs PAR2. Les récepteurs activés par les protéases PAR sont exprimés par une grande variété de cellules notamment les ostéoblastes, les cellules immunitaires, les cellules épithéliales et endothéliales. Ils sont activés par clivage protéolytique à l'extrémité N-terminale et de ce fait sont les cibles des gingipaïnes RGP qui peuvent ainsi influencer sur certaines fonctions telles que l'hémostase, la thrombose, la régulation de la perméabilité vasculaire ou la résorption osseuse décrite plus tard (63).

Nous avons vu précédemment que le contexte hémorragique était nécessaire pour *P. gingivalis* afin de libérer des globules rouges contenant de l'hème et de l'hémine pour sa survie. Les gingipaïnes jouent un rôle essentiel de ce phénomène au travers de l'activation du système kinine-kallikréine ainsi qu'en dégradant le fibrinogène et la fibrine.

Activation du système kinine-kallikréine :

Le système kinine-kallikréine est un système important en de nombreux points. Il assure le contrôle de l'inflammation, de la pression sanguine, de la coagulation et de la douleur. Ses principaux médiateurs sont la bradykinine et la kallidine (Illustration 26).

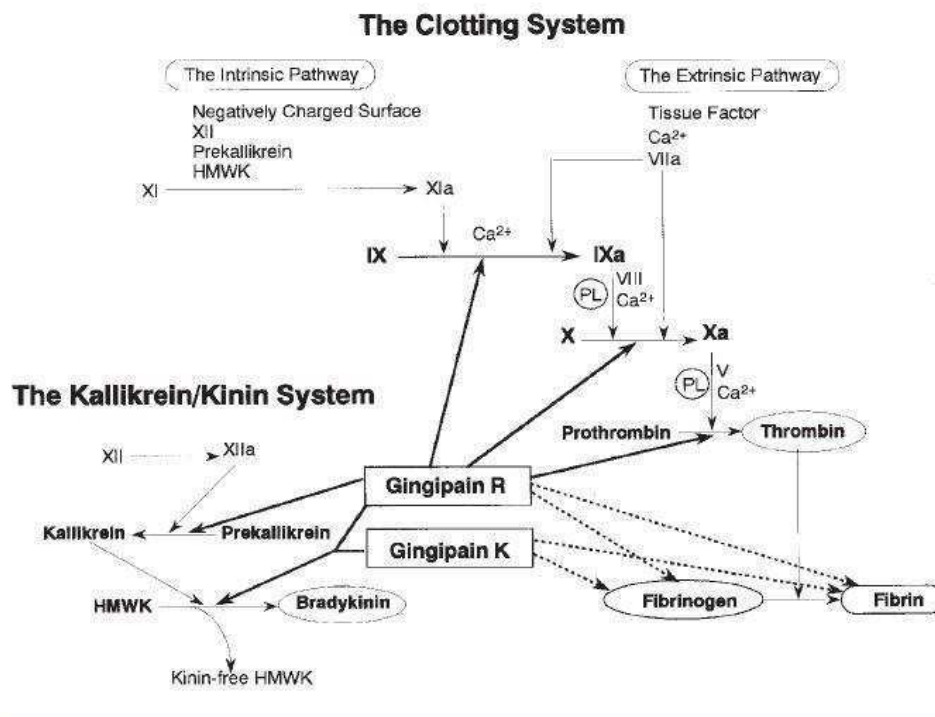


Illustration 26 : Cibles des gingipaïnes dans le système kinine-kallikréine et dans la coagulation sanguine. Takahisa Imamura Activation of blood coagulation factor IX by gingipains R, arginine-specific cysteine proteinases from *Porphyromonas gingivalis* (63)

La kallikréine est une molécule convertie à partir de la pré-kallikréine via l'action du facteur de coagulation XIIa. Par la suite elle est dégradée en bradykinine qui contribue à la perméabilité des vaisseaux sanguins. Les gingipaïnes entretiennent la production de kallikréine et de bradykinines lors de l'infection, déclenchant de ce fait une importante augmentation de la perméabilité vasculaire et la formation d'œdème. La bradykinine ainsi produite favorise une libération accrue de prostaglandine, médiateur impliqué dans la résorption osseuse par les ostéoclastes. Ces deux phénomènes permettent aux gingipaïnes de générer en continu des nutriments nécessaire à la croissance bactérienne et à sa virulence (63).

Activation de la coagulation sanguine, dégradation du fibrinogène et de la fibrine :

La formation de caillots sanguins est rendue possible par la mise en place de la coagulation sanguine. L'activation du système de la coagulation sanguine génère la formation de thrombine, un puissant activateur plaquettaire transformant le fibrinogène en caillot de fibrine capable de revêtir les vaisseaux endommagés pour stopper l'hémorragie. La thrombine favorise également la perméabilité vasculaire et induit la chimiotaxie leucocytaire.

Les gingipaïnes sont des enzymes capables d'activer les facteurs de coagulation IX et X ainsi que la prothrombine. Cependant, elles dégradent également le fibrinogène et la fibrine diminuant ainsi la formation de caillot (Illustration 26). Cette dégradation augmente le temps de coagulation et favorise les hémorragies au niveau des sites parodontaux (63).

II.3.6.2 La dipeptidyl peptidase-4 (PgDPP4)

Une de des protéases particulières de *P. gingivalis* est la protéine dipeptidyl peptidase-4 codée par le gène DPP4. Cette enzyme est localisée au niveau de la surface de la bactérie. Plus communément appelée PgDPP4, c'est une sérine protéase coupant les peptides avec une proline ou une alanine en position N-terminale. Considérée comme peu spécifique car disposant d'un large choix de substrats, elle demeure particulièrement virulente. Elle a la capacité de dégrader des peptides actifs tels que des chimiokines ou des neuropeptides et favorise tout aussi bien l'activation de lymphocytes T (64).

La PgDPP4 interfère aussi avec certaines protéines issues de la matrice extracellulaire telles que la fibronectine et le collagène. La dégradation du collagène est également favorisée par l'activation des métalloprotéases matricielles à la suite du déclenchement de la réponse inflammatoire de l'hôte. Il a été déterminé que l'expression de DPP4 engendre une meilleure capacité de formation du biofilm chez la bactérie et lui octroie un plus grand pouvoir infectieux chez un modèle d'abcès de souris (64).

II.3.6.3 La prolyl tripeptidyl-peptidase A (PgPTPA)

La PgPTPA est une enzyme spécifique de *P. gingivalis*. Cette enzyme peut cliver les tripeptides N-terminaux des substrats lorsque ces derniers contiennent un résidu proline à leur position terminale. Elle s'attaque à de petites protéines et peut relâcher des tripeptides. Parmi ces cibles on retrouve l'interleukine-6 ou la cystatine C (65).

La PgPTPA est une sérine protéase. Elle est présente à la surface de la bactérie et est déterminante pour le fonctionnement de cette dernière. Elle est le fruit d'une évolution chez la bactérie. Normalement, les résidus proline situés en position terminale sont particulièrement difficile à atteindre et à cliver à cause de leur structure particulière. La possibilité offerte à la bactérie de pouvoir utiliser ces acides aminés grâce à cette enzyme est un énorme bénéfice d'un point de vue nutritionnel. Les fragments de collagène sont totalement dégradables par l'activité de cette PgPTPA. Le ligament parodontal étant majoritairement composé de collagène de type I, sa dégradation conduit à l'altération dentaire et à la formation de poches parodontales.

II.3.6.4 La superoxyde dismutase

Une infection chronique, comme celle induite par *P. gingivalis*, est génératrice d'un important niveau de stress oxydatif et de production d'éléments pro-oxydants. Cette production menace l'intégrité cellulaire en entraînant des dommages sur les protéines, les lipides et l'ADN comme décrit précédemment.

La bactérie, anaérobie strict, a dû s'adapter pour survivre à un environnement à la fois exposé à l'oxygène mais également à la production d'espèces réactives à l'oxygène provenant des cellules immunitaires. Elle bénéficie de nombreux mécanismes lui permettant de résister à ce stress oxydatif et possède également d'excellents processus de réparation de l'ADN lui permettant de réparer les dommages et lésions délétères. Toutefois, les mécanismes de réparations de l'ADN de *P. gingivalis* sont encore mal connus mais ils lui permettraient de réparer efficacement les principaux dommages, notamment la modification de la guanine en 8-oxoguanine qui est l'une des lésions les plus courantes (66).

P. gingivalis possède une enzyme particulière, la superoxyde dismutase, la protégeant des ERO. La superoxyde-dismutase est une oxydoréductase dégradant les anions superoxydes potentiellement néfastes en oxygène et peroxyde d'hydrogène ce qui lui octroie une certaine aéro-tolérance, lui permettant de résister aux ions superoxydes. De plus, la bactérie produit des protéines antioxydantes, ayant comme substrat le peroxyde d'hydrogène toxique. Parmi ces protéines on retrouve l'alkyl hydro peroxyde réductase C AhpC, la protéine BCP de la famille des peroxyrédoxines ou d'autres peroxydases comme Tpx et Rbr (66).

II.4 Internalisation cellulaire et survie

P. gingivalis possède certaines aptitudes pour se fixer aux différentes cellules de l'épithélium humain. Les capacités d'adhérence de *P. gingivalis* font appel à une grande diversité d'éléments tels que les fimbriaes, les protéases, les hémagglutinines ou les LPS.

Ce sont les intégrines, molécules transmembranaires présentes sur les cellules épithéliales, qui semblent avoir un des rôles les plus importants dans la fixation mais également dans la pénétration cellulaire de *P. gingivalis*. Les intégrines sont des récepteurs d'adhésions cellulaires constituées de deux sous unités α et β . Elles se lient aux éléments qui constituent le milieu extracellulaire ainsi qu'aux microfilaments d'actine qui sont des protéines ubiquitaires indispensables à l'architecture cellulaire et à la réalisation de mouvements. Elles permettent à la cellule épithéliale de s'ancrer aux composants du milieu extracellulaire mais offrent également l'opportunité de réaliser des interactions entre deux cellules. Les agents microbiens vont avoir tendance à se fixer sur ces intégrines. Les fimbriaes de *P. gingivalis* s'accrochent notamment aux sous-unités $\beta 1$ et $\alpha 5\beta 1$ des intégrines au niveau des cellules épithéliales de la gencive (67).

Comme évoqué précédemment, les gingipaïnes influencent elles aussi l'adhésion de la bactérie à la cellule hôte. Elles permettent à *P. gingivalis* de se lier directement à la cellule hôte ou de découvrir des récepteurs cachés cryptiques dit « cryptitopes ». Ces récepteurs formés de segments de protéines sont exposés par suite d'un changement conformationnel pouvant être initié par une activité enzymatique, notamment par les protéases gingipaïnes (68). La présence de ces enzymes dans la salive favorise ainsi fortement la liaison de la bactérie aux cellules épithéliales gingivales.

A la suite de cette interaction, *P. gingivalis* est internalisée par les cellules épithéliales orales. Une fois attachée, il s'en suit la formation d'une invagination membranaire qui entoure et internalise la bactérie par endocytose (Illustration 27). Pour permettre son internalisation, les cellules hôtes subissent des réarrangements au niveau de la conformation du cytosquelette d'actine, favorisée notamment grâce à la production par la bactérie d'une phosphosérine phosphatase SerB qui régule la dynamique des microtubules et agit sur la structure cytosquelettique (69). D'autres éléments sont également concernés, parmi lesquels on retrouve une forme de manipulation des radeaux lipidiques mais également la perturbation de la polymérisation de l'actine ainsi que la synthèse par la cellule hôte de protéines actives détournées par la bactérie. Pour finir, il est possible que la bactérie puisse également utilisée la voie de recyclage endocyttaire pour quitter les cellules colonisées et retourner dans le milieu extracellulaire (70).

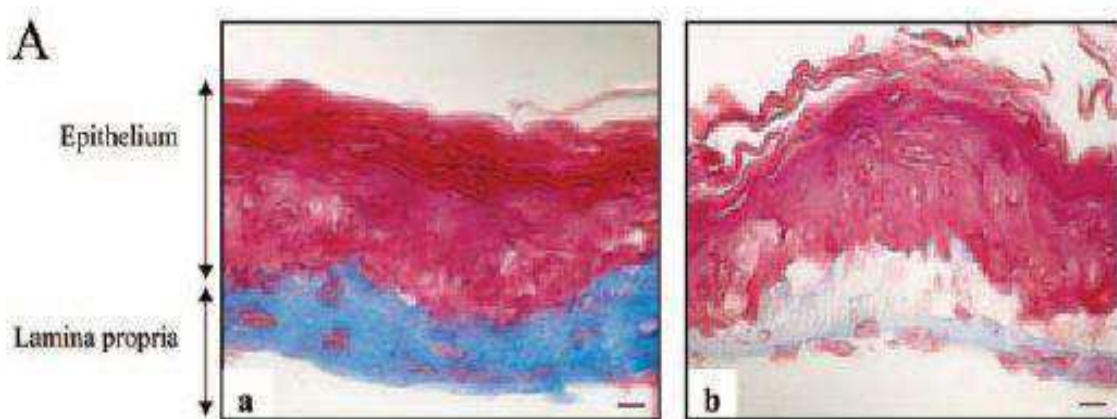


Illustration 27 : Muqueuse épithéliale d'un patient sain (a) vs Invasion et endocytose de la bactérie *P. gingivalis* (b). Andrian et al. *Epithelial Cell Interactions in Periodontitis Porphyromonas gingivalis*

Il y a un intérêt pour *P. gingivalis* à pénétrer les cellules épithéliales. *P. gingivalis* peut tout à fait migrer à travers la membrane basale de la cellule épithéliale afin de rejoindre le tissu conjonctif ou se propager de cellule en cellule. Cette diffusion se fait au travers des ponts de cytosquelettes d'actine sans provoquer de mort cellulaire et lui permet d'échapper au système immunitaire (70). Une fois internalisée, la bactérie ne meurt pas et conserve sa capacité à se multiplier en permettant à la cellule infectée de développer une certaine résistance à l'apoptose. Lors d'une infection, les cellules infectées libèrent classiquement de l'ATP extracellulaire (eATP) agissant comme signal d'avertissement pour les

macrophages et stimulant la production de ERO. Pour contrer ce phénomène, la bactérie utilise une Nucléoside Diphosphate Kinase (Ndk) qui peut consommer l'eATP rendant ce mécanisme inefficace (71). La dysfonction de ce mécanisme contrecarre ainsi l'élimination bactérienne. Cependant, c'est sa capacité à augmenter la production de molécule anti-apoptotique B-cell lymphoma 2 (BCL-2) qui lui confère un réel pouvoir d'inhibition de l'apoptose (72).

II.5 Généralité sur les mécanismes de l'immunité induite après une infection par un organisme bactérien

En réponse à l'invasion d'un élément pathogène, les mécanismes immunitaires de l'hôte vont se mettre en route. Ces mécanismes répondent à différents stimuli initiés par des éléments pathogènes qui seront reconnus par les cellules immunitaires afin de déclencher des réactions de défense.

P. gingivalis possède des mécanismes d'échappement au système immunitaire qui entraînent une réponse continue, inadaptée et responsable de la chronicité de l'inflammation. Initialement, le système immunitaire est censé protéger l'hôte contre la colonisation, l'invasion et l'internalisation des bactéries mais également contre le développement de réaction inflammatoire non désirée. Pour survivre chez l'Homme, *P. gingivalis* doit réussir à esquiver le système immunitaire dans un environnement inflammatoire. Sa survie dépend en grande partie de sa capacité à manipuler les réponses immunes de l'hôte afin de supprimer les mécanismes de destruction mais pas ceux de l'inflammation. L'inflammation répond à de nombreux besoins chez les bactéries assacharolytiques en libérant des produits de dégradation tissulaire tels que des peptides ou de l'hème qui lui serviront de sources d'énergie.

II.5.1 L'immunité innée

Lorsque les pathogènes réussissent à passer les barrières physiques et chimiques de l'hôte un premier mécanisme se met en place, celui de l'immunité innée. Ce système permet à l'organisme de combattre les agents infectieux de façon immédiate. Ce processus est rapide, efficace, non spécifique et n'engendre pas de mémoire pour une seconde infection.

Il existe une grande variété de cellules impliquées dans l'immunité innée telles que les mastocytes, les éosinophiles, les cellules responsables de phagocytoses comme les neutrophiles, macrophages ou encore les cellules dendritiques.

Les agents pathogènes expriment des motifs particuliers appelés pathogene associated molecular patterns (PAMPS) tels que les LPS bactériens de la membrane permettant aux cellules immunitaires de les reconnaître. Ces PAMPS sont reconnus par des récepteurs présents sur les cellules immunitaires nommées pattern recognition receptors PRR, et dont les récepteurs Toll like TLR font partis. Les PRR reconnaissent également certains motifs appelés Dommage associated molecular patterns (DAMPs) exprimés par les cellules de l'hôte lorsqu'elles subissent une infection ou lorsqu'elles sont confrontées à un problème. La stimulation des PRR entraîne une cascade de signalisation dans la cellule aboutissant à l'activation de facteurs de transcription réprimant ou activant l'expression de certains gènes. Parmi ces facteurs de transcription on retrouve NF- κ B et l'Activator protein 1 (AP-1) à l'origine de la production d'éléments pro-inflammatoires. Certaines chimiokines, comme l'interleukine 8, sont ainsi produites et permettent de recruter des neutrophiles et des lymphocytes T sur le lieu d'infection.

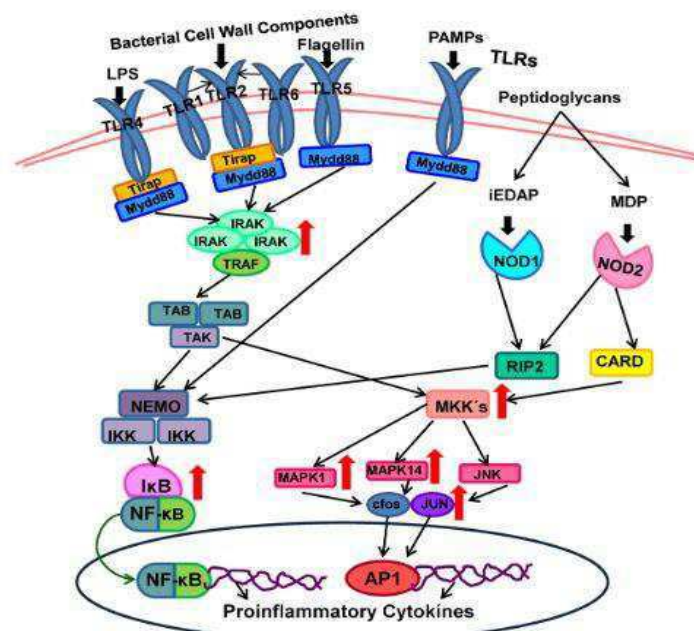


Illustration 28 : Voies de signalisation activées par les récepteurs TLR. Sabine Groeger et al. *Porphyromonas gingivalis* activates NF κ B and MAPK pathways in human oral epithelial cells (73)

Les formes non internalisées de *P. gingivalis* sont d'importants facteurs de stimulation des cellules immunitaires, notamment celles exprimant les récepteurs Toll like. Lors de la confrontation entre la bactérie et la cellule immunitaire, les récepteurs vont reconnaître les différents éléments bactériens et de cette reconnaissance va découler une cascade de signalisation dans la cellule permettant le déclenchement de la réponse immunitaire. Une partie de cette cascade fait appel aux mitogen-activated protein kinases (MAPK) appelées également MKK. Les MAPK sont des protéines kinases essentielles à la transmission des signaux cellulaires au noyau. Les MAPK comprennent entre autres la kinase c-Jun N-terminal (JNK), les Extracellular signal-regulated kinases (ERK) et la protéine p38. Ces protéines agissent en mobilisant le facteur de transcription AP-1 situé dans le noyau qui est l'un des points de départ de la réaction inflammatoire. En plus d'agir sur les MAPK, cette cascade active également la phosphorylation de l'inhibiteur de kB (I κ B). Une fois phosphorylé I κ B ne peut plus lier le facteur de transcription NF-kB qui va pouvoir se libérer et pénétrer dans le noyau afin de participer comme AP-1 à la génération d'éléments pro-inflammatoires (Illustration 28) (73).

La destruction de l'agent pathogène passe par différents phénomènes. Un des principaux est la phagocytose consistant en la reconnaissance puis l'internalisation, la digestion et l'élimination des déchets du pathogène. La phagocytose entraîne la production d'éléments pro-inflammatoire ainsi que des phénomènes d'explosions oxydatives engendrés par certaines cellules comme les polynucléaires neutrophiles libérant des ERO qui sont cytotoxiques. D'autres cellules comme les lymphocytes Natural Killer (NK) ou les lymphocytes T $\gamma\delta$ participent à ces phénomènes de destruction.

Le système du complément est également un élément important du système immunitaire inné (Illustration 29). Ce système est composé de 35 protéines et peut être activé par 3 voies, la voie classique, la voie alterne et la voie des lectines. Un certain nombre de ces protéines sont impliqués dans la lutte contre les agents pathogènes au travers de la cytolysse, l'opsonisation, l'élimination des complexes immuns ainsi que dans la régulation immunitaire. Les principales protéines sont notées de C1 à C9. Les protéines sont produites en permanence sous forme inactive, et s'activent par clivage ou polymérisation entre elles ou avec d'autres protéines. Cette activation se fait en cascade. Les enzymes capables au niveau des protéines du complément de libérer des peptides actifs sont

appelées convertases. C'est une voie très rapide et régulée influençant la réponse inflammatoire notamment via ses éléments C3a, C4a et C5a qui sont des anaphylatoxines, des peptides médiateurs de l'inflammation.

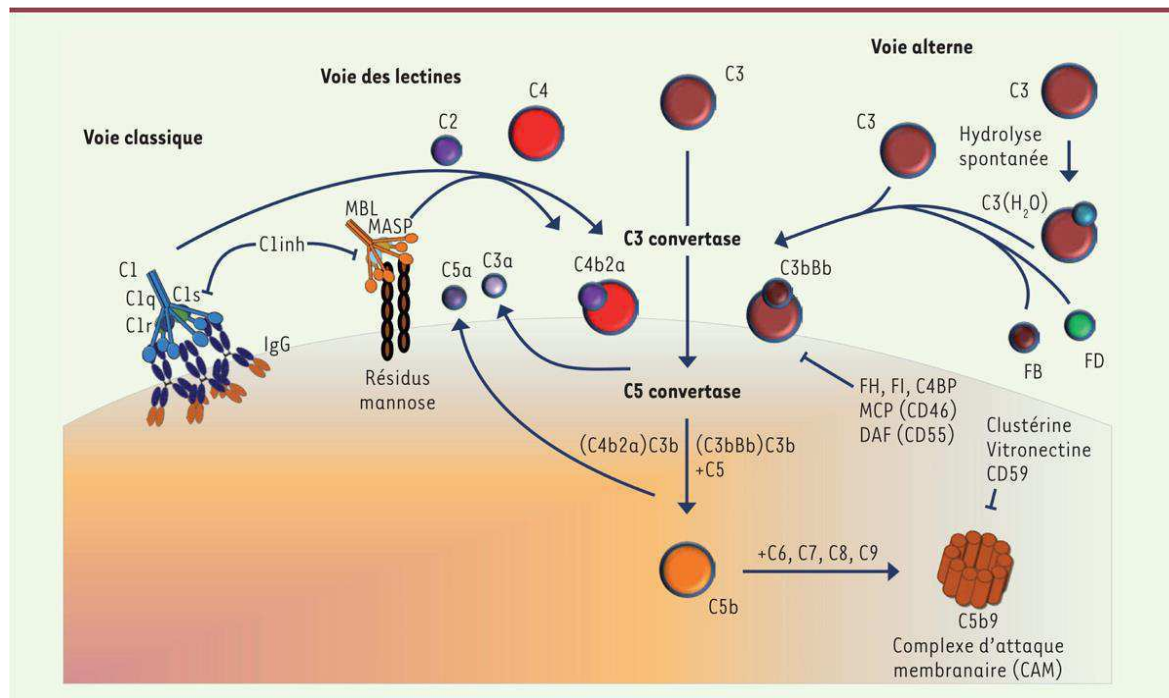


Illustration 29 : Le système du complément. M Daugnan et al. Le système du complément : Une épée à double tranchant dans la progression tumorale.

II.5.2 Influence de *P. gingivalis* sur le système immunitaire inné

La bactérie a l'avantage de pouvoir échapper au système immunitaire sans inhiber la totalité de la réponse de l'hôte. Cette faculté qui lui est propre lui facilite l'obtention de nutriments mais lui permet également d'infliger des lésions au niveau des tissus parodontaux. Pour se faire, elle interagit avec différents éléments signalétiques tels que les récepteurs TLR2 et TLR4, le récepteur du complément ou les récepteurs des anaphylatoxines.

II.5.2.1 Induction de la voie TLR2 et détournement du complément

Nous avons déjà évoqué les capacités hors norme du LPS de *P. gingivalis* lui permettant à la fois d'être un antagoniste puissant ou un agoniste léger du récepteur TLR4 en fonction

de sa conformation. Ce procédé particulier permet au pathogène de s'échapper ou d'enrayer un important ensemble de fonctions antimicrobiennes en lien avec le récepteur TLR4. *P. gingivalis* libère également des vésicules composées de son LPS capables de se diffuser, notamment au niveau des crevasses ou dans les tissus gingivaux. Ces vésicules peuvent accrocher une forte quantité d'IgA et permettent à la bactérie de continuer sa prolifération à l'abri du système immunitaire. L'inhibition de TLR4 participe aussi à l'accroissement d'autres colonies de bactéries présente sur le biofilm. Contrairement au TLR4, *P. gingivalis* ne peut pas antagoniser le récepteur TLR2. Toutefois, cette bactérie a développé des mécanismes détournant ce récepteur à son avantage.

Par suite de l'activation par *P. gingivalis*, TLR2 induit deux signaux distincts :

- La première voie dépend de la protéine universelle MyD88. C'est une voie classique dont l'aboutissement permet de libérer le facteur NF- κ B déjà évoqué auparavant (74).
- La seconde voie est une voie pro adhésive. L'activation du TLR2 va animer certains éléments du macrophage qui sont la GTPase Rac1, la phosphoinositide 3-kinase et la cytohésine 1. De ces activations découle l'expression accrue du récepteur 3 du complément à la surface de la cellule immunitaire. Ces phénomènes vont favoriser la liaison de *P. gingivalis* à la cellule car ses fimbriaes possèdent une affinité particulière pour le CR3 et de se fait vont inciter le macrophage à phagocyter la bactérie. Toutefois, la phagocytose qui s'en suit ne conduit pas à la mort de *P. gingivalis*. Elle favorise au contraire sa persistance intracellulaire dans le macrophage (74).

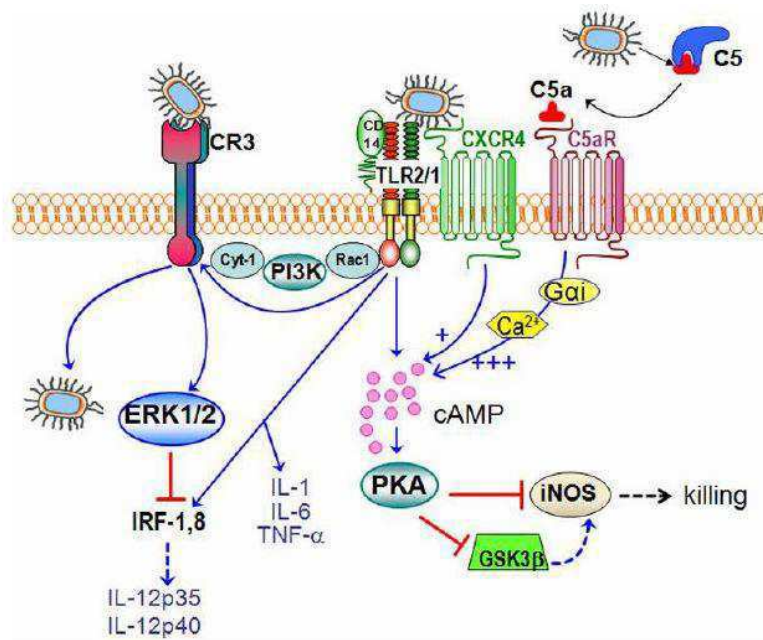


Illustration 30 : Utilisation de TLR2 et de la voie du complément par *P. gingivalis*. George Hajishengallis. *Immune Evasion Strategies of Porphyromonas gingivalis* (74)

Les gingipaïnes sont primordiales pour la survie de la bactérie dans ces cellules (Illustration 30). En effet, les gingipaïnes de *P. gingivalis* interviennent au niveau de la cascade du complément. Leur action est similaire à celle d'une C5 convertase-like et lui permet de produire des anaphylatoxines C5a actives qui sont des médiateurs primordiaux de l'inflammation. A l'état physiologique, C5a favorise la protection de l'hôte en permettant notamment le recrutement chimiotactique et l'activation des leucocytes.

Cependant, la liaison de C5a sur son récepteur à la surface du macrophage à une conséquence plus néfaste que prévue. Elle stimule une signalisation intracellulaire au calcium Gai-dépendante qui va avoir une action particulière. Cette signalisation améliore considérablement la réponse de l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), normalement faiblement induite par la voie TLR2 lors d'une sollicitation par *P. gingivalis*. En conséquence de cette production d'AMPC, on observe l'activation de la protéine kinase A dépendante de l'AMPC. Cette protéine kinase va à son tour inactiver la glycogène synthase kinase-3β et entraver la destruction de *P. gingivalis* par l'oxyde citrique dans les macrophages (74). Cet enchaînement séquentiel permet à la bactérie de survivre dans les macrophages, et lui octroie en plus la possibilité de circuler vers les tissus systémiques à

l'intérieur de ces cellules immunitaires. Enfin, l'internalisation de *P. gingivalis* diminue la production d'interleukine 12, cytokine responsable entre autres de la différenciation des lymphocytes T naïfs en LTh1, de la production d'interféron gamma ainsi que de TNF α par les cellules NK. Cela permet également le développement d'autres bactéries présentes dans le microbiote buccal (75).

II.5.2.2 Manipulation des neutrophiles

Les neutrophiles sont les globules blancs les plus abondants dans la crevasse gingivale et la poche parodontale. Ils jouent un rôle essentiel dans la réponse immunitaire innée et dans la préservation des tissus parodontaux. Ce sont des phagocytes efficaces pour éliminer les pathogènes. Une fois leur action de phagocytose accomplie, les neutrophiles subissent l'apoptose, permettant de réguler l'inflammation. Il existe une forte mobilisation des neutrophiles dans les cas de parodontite et leur apoptose, qui est sous le contrôle du facteur stimulant le granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) est fortement diminuée. Ces phénomènes sont liés à *P. gingivalis* qui réussit à surmonter la destruction des neutrophiles afin de maintenir un certain niveau d'inflammation (Illustration 31).

La sérine phosphatase produite par *P. gingivalis* est notamment capable de moduler la réponse inflammatoire. Cette dernière empêche la production d'Interleukine-8 en déphosphorylant la sérine S536 de la sous-unité p-65 de NF- κ B. Le gradient chimiotactique induit par l'interleukine-8 est ainsi bloqué. Normalement, il permet le recrutement des cellules phagocytaires sur le lieu de l'infection. Cette manipulation a majoritairement lieu pendant les premiers stades de l'infection et permet de protéger *P. gingivalis* et les bactéries voisines. On appelle ce mécanisme « la paralysie locale des chimiokines » (76).

Néanmoins, après l'élimination des bactéries plusieurs processus doivent être engagés pour empêcher la destruction inflammatoire des tissus. Les changements de conformations du LPS de la bactérie altèrent la signalisation des neutrophiles pendant l'inflammation (76). Lors de la phase ultérieure de l'infection la présence d'un LPS penta-acylé chez *P. gingivalis* lui permet d'augmenter la sécrétion de sélectine par les cellules gingivales tout comme celle d'interleukine 8. Le LPS et les fimbriaes de la bactérie stimulent fortement les neutrophiles, notamment la production d'ERO, de cytokines pro-

inflammatoires ou de peptides microbiens. Ces éléments participent à la destruction du tissu gingival, tandis que de nombreux facteurs de virulence protègent la bactérie de l'inflammation et du stress oxydatif.

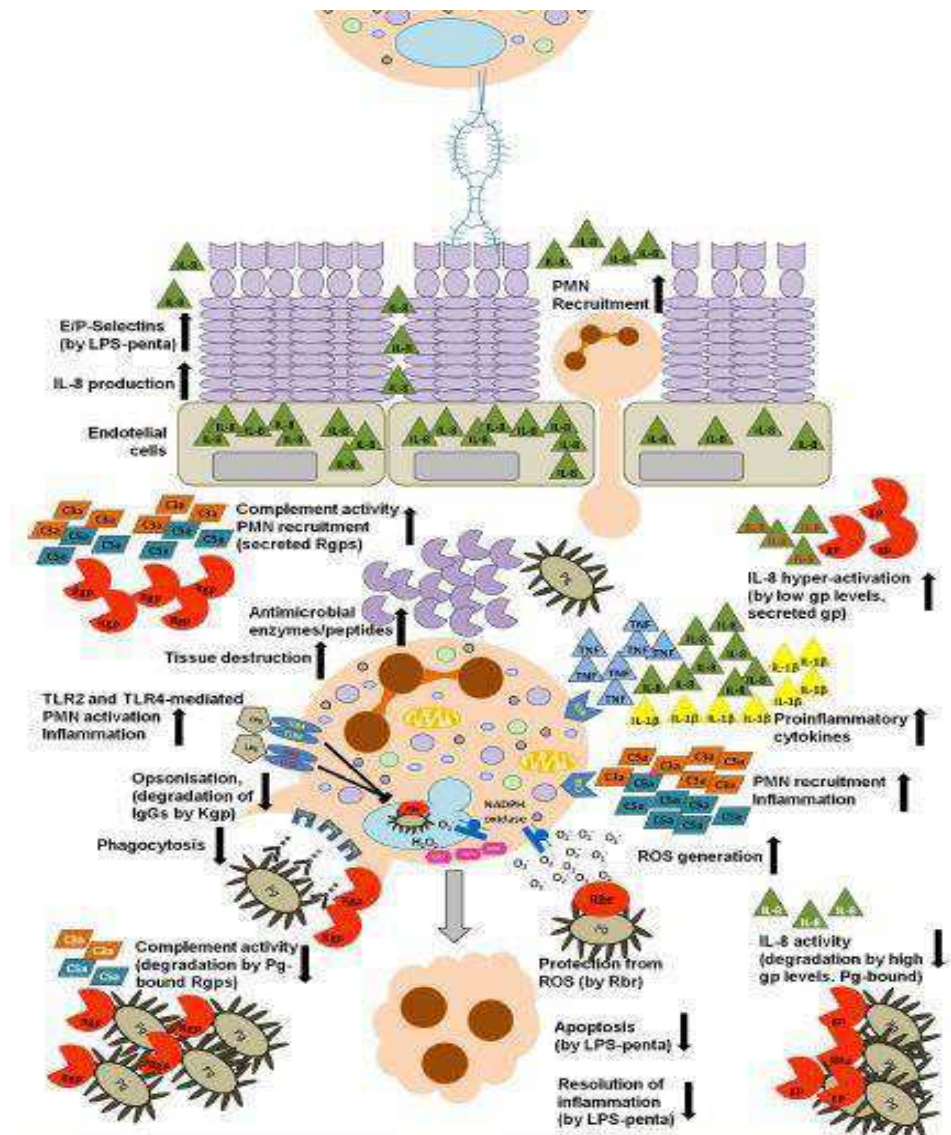


Illustration 31 : Stratégies de manipulation des neutrophiles par *P. gingivalis*. Maja Sochalska et al. Manipulation of Neutrophils by *Porphyromonas gingivalis* in the Development of Periodontitis (76)

Les gingipaïnes ne sont pas anodines dans les mécanismes d'échappement aux neutrophiles. La gingipaïne K a la capacité de cliver les Ig1 et Ig3 entre le fragment de liaison à l'antigène Fab et le fragment cristallisable Fc. De ce fait, *P. gingivalis* ne se retrouve plus osponisée par les anticorps, limitant ainsi sa reconnaissance par les

neutrophiles. La résistance des neutrophiles à la mort cellulaire et leur absorption ultérieure par les macrophages est également diminuée, en partie par la réduction de l'activité des caspases 3. Les caspases 3 ont normalement pour rôle central de déclencher l'apoptose cellulaire. La manipulation de l'apoptose entraîne l'accumulation de neutrophiles à vie longue et pleinement actifs dans le parodonte, contribuant à la progression de l'inflammation et de la pathologie (76).

II.5.3 L'immunité adaptative

Le deuxième phénomène immunitaire est l'immunité adaptative mis en place par les lymphocytes T (LT) et les lymphocytes B (LB). Cette immunité s'acquiert par suite d'une première infection et confère une immunité spécifique à un agent pathogène. Les LB sont produits dans la moelle osseuse et se différencient en plasmocytes capables de produire en grande quantité des anticorps appelés immunoglobulines (Ig). Ces immunoglobulines servent à détecter et à éliminer les agents pathogènes en se fixant dessus par opsonisation. La différenciation en plasmocyte et la production d'anticorps se mettent en place après présentation d'éléments antigéniques de l'agent pathogène par une cellule ayant réalisée la phagocytose.

Les LT sont produits dans la moelle osseuse et mûrissent dans le thymus. Les lymphocytes T exprimant le cluster de différenciation (CD) 8 cytotoxiques ont la capacité de détruire la plupart des agents pathogènes présentant des antigènes via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe 1. Les LT CD4 reconnaissent le CMH de classe 2 et sont quant à eux dit auxiliaires permettant de réguler la réaction inflammatoire et de se prémunir contre des futures infections. Les LT CD4+ naïfs vont être stimulés par les cellules présentatrices d'antigènes et vont pouvoir se différencier en LT helper (LTh) ou en lymphocyte régulateur en fonction des cytokines présentes. Les différentes versions des LT vont dépendre des cytokines qu'elles produisent. Les cellules LTh1 produisent de l'interféron gamma et l'interleukine 2, les cellules LTh2 produisent l'interleukine 4, l'interleukine 5 et l'interleukine 13 tandis que les cellules LTh17 produisent entre autres de l'interleukine 17.

II.5.4 Influence de *P. gingivalis* sur le système immunitaire adaptatif

Outre la manipulation du système immunitaire inné avec notamment sa capacité à moduler les réponses aux récepteurs Toll like, *P. gingivalis* a également une influence forte sur l'immunité adaptative.

Les cellules lymphocytaires sont les acteurs principaux de cette immunité adaptative. Les lymphocytes T et les lymphocytes B se retrouvent eux aussi également en grande quantité lorsque les tissus parodontaux sont enflammés. *P. gingivalis* agit directement sur la différenciation de la lignée T en augmentant l'expression d'interleukine 2 (77). La fonction des lymphocytes T est également perturbée par la capacité des gingipaïnes à cliver les corécepteurs CD4 et CD8 directement sur les lymphocytes (78). Lors d'une exposition systémique, la réponse induite par les récepteurs TLR2 permet la sécrétion d'interleukine-10 anti-inflammatoire. Cette dernière possède une action régulatrice de l'interféron γ . Or cet interféron est essentiel pour orchestrer les phénomènes d'opsonisation et permettre la phagocytose bactérienne. Cette suppression est un autre mécanisme permettant à *P. gingivalis* d'échapper au système immunitaire. De plus, *P. gingivalis* agit également sur la protéine de surface PD-1 dont le rôle dans la mort cellulaire et l'inhibition des lymphocytes T est clairement établi (79). De même, *P. gingivalis* perturbe la réponse cellulaire adaptative grâce à son action sur les cellules dendritiques. Cette action induit la production de cytokines favorisant la différenciation Th17, au travers notamment des cytokines comme l'interleukine-1 β , l'interleukine-6 et l'interleukine-12 (80).

II.6 *P. gingivalis* et parodontopathies

II.6.1 Généralités

Les parodontopathies sont des pathologies infectieuses. Elles sont généralisées définies par un ensemble de symptômes regroupant une inflammation, des saignements, le développement de poches liées à des pertes d'attache et d'os alvéolaire, une instabilité dentaire et peuvent conduire à la chute des dents.

L'infection à *P. gingivalis* est principalement connue pour être la cause de parodontite. Une parodontite peut apparaître spontanément ou être la répercussion d'une gingivite. C'est une infection de la gencive et de l'os soutenant les dents. Elle se manifeste en partie par une réaction inflammatoire. Les symptômes peuvent prendre plusieurs formes et sont fortement liés à la réaction inflammatoire. On peut notamment citer la manifestation de gencives rouges et gonflées, un saignement constant, une certaine instabilité dentaire, l'apparition d'abcès de la gencive ou des déchaussements (Illustration 32). L'accumulation de plaque dentaire associée à une mauvaise hygiène bucco-dentaire font partis des facteurs aggravants entraînant le développement de la parodontite. Une mauvaise méthode de brossage est généralement la cause de cette accumulation de plaque.



Illustration 32 : Parodontite agressive marquée par des migrations dentaires et une perte osseuse très prononcée. Revue du praticien.

II.6.2 Lien avec *P. gingivalis*

La formation d'une « poche parodontale » est l'une des conséquences de la maladie. Cette poche est située entre la gencive et la dent dans une zone idéale pour la prolifération des bactéries et du tartre. Cette accumulation bactérienne agit comme un facteur à charge contribuant à la destruction des tissus parodontaux. Dans les formes les plus sévères, la parodontite peut déclencher la chute de la dentition. Cette pathologie n'est pas réversible au contraire de la gingivite. Le remodelage osseux débute généralement par un épisode de résorption osseuse. Ce phénomène est caractérisé par la différenciation de cellules initialement mononucléées qui vont fusionner en ostéoclastes matures et dégrader l'os. A la suite de cette phase, les pré-ostéoblastes se transforment en ostéoblastes produisant

une matrice osseuse assurant le renouvellement de la structure (Illustration 33) (81). La stimulation des cellules immunitaires lors d'une infection bactérienne a pour conséquence le déclenchement d'une inflammation osseuse lors d'une parodontite. Cette inflammation conduit à une perte osseuse par l'augmentation de l'activité des ostéoclastes, cellules osseuses responsables de la résorption osseuse.

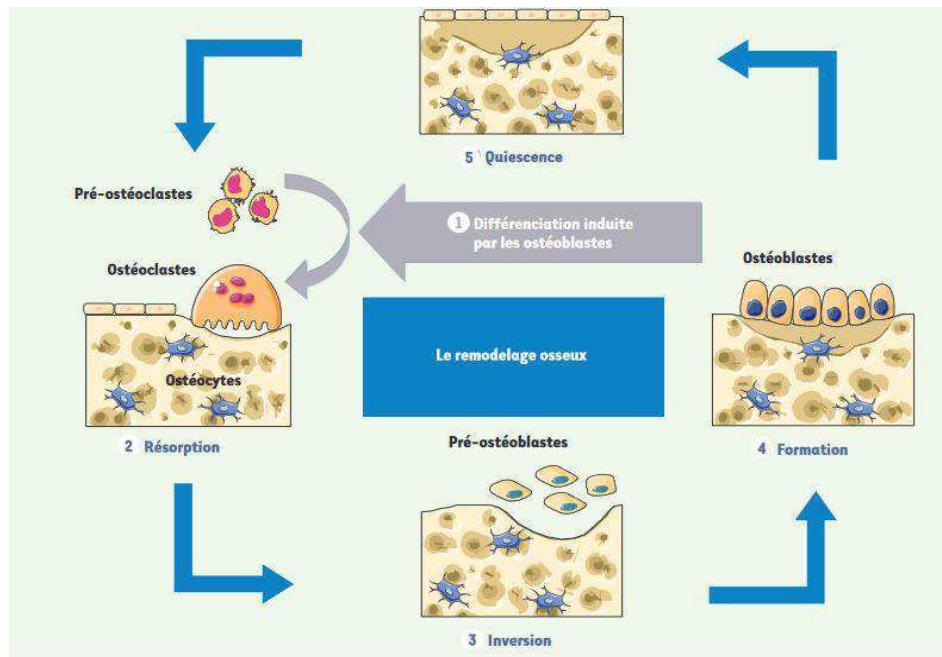


Illustration 33 : La résorption osseuse. P. Marie et al. OPG/RANKL : Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose (81)

Les cellules à l'initiative de cette réorganisation sont dictées par des facteurs hormonaux, notamment par le récepteur activator of nuclear factor kappa-B ligand (RANKL) et l'ostéoprotégérine (OPG). C'est grâce à la liaison de RANKL sur son récepteur RANK que les précurseurs des ostéoclastes peuvent se différencier et survivre. A l'inverse, l'OPG produite par les ostéoblastes se fixe au RANKL et l'empêche de se lier à RANK, entraînant son antagonisation. En cas d'augmentation de RANKL, on observe une importante destruction osseuse. L'activation des récepteurs TLR par *P. gingivalis* module une expression accrue de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine-1 β , l'interleukine-6, l'interleukine-11, l'interleukine-17 ou le TNF- α ainsi que l'augmentation de la production de RANKL par les ostéoclastes (Illustration 34) (82).

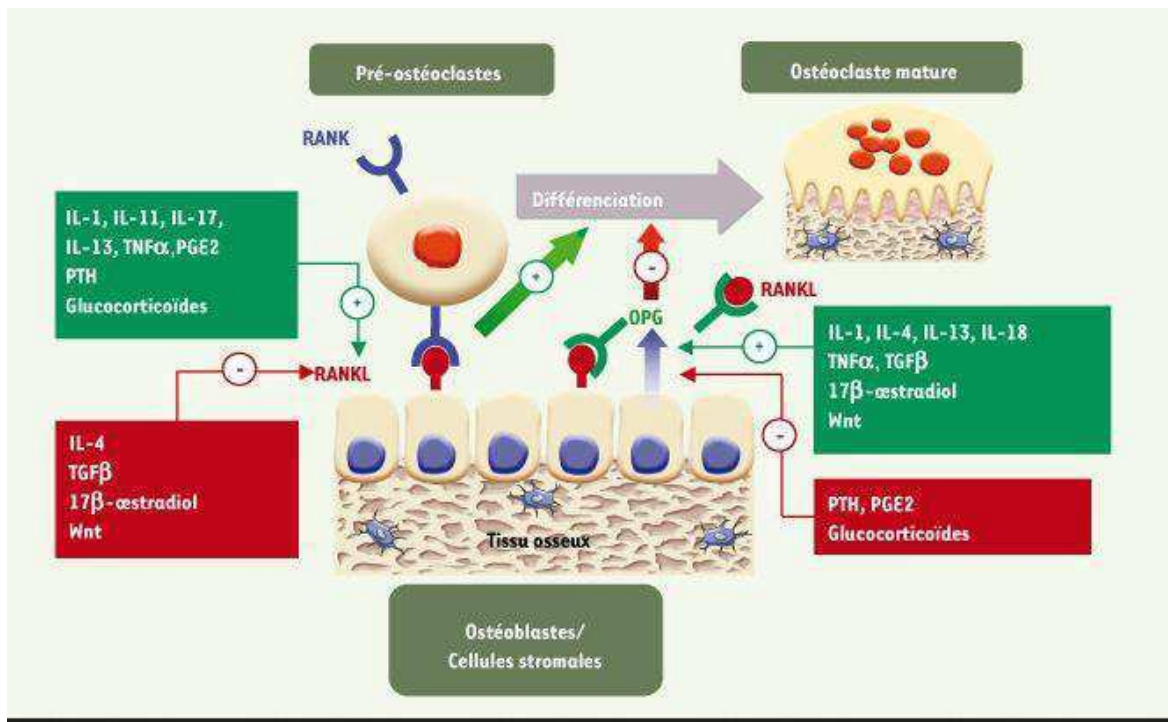


Illustration 34 : Contrôle du remodelage osseux par le système RANKL/OPG. P. Marie et al. OPG/RANKL : Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose (82)

III LIEN ENTRE *P. GINGIVALIS* ET ALZHEIMER

L'action des maladies parodontales induites par l'activité des biofilms gingivaux et sous-gingivaux doit être considérée d'un point de vue systémique en plus des conséquences locales qu'elle provoque. L'infection qui découle de ces pathologies induit une réponse inflammatoire chez l'hôte pouvant entraîner de nombreuses complications. Une infection bucco-dentaire chronique comme la parodontite est une source potentiellement constante de contamination bactérienne et est déjà considérée comme un facteur de risque de maladies cardiovasculaires, de maladies cérébrovasculaire, de maladies artérielles périphériques, de maladies respiratoires et d'insuffisance pondérale à la naissance (83).

Depuis quelques années, de nombreuses études commencent à associer le développement des parodontites à celui de maladies neurodégénératives, notamment la maladie d'Alzheimer. Parmi les bactéries impliquées *Porphyromonas gingivalis* semble se démarquer en termes de dangerosité. Sa capacité d'échappement au système immunitaire, à générer une inflammation chronique et constante ainsi qu'à produire de nombreux facteurs de virulence dont certains sont capables de passer la barrière hémato-encéphalique tels que ces gingipaïnes en font un potentiel facteur de risque important ainsi qu'une cible d'avenir pour enrayer le développement de la maladie d'Alzheimer.

III.1 Alzheimer, parodontite et bactéries

Une mauvaise santé bucco-dentaire que cela soit en termes de caries, édentement ou de maladies parodontales semble relativement répandue chez les sujets âgés. Elle a tendance à être encore plus fréquente avec le développement de la maladie d'Alzheimer en raison d'une diminution des capacités à prendre soin de son hygiène au fur et à mesure de la progression de la maladie. D'après un rapport de la Direction Générale de la Santé publiée en 2006, une maladie parodontale est retrouvée chez 55 à 85 % des sujets âgés (84). Une des principales bactéries responsables du développement des parodontites étant la bactérie *Porphyromonas gingivalis*.

La présence de certaines bactéries du biofilm buccal, pouvant être déterminée par une importante quantité d'immunoglobulines IgA et IgG dirigées contre elles dans le sérum a été mise en évidence chez un nombre important de personnes ayant développés des cas de démences (85). Parmi ces bactéries on retrouve notamment *P. gingivalis*. L'étude a également associée la présence des gingipaïnes, produites par la bactérie et retrouvées à des taux élevés dans le cerveau et le liquide céphalo-rachidien, au diagnostic clinique de la maladie ainsi qu'à une forte hausse de la quantité de protéine Tau dans le cerveau (86).

Dans le même registre, une étude de cohorte a été menée en 2016 auprès de 60 patients atteints de la maladie d'Alzheimer aux premiers stades de la maladie, déterminés par des tests cognitifs. Ici, des marqueurs inflammatoires systémiques ont été analysés à partir de prélèvements sanguins (87). L'augmentation de la quantité d'anticorps contre les bactéries parodontales a ainsi été associée dans cette analyse à une amplification de l'état inflammatoire. La présence de cytokines pro-inflammatoires sériques élevées fut également corrélée à une élévation du déclin cognitif. Ces résultats suggèrent ainsi que la présence d'une parodontite peut être associée à l'abaissement cognitif dans la maladie d'Alzheimer et ceci de manière distincte de l'état cognitif de base.

D'autres recherches effectuées sur vingt patients atteints de la maladie d'Alzheimer ont permis de mettre en avant un lien entre les agents pathogènes parodontaux et le développement de la pathologie. L'état des patients a été évalué par des test cognitifs et le taux d'infection de ces patients a aussi été examiné. Les résultats ont rapporté un taux de contamination de l'ordre de 35 % par des agents pathogènes, et la présence de *P. gingivalis* était directement assimilable à un niveau bas du MMSE ainsi qu'une baisse du temps de réalisation du test de l'horloge (88).

Enfin, *Sparks Stein et al* ont publié une analyse se basant sur la composition du sérum de 158 patients. La présence d'anticorps dirigés contre 7 bactéries responsables de parodontites (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Campylobacter rectus*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*) était significativement augmentée chez les patients atteints de déficiences cognitives comparés aux patients témoins (89).

III.2 Conséquences d'une infection chronique à *P. gingivalis* sur le développement de la maladie d'Alzheimer

III.2.1 Activation microgliale et neuro-inflammation

Un potentiel lien entre infection bactérienne et déclin cognitif a fait l'objet de recherche par Nie et al qui se sont rendu compte qu'une infection systémique de *P. gingivalis* de 3 semaines chez le rat peut augmenter de façon significative l'expression du précurseur APP ainsi que la production du peptide $\alpha\beta$ (90).

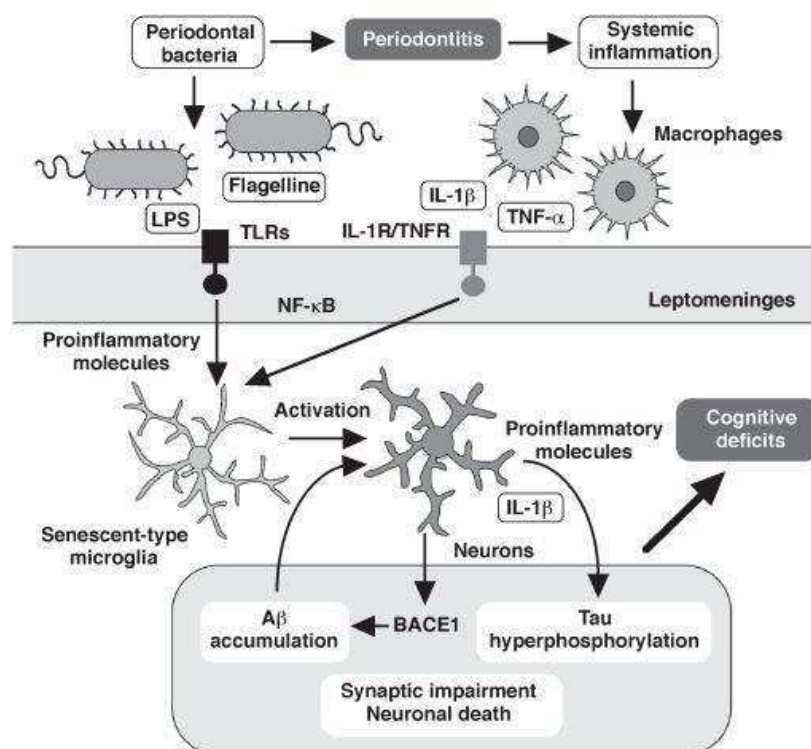


Illustration 35 : Schéma de la transduction des signaux inflammatoires dans le système nerveux central provoqués par *P. gingivalis*. Wu Z et al. Connection Between Periodontitis and Alzheimer's Disease : Possible Roles of Microglia and Leptomeningeal Cells (91)

Les microglies et leur production d'éléments pro-inflammatoires dans le système nerveux central sont au cœur de la génération des éléments spécifiques d'Alzheimer et des retentissements cliniques de la maladie (Illustration 35). Les microglies sont activées de

manière indirecte ou directe. La neuro-inflammation qu'elles induisent a pour conséquence l'augmentation de l'activité de la BACE-1, entraînant une accumulation de peptide $\alpha\beta$ dans le cerveau. Comme nous le savons, la fragmentation de la protéine Tau joue un rôle déterminant dans la formation de la maladie d'Alzheimer. La production d'interleukine 1- β par les microglies activées est un élément favorisant fortement l'hyperphosphorylation des protéines Tau. Enfin, l'inflammation chronique induite par les microglies perturbe également la potentialisation à long terme des cellules de l'hippocampe, provoquant leur dysfonctionnement et leur mort cellulaire responsables des atteintes de la mémoire dans la maladie d'Alzheimer (91).

III.2.1.1 Activation indirecte de la microglie

Lors d'une infection chronique, les éléments pro-inflammatoires comme le TNF- α ou l'interleukine 1 ainsi que les fimbriaes ou le LPS des bactéries activent les récepteurs présents à la surface des leptoméniges qui expriment à la fois TLR2 et TLR4 (Illustration 35). Les méninges, et notamment les leptoméniges, vont activer le fonctionnement des microglies en réponse à ces stimulus. Un lien entre l'activation de la voie TLR4 par les LPS et un dysfonctionnement cognitif chez la souris a été évalué par *Zhang et al.* Dans cette étude, plusieurs marqueurs spécifiques ont été étudiés par suite d'une administration de LPS, notamment l'activation des microglies et des astrocytes dans le cortex cérébral et l'hippocampe. Ces éléments ont été observés par immunohistochimie tandis que l'expression de cytokines inflammatoires fut déterminée par Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) et par Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA). Pour finir, l'activation de la voie de signalisation TLR4 / NF- κ B a été évaluée par western blot. À la suite de la réalisation de différents exercices de mémorisation, une corrélation entre la présence du LPS et la cascade signalétique qui l'accompagne avec l'apparition d'un dysfonctionnement cognitif chez les souris testées a été mise en évidence (92).

III.2.1.2 Activation directe de la microglie

Chez l'Homme, le cerveau est relativement immunisé contre les pathogènes et toxines grâce à la présence de la barrière hémato-encéphalique. Elle permet de réguler les échanges en séparant la circulation sanguine du système nerveux central. Cependant, on

observe une importante dysfonction de la barrière hémato-encéphalique dans le développement de la maladie d'Alzheimer.

Premièrement, l'accroissement de la neuro-inflammation pourrait s'expliquer par le passage d'éléments pro-inflammatoires provenant de la périphérie vers le système nerveux central. L'une des hypothèses pourrait impliquer les organes circumventriculaires (Illustration 36). Ces organes du cerveau sont l'organe subfornical, l'organe vasculaire de la lame terminale, la neurohypophyse, la glande pinéale, l'organe subcommissural et l'area postrema du plancher du 4ème ventricule. La particularité de ces organes est d'avoir une barrière hémato-encéphalique plus perméable. Ils sont ainsi plus à même de faire circuler des cytokines pro-inflammatoires produites par les macrophages jusqu'au cerveau. Cette perméabilité pourrait s'accroître avec les années et pourrait expliquer la hausse de neuro-inflammation dans un contexte d'inflammation systémique chronique (91).

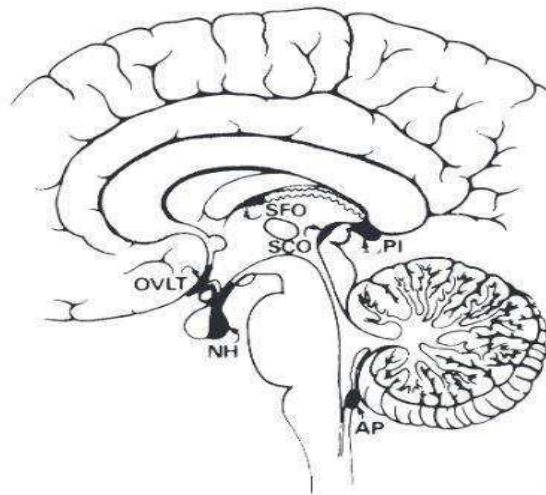


Illustration 36 : Organes circumventriculaires. On observe l'organe subfornical (SFO), la neurohypophyse (NH), l'organe vasculaire de la lame terminale (OVLT), l'area postrema (AP), l'organe subcommissural (SCO) et la glande pinéale (PI). William F Ganong. Circumvent

La perméabilité de la BHE est un réel problème dans le développement de la maladie d'Alzheimer car elle laisse également passer des éléments bactériens. La présence de gingipaines et d'ADN de *P. gingivalis* a récemment été détectée dans le cerveau de patients atteints de la maladie d'Alzheimer. La découverte des gingipaines RGP et KGP dans les neurones de patients atteints de la maladie d'Alzheimer, notamment ceux de l'hippocampe, ainsi que dans les astrocytes a pu être réalisée à l'aide de techniques

d'immunoprécipitation et de western blot (85). Plus spécifiquement, le gène ARNr S16 a été mis en évidence par PCR dans le cerveau humain au même titre que le gène hmuY hautement caractéristique de *P. gingivalis*, confirmant la présence de la bactérie dans le cerveau (85). Le liquide céphalo rachidien, permettant d'avoir une idée de l'infection cérébrale, a également été analysé afin d'avoir une autre appréciation de l'activité des agents infectieux. La présence du gène hmuY a été mise en évidence de la même manière (85).

Des études ont été menées par *Liu et al* pour déterminer le rôle de *P. gingivalis* sur l'activité des microglies (93). Il a ainsi été mis en évidence que les gingipaïnes favorisent la migration microgliales (Illustration 37). L'accumulation microgliale a été observée après injection de *P. gingivalis* dans le cortex somato-sensoriel de souris. La proportion de cellules localisées au niveau du site d'injection était significativement plus importante en comparaison de l'injection témoin. L'injection simultanée de *P. gingivalis* avec des inhibiteurs de gingipaïnes ont déclenché une baisse de la sollicitation des microglies, mettant en lumière l'importance des gingipaïnes dans la migration cellulaire et la réponse des cellules hôtes. Il s'avère que cette migration pourrait être induite par l'activation des récepteur PAR2, dont l'activation par les gingipaïnes a déjà été mise en évidence au sein des cellules épithéliales. PAR2 permet le déclenchement de plusieurs voies intracellulaire, notamment l'activation de la voie de signalisation PI3K-AKT-mTOR ainsi que la voie MEK-ERK. L'activation de ces cascades sont nécessaires au déroulement de nombreuses activités microgliales, y compris la migration cellulaire, justifiant la présence des microglies autour des éléments de la bactérie. L'expression de médiateurs inflammatoires tels que l'interleukine-6 ou du TNF- α voire même d'iNOS est également dépendante du récepteur PAR2 (93).

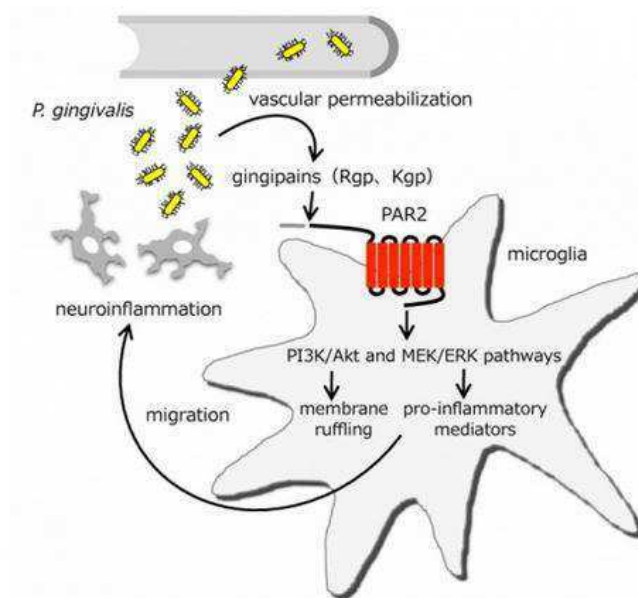


Illustration 37 : Activation microgliales par les gingipaïnes. Lyu et al. Infection of microglia with Porphyromonas gingivalis promotes cell migration and an inflammatory response (93)

Le fait que *P. gingivalis* puisse pénétrer le cerveau humain est un problème de taille. Le passage des gingipaïnes n'est pas anodin au développement de la maladie. En effet, la protéine Tau est une cible des gingipaïnes et ces dernières sont capables de la fragmenter, favorisant ainsi leur hyperphosphorylation en protéines insolubles. Cette hypothèse a été mise en avant par la réalisation d'une étude portant sur des cellules exprimant des formes de la protéine Tau confrontées à la bactérie à des concentrations différentes. Les résultats ont mis en évidence une forte fragmentation des protéines Tau solubles en moins d'une heure suivant l'infection. On dénombre 14 sites de clivages en position N-terminal pour la gingipaïne KGP et 30 sites pour la gingipaïne RGP en position C-terminal sur la protéine Tau. Ces fragments peptidiques de Tau se sont avérés être responsable d'enchevêtrements en filaments hélicoïdaux insolubles. Qui plus est, l'infection témoin avec des bactéries mutantes défectueuses en gingipaïnes n'a pas d'altération sur les protéines Tau comparée aux cellules non infectées, montrant le rôle prépondérant des gingipaïnes sur ces protéines (72).

III.2.2 Afflux de peptide $\alpha\beta$ périphérique

Une hypothèse suggère que la tendance à produire de manière accrue le peptide $\alpha\beta$ lors d'une infection peut s'expliquer par son rôle dans les mécanismes de l'immunité innée. La génération de peptide $\alpha\beta$ peut notamment être une voie permettant le piégeage des agents pathogènes et protège contre les infections. D'importantes propriétés similaires à celles de certains peptides anti-microbiens comme les défensines, les histamines ou les cathélicidines associées à la capacité à réguler à la hausse la génération de cytokines ont été observées. Des résultats ont déjà prouvé une aptitude du peptide $\alpha\beta$ à inhiber la croissance d'un grand nombre de bactéries pathogènes telles que *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermitis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, ou *Listeria monocytogenes* (94).

La formation de peptide $\alpha\beta$ ainsi que de plaques amyloïdes dans le cerveau sont les signes caractéristiques du développement de la maladie d'Alzheimer. Il est convenu que le peptide $\alpha\beta$ est formé au niveau local dans le système nerveux central. Toutefois le peptide $\alpha\beta$ peut également avoir une origine périphérique sanguine via entre autres les plaquettes et les leucocytes. La concentration en peptides $\alpha\beta$ périphériques régule notamment l'élimination des peptides $\alpha\beta$ au niveau du cerveau. Une étude réalisée par A. Marques et al a mis en évidence qu'une concentration élevée de peptide $\alpha\beta$ périphérique réduisait l'efflux de peptides provenant du système nerveux central vers la périphérie. Pour provoquer cette hausse il a été nécessaire de ligaturer l'artère hépatique, empêchant ainsi le foie d'éliminer le peptide. A l'opposé, l'injection d'anticorps dirigés contre les peptides $\alpha\beta$ plasmatisque a permis de diminuer la concentration au niveau du système nerveux central (95).

Plusieurs transporteurs permettent le passage des peptides $\alpha\beta$ du système nerveux central vers le système nerveux périphérique, notamment les récepteurs de produits de glycation avancés RAGE ou les récepteurs des lipoprotéines de basses densité LRP-1 situés à la surface des cellules endothéliales (Illustration 38). Le récepteur RAGE est nécessaire à l'influx des peptides $\alpha\beta$ alors que le récepteur LRP1 est primordial pour l'efflux de peptide du cerveau vers le sang (96). L'excitation des récepteurs RAGE n'est pas anodin aux phénomènes de neurotoxicité. La liaison d'un ligand sur ce récepteur entraîne le

déclenchement de l'activation d'une série de gènes pro-inflammatoires, de processus de stress oxydant ainsi que de la modulation de l'expression de plusieurs autres gènes. Cette accumulation provoque également l'accroissement de l'expression du RAGE lui-même.

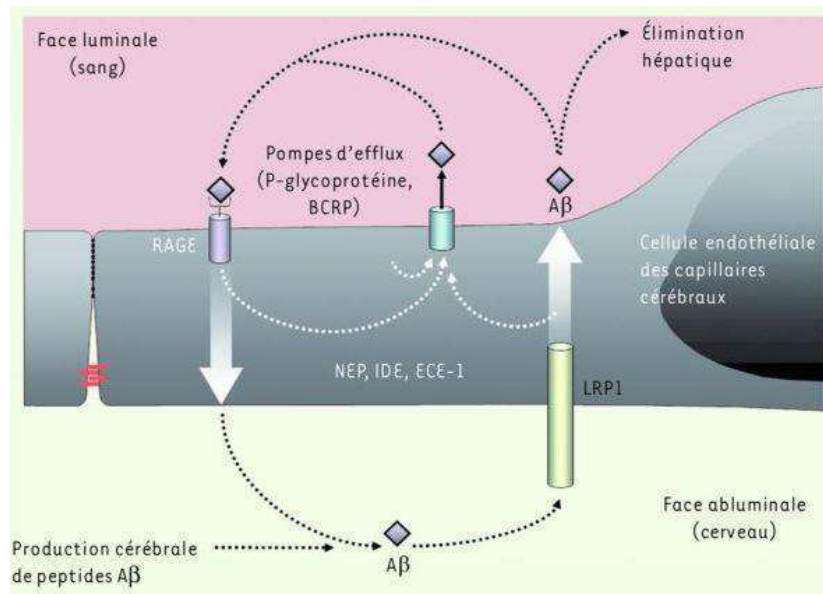


Illustration 38 : Mécanisme de transport du peptide $\alpha\beta$ au sein de la BHE. Fabien Gosselet et Al. La barrière hémato-encéphalique : Une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer ? (96)

RAGE est donc le récepteur clé permettant le transport de peptide $\alpha\beta$ provenant de la périphérie vers le SNC. Une étude menée par Zeng *et al* a illustré l'influence que pouvait avoir la bactérie *P. gingivalis* sur ce récepteur. En effet, par suite d'une infection par cette bactérie, l'activité de RAGE est potentialisée et permet un afflux massif de peptide $\alpha\beta$ dans le cerveau. De plus, son rôle déterminant dans le déplacement du peptide a été mis en évidence par la forte diminution de l'afflux lors de l'utilisation d'inhibiteur spécifique de RAGE. Il semble que RAGE soit dépendant du facteur de transcription NF- κ B et de la cathepsine B, car des inhibiteurs de ces derniers diminuent l'activité du récepteur. Ainsi, il est possible de concevoir que l'activation des récepteurs TLR présents sur les cellules endothéliales conduisant à la production de NF- κ B potentialise le récepteur RAGE, induisant un afflux massif de peptide $\alpha\beta$ de la périphérie vers le SNC. De plus, il a été confirmé que l'infection à *P. gingivalis* augmente le niveau de cathepsine B, or cette cathepsine dégrade I κ B permettant le piégeage de NF- κ B augmentant ainsi la libération du facteur de transcription (96).

III.3 Perspectives de nouveaux traitements dans la maladie d'Alzheimer

III.3.1 Place de l'antibiothérapie dans le traitement d'Alzheimer

La pertinence de l'utilisation d'une antibiothérapie a fait l'objet de recherche dans l'évaluation d'une amélioration clinique dans le développement de la maladie d'Alzheimer. Même s'il est difficile d'attribuer cette amélioration à une diminution de la population bactérienne est plus spécifiquement de *P. gingivalis*, ces études accréditent un peu plus l'hypothèse d'une étiologie infectieuse dans le développement de cette maladie. Par ailleurs, il est important de souligner que la bactérie *P. gingivalis* est relativement sensible à de nombreuses molécules, si on se réfère aux données de l'ANSM (Tableau 3).

	Pénicillines G	Pénicillines A	Pénicilline A + acide clavulanique	Macrolides	Lincosamides	Streptogramines (pristinamycine)	Cyclines	Glycopeptides	5-Nitroimidazolés	Céphalosporine 1 ^{re} génération	Céphalosporine 2 ^e génération	Céphalosporine 3 ^e génération
Bacille à Gram+												
<i>Actinomyces</i>	S	S	S	S*	S	S	S*	S	R	NR	NR	NR
<i>Eubacterium</i>	S	S	S	S	S	S	S*	S	S/R	NR	NR	NR
<i>Propionibacterium</i>	S	S	S	S/R	S/R	S	S*	S	R	S	S	S
Bacille à Gram-												
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	R	S	S	S/R	S*	S	S*	R	R	S/R	S	S
<i>Campylobacter rectus</i>	S	S	S	S	S	?	S*	R	R	NR	NR	NR
<i>Capnocytophaga</i> spp.	S/R	S/R	S	S/R	S	S	S	R	R	R	R	S
<i>Eikenella corrodens</i>	S*	S*	S	R	R	?	S/R	R	R	R	R	S
<i>Fusobacterium</i> spp.	S*	S*	S	R	S*	S	S*	R	S	S/R	S	S
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	S	S	S	S	S	S	S*	R	S	S	S	S
<i>Prevotella intermedia</i>	S/R	S/R	S	S*	S*	S	S*	R	S*	NR	NR	S/R
<i>Selenomonas</i> spp.	S/R	S/R	S	S/R	S	?	S*	R	S	NR	NR	NR
<i>Tannerella forsythia</i>	S	S	S	S	S	S	S	R	S	NR	NR	S
Cocci à Gram+												
<i>Enterococcus</i> spp.	NR	S	S	S*	R	S*	S/R	S*	R	R	R	R
<i>Parvimonas micros</i>	S	S	S	S	S	S/R	S*	S	S	NR	NR	S
<i>Staphylococcus</i> spp.	R	R	S	S/R	S/R	S*	S/R	S*	R	S	S	S
<i>Streptococcus</i> spp.	S	S	S	S/R	S/R	S	S/R	S	R	S	S	S
Cocci à Gram-												
Spirochètes	S	S	S	S*	S	NR	S*	S	S	NR	NR	S
<i>Veillonella</i> spp.	S	S	S	S*	S	R	S*	R	S*	S/R	S/R	S/R

Légende : S = sensible ; R = résistant ; S/R = plus de 10 % de souches résistantes ; * résistance décrite ; ** en fonction des espèces ; ? = absence de données ; NR = non recommandé car données insuffisantes.

Le spectre présenté ici est un spectre usuel. La sensibilité des souches bactériennes est souvent plus importante en odontologie. Il existe peu de données dans la littérature sur la sensibilité en stomatologie.

Tableau 3 : Spectre usuel des antibiotiques sur les bactéries rencontrées en infectiologie odontologique et stomatologique en 2005. ANSM

La doxycycline fait partie des molécules étudiées dans cette optique. Cette tétracycline de deuxième génération à activité bactériostatique possède des propriétés anti-amyloïdogènes et traverse bien la BHE. Elle est capable de réduire efficacement l'infectivité et la neurotoxicité. Ces propriétés sont liées à son groupe hydrophobe qui s'associe aux peptides $\alpha\beta$ agglutinés et qui est capable de les dissocier (98). L'amélioration de la mémoire à long terme grâce à la doxycycline sur des souris transgéniques a notamment été mise en évidence en réduisant fortement la plaque amyloïde (99).

La ceftriaxone, une céphalosporine de troisième génération à activité bactéricide temps-dépendant est également au cœur de nombreuses recherches. Si son utilité dans le traitement de nombreuses infections n'est plus à prouver, des effets protecteurs neuronaux ont été récemment observés notamment dans l'amélioration des déficits moteurs, dans l'inhibition de la dégénérescence dopaminergique et la restauration de la densité neuronale. Sur la base de ces résultats, la ceftriaxone a été proposée dans le traitement des maladies neurodégénératives. Dans des études chez le rat, la ceftriaxone a produit un effet bénéfique en régulant positivement l'activité glutamatergique. La ceftriaxone favorise la translocation de p65, sous unité du facteur de transcription NF- κ B augmentant son activité, son affinité pour le transporteur au glutamate GLT-1 et l'expression de nombreux gènes (Illustration 39). L'augmentation de GLT-1 favorise la recapture du glutamate et diminue sa concentration dans le domaine extracellulaire. Cette molécule provoque aussi une diminution de l'expression de certains gènes nécessaires à la formation de peptide $\alpha\beta$. La ceftriaxone augmente la production de glutathion, de superoxyde-dismutase, de Bcl2 et diminue l'expression des caspases 3 et 9, inhibant le stress oxydatif et l'apoptose. L'antibiotique améliore également le brain-derived neurotrophic factor (BDNF) impliqué dans la neurogénèse et la survie neuronale (100).

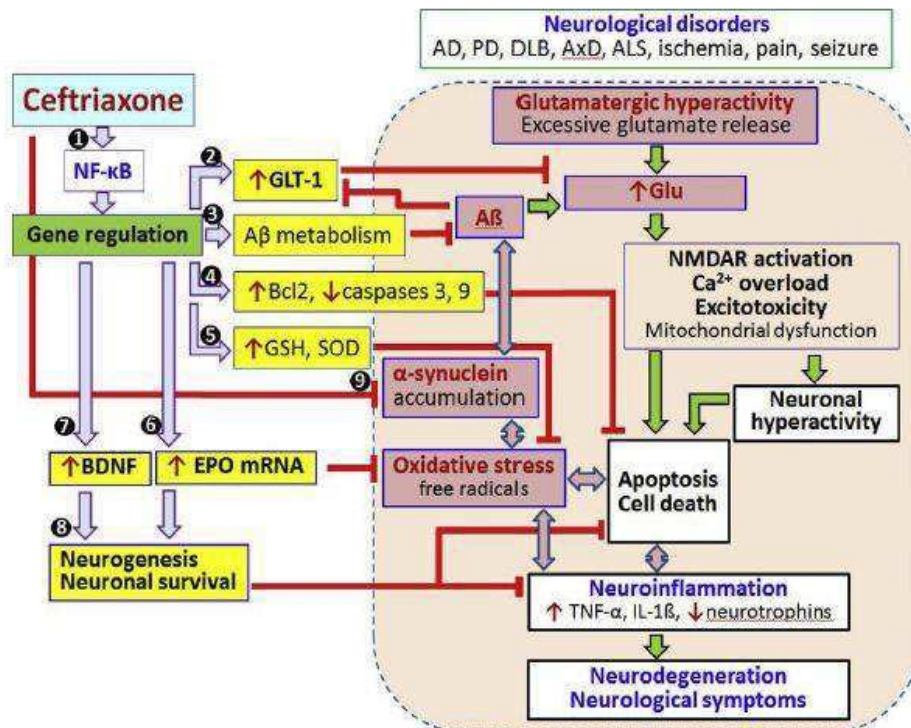


Illustration 39 : Mécanismes d'action de la ceftriaxone dans l'amélioration d'Alzheimer. Tai et al. A new avenue for treating neuronal diseases : Ceftriaxone, an old antibiotic demonstrating behavioral neuronal effects (100)

Enfin, des antituberculeux ont également montré des améliorations dans le développement de la maladie d'Alzheimer. La rifampicine, un antituberculeux de première intention de la famille des rifamycines, a montré une forte activité contre l'accumulation et la neurotoxicité des oligomères de peptides $\alpha\beta$ insolubles, en évaluant notamment son activité sur des souris mutante en APP et en protéine Tau. La rifampicine, utilisée par voie orale, a diminué fortement l'accumulation de peptides $\alpha\beta$, l'hyperphosphorylation de la protéine Tau et l'activation microgliale de manière dose dépendante (101). La d-cyclosérine, antituberculeux bactériostatique de 2nde intention, peut avoir une utilité dans l'amélioration de la symptomatologie de la maladie d'Alzheimer pour ses propriétés agonistes partiels de la glycine agissant sur les récepteurs NMDA. Une étude versus placebo réalisée sur 108 patients atteints de la maladie d'Alzheimer a mis en évidence que deux doses de 15 mg de cyclosérine deux fois par jour pendant 10 semaines peuvent améliorer significativement la mémoire implicite des patients traités (102).

III.3.2 Les inhibiteurs de gingipaïnes

Les gingipaïnes font parties des facteurs les plus importants et les plus virulents produits par *P. gingivalis* pour sa survie et sa pathogénicité. Comme nous l'avons vu, leurs rôles sont essentiels pour permettre à la bactérie de se nourrir ou perturber le système immunitaire et leurs responsabilités dans le développement dans la maladie d'Alzheimer semble se confirmer aux vues des publications récentes. De ce fait, le développement de molécules capables d'éradiquer ce facteur de virulence indispensable à la bactérie demeure pertinent pour limiter le développement de la maladie.

III.3.2.1 KYT-36

Des inhibiteurs de gingipaïnes ont commencé à apparaître aux cours des dernières années. Nous pouvons notamment citer la molécule KYT-36, inhibiteur puissant et sélectif de la gingipaïne KGP, mis au point par l'équipe de chercheur dirigée par *Tibisay Guevara* (103). Le nom complet de cette molécule est benzyl-N-[(2S)-1-[[[(3S)-7-amino-1-(benzylamino)-1,2-dioxoheptan-3-yl]amino]-5-(2-méthyl-2-phénylhydrazinyl)-1,5-dioxopentan-2-yl]carbamate, connue sous l'acronyme IUPAC. La structure de cette molécule est composée d'un groupement carboxybenzyle noté BOC. A ce groupement est attachée une molécule de glutamine GLN liée à un composé phényléthylamine MPA ainsi qu'à une L-Lysine LYS. Pour finir, nous retrouvons une moitié de benzyl carbarmoyl BCA (Illustration 40). Les sites actifs de l'enzyme sont inhibés grâce à l'action de la lysine qui agit comme substrat. On répertorie près de 24 interactions entre la molécule KYT-36 et la gingipaïne avec notamment la formation de liaisons hydrogène et de ponts salins. Ces interactions permettent d'inhiber spécifiquement l'activité de l'enzyme et sont un motif d'espoir pour l'avenir de la prise en charge thérapeutique (103).

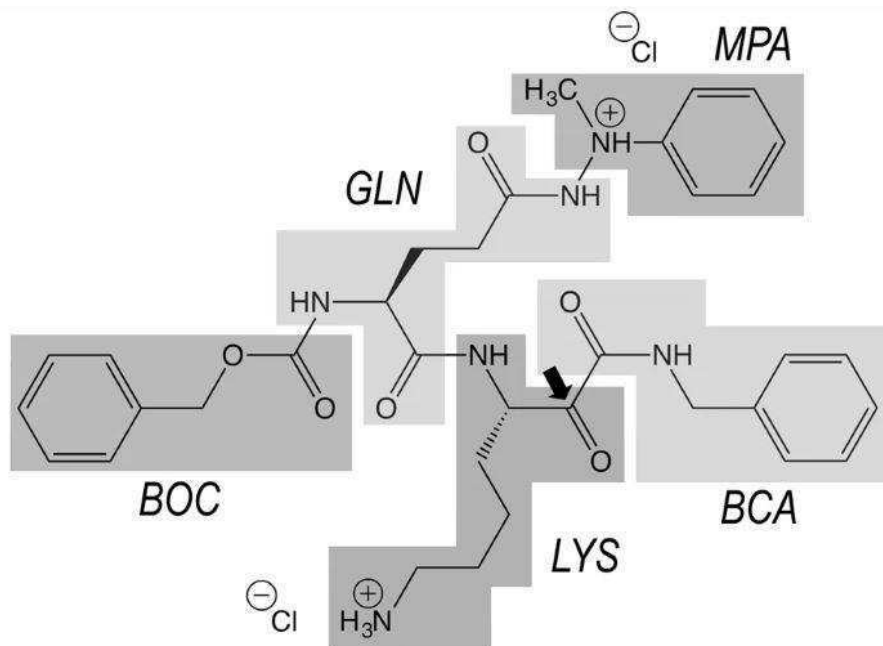


Illustration 40 : Schéma structurel de la molécule KYT-36. Guevara et al. Structural determinants of inhibition of *Porphyromonas gingivalis* gingipain K by KYT-36, a potent, selective, and bioavailable peptidase inhibitor (103)

III.3.2.2 L'étude GAIN

Par suite de ces récentes découvertes, une étude d'inhibiteurs de gingipaïnes menée sur des souris a donné des résultats prometteurs sur l'évolution de la maladie d'Alzheimer. Cette étude a mis en évidence l'efficacité des inhibiteurs de KGP dans l'infection cérébrale et dans la prévention de la perte neuronale au niveau de l'hippocampe. Chez la souris, l'inhibition des gingipaïnes a permis de diminuer considérablement la charge bactérienne dans le cerveau mais également la réponse immunitaire qui s'en suivait avec notamment une baisse nette de la neuro-inflammation et de la génération de peptide $\alpha\beta$. L'efficacité de cet inhibiteur, empêchant notamment la génération de nutriment pour la bactérie, s'est même révélée supérieure à l'utilisation d'antibiotique à large spectre d'action (86).

Un de ces inhibiteurs de lysine-gingipaïnes est actuellement en étude de phase 2/3 chez l'Homme depuis le début de l'année 2019. Cette étude clinique intitulée GAIN menée par Cortexyme évalue la possibilité que le médicament expérimental COR388, administré par voie orale, puisse diminuer ou interrompre l'évolution de la maladie d'Alzheimer. Deux premiers inhibiteurs de gingipaïnes, appelés COR286 et COR271, avaient montré des signes encourageants en réduisant considérablement la charge bactérienne présente dans

le cerveau par rapport aux témoins. COR388 est un analogue de COR271, un très puissant inhibiteur sélectif et irréversible des gingipaïnes KGP ayant une importante pénétration dans le système nerveux central. Ce projet ambitieux a l'intention de recruter plus de 500 participants atteints d'une forme légère à modérée de la maladie d'Alzheimer dans plus de 90 centres d'étude clinique aux États-Unis et en Europe. Cette étude est dans la continuité d'une première étude clinique sur l'administration de COR388 ou de placebo pendant 10 jours chez 24 volontaires âgés en bonne santé et pendant 28 jours chez 9 patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Dans le cadre de cette recherche, de l'ADN des bactéries *P. gingivalis* a été décelé dans le liquide céphalorachidien de tous les patients atteints de la maladie d'Alzheimer avant de débiter le traitement afin de s'assurer du lien entre l'amélioration clinique et l'inhibition des gingipaïnes de la bactérie. Dans la première étude, le traitement a été bien toléré, sans aucune conséquence clinique en termes d'effets indésirables ou sans signal de tolérance inquiétant. De manière encourageante, une tendance prometteuse vers l'amélioration de la performance aux tests de mémoire chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer inclus dans l'étude et ayant reçu COR388 par rapport au placebo a été observé (104).

Les antibiotiques à large spectre d'action se sont montrés peu efficaces pour éradiquer la charge bactérienne présente dans le cerveau, justifiant la nécessité d'une thérapie nouvelle. De plus, il est difficile d'envisager une antibiothérapie sur le long terme face à la montée des résistances générales aux antibiotiques prévue pour les années à venir. L'intérêt d'administrer de tels inhibiteurs spécifiques des gingipaïnes est de diminuer à la fois un élément essentiel à la survie de la bactérie mais également un élément pourvoyeur d'inflammation. Cette hypothèse de traitement n'est pas à envisager que chez le sujet âgé puisque comme nous l'avons vu *P. gingivalis* peut coloniser la sphère buccale pour ensuite survivre dans les cellules épithéliales et les macrophages et migrer vers le cerveau. Un traitement précoce, dès le plus jeune âge, en cas de présence de la bactérie dans le LCR par suite d'une infection dentaire pourrait s'avérer utile pour éviter l'apparition de symptômes de la maladie d'Alzheimer sur le long terme.

Conclusion

Encore mal comprise aujourd'hui, la maladie d'Alzheimer demeure cependant l'une des principales problématiques de notre société. Bien que ces symptômes et ces atteintes cérébrales commencent à être bien connus par le milieu médical, il demeure encore de nombreuses zones d'ombre concernant son développement chez le sujet âgé. Son apparition semble être dépendante de nombreux facteurs, et la recherche de son étiologie ainsi que des traitements pour limiter sa progression fait partie des enjeux principaux dans le domaine de la santé.

De nouvelles recherches ont permis de mettre en avant une possible étiologie bactérienne jamais envisagée auparavant. Bien que d'autres études semblent encore nécessaires pour approfondir cette hypothèse, l'infection bucco-dentaire à *Porphyromonas gingivalis* est une piste qui mérite toute notre attention. L'importance du contexte inflammatoire est depuis longtemps connue dans le développement d'Alzheimer et cette bactérie dispose de capacités uniques favorisant fortement cette inflammation afin de faciliter sa survie. De nouveaux traitements sont à l'étude pour limiter l'impact de *P. gingivalis* et notamment l'activité de ses gingipaines qui pourraient être la clé de la maladie d'Alzheimer. L'avenir nous dira si cette hypothèse est viable ou non, mais elle pourrait révolutionner notre compréhension de la maladie et les traitements que nous pourrions apporter pour contrecarrer le développement d'Alzheimer.

Serment de Galien

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Bibliographie

1. Organisation Mondiale de la Santé. (Page consultée le 15/11/2020). La démence. <https://www.who.int/topics/dementia/fr/>.
2. Alzheimer Europe. (Page consultée le 15/11/2020) . Dementia in Europe Yearbook 2019. <https://www.alzheimer-europe.org/Publications/Dementia-in-Europe-Yearbooks>.
3. Fondation pour la Recherche Médicale. (Page consultée le 15/11/2020). Les formes précoces de la maladie d'Alzheimer. <https://www.frm.org/recherches-maladies-neurologiques/maladie-d-alzheimer/alzheimer-formes-precoces>.
4. Norton S, Matthews FE, Barnes DE, Yaffe K, Brayne C. Potential for primary prevention of Alzheimer's disease: an analysis of population-based data. *Lancet Neurol.* août 2014 ;13(8):788-94.
5. Fondation Médéric Alzheimer. Rapport d'étude : Combien coûte la maladie d'Alzheimer. Sept 2015;
6. Assemblée nationale. 15ème législature, question numéro 26157. <https://questions.assemblee-nationale.fr/q15/15-26157QE.htm>.
7. Organisation Mondiale de la Santé. " Projet de plan mondial d'action de santé publique contre la démence " https://www.who.int/mental_health/neurology/dementia/oms-plan-mondial-dementia-infographie-2017.pdf?ua=1.
8. Ministère de la Santé. Plan Maladies Neuro-Dégénératives 2014-2019. :124.
9. Collège des enseignements de neurologie. (Page consultée le 15/11/2020). Le syndrome démentiel. <https://www.cen-neurologie.fr/premier-cycle/s%C3%A9miologie-analytique/syndrome-myogène-myopathique/syndrome-myogène-myopathique-9>.
10. Verkhatsky A, Olabarria M, Noristani HN, Yeh C-Y, Rodriguez JJ. Astrocytes in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics.* oct 2010;7(4):399-412.

11. Haute Autorité de santé. Maladie d'Alzheimer et maladies apparentées : diagnostic et prise en charge. déc 2018;
12. Alzheimer Association. (Page consultée le 15/11/2020). Les 10 symptômes d'Alzheimer. <https://www.alz.org/fr/10-signes-et-symptomes-d-alzheimer.asp>.
13. J Hardy, D Allsop. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. 1991 ;383-8.
14. INSERM. (Page consultée le 15/11/2020). Les plaques amyloïdes. <http://accs.ens-lyon.fr/accs/thematiques/neurosciences/actualisation-des-connaissances/maladies-et-traitements/alzheimer/la-maladie-dalzheimer-a-lechelle-cellulaire-et-moleculaire/les-palques>.
15. Carrillo-Mora P, Luna R, Colín-Barenque L. Amyloid Beta : Multiple Mechanisms of Toxicity and Only Some Protective Effects ? Oxid Med Cell Longev. 2014 ;2014 :1-15.
16. MP Mattson , B Cheng , AR Culwell , FS Esch , I Lieberburg , RE Rydel. Evidence for excitoprotective and intraneuronal calcium-regulating roles for secreted forms of the bêta-amyloid precursor protein. févr 1993;
17. Yuesong Gong, Lippa CF. Review: Disruption of the Postsynaptic Density in Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Dementias. Am J Alzheimers Dis Dementiasr. nov 2010;25(7):547-55.
18. Johansson S, Radesäter A-C, Cowburn RF, Thyberg J, Luthman J. Modelling of amyloid β -peptide induced lesions using roller-drum incubation of hippocampal slice cultures from neonatal rats. Exp Brain Res. janv 2006;168(1-2):11-24.
19. Li S, Hong S, Shepardson NE, Walsh DM, Shankar GM, Selkoe D. Soluble Oligomers of Amyloid β Protein Facilitate Hippocampal Long-Term Depression by Disrupting Neuronal Glutamate Uptake. Neuron. Juin 2009 ;62(6) :788-801.
20. Liu Q -s., Kawai H, Berg DK. -Amyloid peptide blocks the response of 7-containing nicotinic receptors on hippocampal neurons. Proc Natl Acad Sci. 10 avr 2001 ;98(8) :4734-9.
21. Simon Matthieu. (Page consultée le 15/11/2020). Chaîne respiratoire et phosphorylation oxydative. <https://www.cours-pharmacie.com/biochimie/chaine-respiratoire-et-phosphorylation-oxydative.html>.

22. C S Casley, L Canevari, J M Land, J B Clark, M A Sharpe. Bêta-amyloid inhibits integrated mitochondrial respiration and key enzyme activities. janv 2002;
23. Jean Claude Desport, Philippe Couratier. Stress oxydant et maladie neuro-dégénératives. 2002 ;10-8.
24. Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. Médecine/sciences. avr 2011;27(4):405-12.
25. Butterfield DA, Boyd-Kimball D. Oxidative Stress, Amyloid- β Peptide, and Altered Key Molecular Pathways in the Pathogenesis and Progression of Alzheimer's Disease. Perry G, Avila J, Tabaton M, Zhu X, éditeurs. J Alzheimers Dis. 13 mars 2018 ;62(3):1345-67.
26. Hensley K, Hall N, Subramaniam R, Cole P, Harris M, Aksenov M, et al. Brain Regional Correspondence Between Alzheimer's Disease Histopathology and Biomarkers of Protein Oxidation. J Neurochem. 23 nov 2002 ;65(5) :2146-56.
27. Smith DG, Cappai R, Barnham KJ. The redox chemistry of the Alzheimer's disease amyloid β peptide. Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr. Août 2007 ;1768(8) :1976-90.
28. Weingarten MD, Lockwood AH, Hwo SY, Kirschner MW. A protein factor essential for microtubule assembly. Proc Natl Acad Sci. 1 mai 1975 ;72(5) :1858-62.
29. Kolarova M, García-Sierra F, Bartos A, Ricny J, Ripova D. Structure and Pathology of Tau Protein in Alzheimer Disease. Int J Alzheimers Dis. 2012 ;2012 :1-13.
30. Zhao N, Liu C-C, Qiao W, Bu G. Apolipoprotein E, Receptors, and Modulation of Alzheimer's Disease. Biol Psychiatry. févr 2018;83(4):347-57.
31. Keable A, Fenna K, Yuen HM, Johnston DA, Smyth NR, Smith C, et al. Deposition of amyloid β in the walls of human leptomeningeal arteries in relation to perivascular drainage pathways in cerebral amyloid angiopathy. Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis. Mai 2016 ;1862(5) :1037-46.
32. S Mitake K Ojika, A Hirano. Hirano bodies and Alzheimer's disease. 1997 ;
33. Calsolaro V, Edison P. Neuroinflammation in Alzheimer's disease: Current evidence and future directions. Alzheimers Dement. Juin 2016 ;12(6) :719-32.

34. H Fillit, W H Ding, L Buee, J Kalman, L Altstiel, B Lawlor, G Wolf-Klein. Elevated circulating tumor necrosis factor levels in Alzheimer's disease. 1991 ;318-20.
35. Jun-Tao Guo, Jin Yu, David Grass, Frederick C de Beer, Mark S Kindy. Inflammation-dependent cerebral deposition of serum amyloid a protein in a mouse model of amyloidosis. 2002 ;5900-9.
36. Communiqué de presse de la HAS. Médicaments de la maladie d'Alzheimer : un intérêt médical insuffisant pour justifier leur prise en charge par la solidarité nationale. 21 oct 2016 ;
37. Sheila A. Doggrell. Lessons that can be learnt from the failure of verubecestat in Alzheimer's disease. 18 août 2019 ;2095-9.
38. Wessels AM, Tariot PN, Zimmer JA, Selzler KJ, Bragg SM, Andersen SW, et al. Efficacy and Safety of Lanabecestat for Treatment of Early and Mild Alzheimer Disease: The AMARANTH and DAYBREAK-ALZ Randomized Clinical Trials. JAMA Neurol. 1 févr 2020 ;77(2) :199.
39. Novak G, Streffer JR, Timmers M, Henley D, Brashear HR, Bogert J, et al. Long-term safety and tolerability of atabecestat (JNJ-54861911), an oral BACE1 inhibitor, in early Alzheimer's disease spectrum patients : a randomized, double-blind, placebo-controlled study and a two-period extension study. Alzheimers Res Ther. déc 2020;12(1):58.
40. Doggrell SA. Grasping at straws: the failure of solanezumab to modify mild Alzheimer's disease. Expert Opin Biol Ther. 2 déc 2018 ;18(12) :1189-92.
41. Cai Z, Liu N, Wang C, Qin B, Zhou Y, Xiao M, et al. Role of RAGE in Alzheimer's Disease. Cell Mol Neurobiol. Mai 2016 ;36(4) :483-95.
42. Galimberti D, Scarpini E. Pioglitazone for the treatment of Alzheimer's disease. Expert Opin Investig Drugs. 2 janv 2017 ;26(1) :97-101.
43. Grossberg GT, Kohegyi E, Mergel V, Josiassen MK, Meulien D, Hobart M, et al. Efficacy and Safety of Brexpiprazole for the Treatment of Agitation in Alzheimer's Dementia: Two 12-Week, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trials. Am J Geriatr Psychiatry. avr 2020;28(4):383-400.

44. Université de Rennes 1. (Page consultée le 15/11/2020). Bactérie à gram négatif. <http://www.unsof.org/media/bacterio/html/cours-N109F8-5.html>.
45. Criton M. Diagnostic microbiologique en parodontologie : méthodes et intérêts cliniques. :188.
46. Dr C.Badet. (Page consultée le 15/11/2020). Sphère Bucco-dentaire, quel est le risque infectieux ? https://www.cpias-nouvelle-aquitaine.fr/wp-content/uploads/2015/12/ARCA_2016_Badet.pdf.
47. Bik EM, Long CD, Armitage GC, Loomer P, Emerson J, Mongodin EF, et al. Bacterial diversity in the oral cavity of 10 healthy individuals. ISME J. août 2010 ;4(8) :962-74.
48. HAIN Lifescience. (Page consultée le 15/11/2020) Facteurs de risques : Bactéries. <https://www.micro-ident.de/fr/dentists/parodontite/facteur-de-risque-bacteries/>.
49. Enersen M, Nakano K, Amano A. *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. J Oral Microbiol. janv 2013 ;5(1) :20265.
50. A Amano 1, H T Sojar, J Y Lee, A Sharma, M J Levine, R J Genco. Salivary receptors for recombinant fimbriin of *Porphyromonas gingivalis*. 1994 ;3372-80.
51. CISMeF. (Page consultée le 15/11/2020) Lipopolysaccharide, descripteur MeSH <http://www.chu-rouen.fr/page/lipopolysaccharides>.
52. Mysak J, Podzimek S, Sommerova P, Lyuya-Mi Y, Bartova J, Janatova T, et al. *Porphyromonas gingivalis* : Major Periodontopathic Pathogen Overview. J Immunol Res. 2014 ;2014 :1-8.
53. Coats SR, Jones JW, Do CT, Braham PH, Bainbridge BW, To TT, et al. Human Toll-like receptor 4 responses to *P. gingivalis* are regulated by lipid A 1- and 4'-phosphatase activities. Cell Microbiol. nov 2009 ;11(11):1587-99.
54. Darveau RP, Pham T-TT, Lemley K, Reife RA, Bainbridge BW, Coats SR, et al. *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide Contains Multiple Lipid A Species That Functionally Interact with Both Toll-Like Receptors 2 and 4. Infect Immun. Sept 2004 ;72(9) :5041-51.
55. Smalley JW, Olczak T. Heme acquisition mechanisms of *Porphyromonas gingivalis* - strategies used in a polymicrobial community in a heme-limited host environment. Mol Oral Microbiol. févr 2017 ;32(1) :1-23.

56. Smalley JW, Birss AJ, Szmigielski B, Potempa J. Mechanism of methaemoglobin breakdown by the lysine-specific gingipain of the periodontal pathogen *Porphyromonas gingivalis*. *Biol Chem*. 1 sept 2008 ;389(9).
57. M.J. Gui, S.G. Dashper, N. Slakeski, Y-Y. Chen and E.C. Reynolds. Spheres of influence : *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles. 2016 ;
58. Xie H. Biogenesis and function of *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles. 2016 ;17.
59. Bostanci N, Belibasakis GN. *Porphyromonas gingivalis* : an invasive and evasive opportunistic oral pathogen. *FEMS Microbiol Lett*. Août 2012 ;333(1) :1-9.
60. Baker BJ, Akhtar LN, Benveniste EN. SOCS1 and SOCS3 in the control of CNS immunity. *Trends Immunol*. Août 2009 ;30(8) :392-400.
61. M Kontani, S Kimura, I Nakagawa, S Hamada. Adherence of *Porphyromonas gingivalis* to matrix proteins via a fimbrial cryptic receptor exposed by its own arginine-specific protease. Juin 1997 ;
62. Carlisle MD, Srikantha RN, Brogden KA. Degradation of Human α - and β -Defensins by Culture Supernatants of *Porphyromonas gingivalis* Strain 381. *J Innate Immun*. 2009 ;1(2) :118-22.
63. Imamura T. The Role of Gingipains in the Pathogenesis of Periodontal Disease. *J Periodontol*. janv 2003;74(1):111-8.
64. Clais S, Boulet G, Kerstens M, Horemans T, Teughels W, Quirynen M, et al. Importance of biofilm formation and dipeptidyl peptidase IV for the pathogenicity of clinical *Porphyromonas gingivalis* isolates. *Pathog Dis*. avr 2014;70(3):408-13.
65. Banbula A, Mak P, Bugno M, Silberring J, Dubin A, Nelson D, et al. Prolyl Tripeptidyl Peptidase from *Porphyromonas gingivalis* : A NOVEL ENZYME WITH POSSIBLE PATHOLOGICAL IMPLICATIONS FOR THE DEVELOPMENT OF PERIODONTITIS. *J Biol Chem*. 2 avr 1999 ;274(14) :9246-52.
66. Henry LG, McKenzie RM, Robles A, Fletcher HM. Oxidative stress resistance in *Porphyromonas gingivalis*. *Future Microbiol*. avr 2012 ;7(4) :497-512.

67. Weinberg A, Belton CM, Park Y, Lamont RJ. Role of fimbriae in *Porphyromonas gingivalis* invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun*. 1997 ;65(1) :313-6.
68. R J Gibbons, D I Hay, W C Childs 3rd, G Davis. Role of cryptic receptors (cryptitopes) in bacterial adhesion to oral surfaces. 1990 ;107S-114S.
69. Hasegawa Y, Tribble GD, Baker HV, Mans JJ, Handfield M, Lamont RJ. Role of *Porphyromonas gingivalis* SerB in Gingival Epithelial Cell Cytoskeletal Remodeling and Cytokine Production. *Infect Immun*. Juin 2008 ;76(6) :2420-7.
70. Takeuchi H, Furuta N, Morisaki I, Amano A. Exit of intracellular *Porphyromonas gingivalis* from gingival epithelial cells is mediated by endocytic recycling pathway: Exit of *P. gingivalis* from infected cells. *Cell Microbiol*. mai 2011 ;13(5) :677-91.
71. Nakhjiri SF, Park Y, Yilmaz O, Chung WO, Watanabe K, El-Sabaeny A, et al. Inhibition of epithelial cell apoptosis by *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Microbiol Lett*. Juin 2001 ;200(2) :145-9.
72. Andrian E, Grenier D, Rouabhia M. *Porphyromonas gingivalis* -Epithelial Cell Interactions in Periodontitis. *J Dent Res*. Mai 2006 ;85(5) :392-403.
73. Groeger S, Jarzina F, Domann E, Meyle J. *Porphyromonas gingivalis* activates NFκB and MAPK pathways in human oral epithelial cells. *BMC Immunol*. déc 2017;18(1):1.
74. Hajishengallis G. Immune Evasion Strategies of *Porphyromonas gingivalis*. *J Oral Biosci*. Janv 2011 ;53(3) :233-40.
75. Hajishengallis G, Shakhatreh M-AK, Wang M, Liang S. Complement Receptor 3 Blockade Promotes IL-12-Mediated Clearance of *Porphyromonas gingivalis* and Negates Its Virulence In Vivo. *J Immunol*. 15 août 2007 ;179(4) :2359-67.
76. Sochalska M, Potempa J. Manipulation of Neutrophils by *Porphyromonas gingivalis* in the Development of Periodontitis. *Front Cell Infect Microbiol*. 23 mai 2017 ;7 :197.
77. Khalaf H, Bengtsson T. Altered T-Cell Responses by the Periodontal Pathogen *Porphyromonas gingivalis*. Das G, éditeur. *PLoS ONE*. 12 sept 2012 ;7(9) : e45192.
78. Kitamura Y, Yoneda M, Imamura T, Matono S, Aida Y, Hirofuji T, Maeda K. Gingipains in the culture supernatant of *Porphyromonas gingivalis* cleave CD4 and CD8 on human T cells. 2002 ;464-8.

79. Dalia E. Gaddis,1 Craig L. Maynard, Casey T. Weaver, Suzanne M. Michalek, and Jannet Katz. Role of TLR2-dependent IL-10 production in the inhibition of the initial IFN- γ T cell response to *Porphyromonas gingivalis*. *Janv 2013 ;21-31*.
80. Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, et al. *Porphyromonas gingivalis* promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun. déc 2012 ;39(4) :294-303*.
81. Marie P, Halbout P. OPG/RANKL : Implication et cible thérapeutique dans l'ostéoporose. *médecine/sciences. Janv 2008 ;24(1) :105-10*.
82. Kassem A, Henning P, Lundberg P, Souza PPC, Lindholm C, Lerner UH. *Porphyromonas gingivalis* Stimulates Bone Resorption by Enhancing RANKL (Receptor Activator of NF- κ B Ligand) through Activation of Toll-like Receptor 2 in Osteoblasts. *J Biol Chem. 14 août 2015 ;290(33) :20147-58*.
83. Rui Vicente Oppermann, Patricia Weidlich, Marta Liliana Muszkopf. Periodontal disease and systemic complications. *2012 ;39-47*.
84. Marysette Folliguet. Prévention de la santé bucco-dentaire chez les personnes âgées. https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Prevention_bucco-dentaire_chez_les_personnes_agees.pdf. *Mai 2006 ;*
85. Noble JM, Scarmeas N, Celenti RS, Elkind MSV, Wright CB, Schupf N, et al. Serum IgG Antibody Levels to Periodontal Microbiota Are Associated with Incident Alzheimer Disease. *Amar S, éditeur. PLoS ONE. 18 déc 2014 ;9(12) : e114959*.
86. Dominy SS, Lynch C, Ermini F, Benedyk M, Marczyk A, Konradi A, et al. *Porphyromonas gingivalis* in Alzheimer's disease brains: Evidence for disease causation and treatment with small-molecule inhibitors. *Sci Adv. janv 2019 ;5(1) : eaau3333*.
87. Ide M, Harris M, Stevens A, Sussams R, Hopkins V, Culliford D, et al. Periodontitis and Cognitive Decline in Alzheimer's Disease. *Garg P, éditeur. PLOS ONE. 10 mars 2016 ;11(3) : e0151081*.
88. Leblhuber F, Huemer J, Steiner K, Gostner JM, Fuchs D. Knock-on effect of periodontitis to the pathogenesis of Alzheimer's disease ? *Wien Klin Wochenschr. 25 mars 2020 ;*

89. Sparks Stein P, Steffen MJ, Smith C, Jicha G, Ebersole JL, Abner E, et al. Serum antibodies to periodontal pathogens are a risk factor for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement.* Mai 2012 ;8(3) :196-203.
90. Nie R, Wu Z, Ni J, Zeng F, Yu W, Zhang Y, et al. *Porphyromonas gingivalis* Infection Induces Amyloid- β Accumulation in Monocytes/Macrophages. Singhrao S, éditeur. *J Alzheimers Dis.* 12 nov 2019 ;72(2) :479-94.
91. Wu Z, Nakanishi H. Connection Between Periodontitis and Alzheimer's Disease: Possible Roles of Microglia and Leptomeningeal Cells. *J Pharmacol Sci.* 2014 ;126(1) :8-13.
92. Zhang J, Yu C, Zhang X, Chen H, Dong J, Lu W, et al. *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide induces cognitive dysfunction, mediated by neuronal inflammation via activation of the TLR4 signaling pathway in C57BL/6 mice. *J Neuroinflammation.* déc 2018 ;15(1) : 37.
93. Liu Y, Wu Z, Nakanishi Y, Ni J, Hayashi Y, Takayama F, et al. Infection of microglia with *Porphyromonas gingivalis* promotes cell migration and an inflammatory response through the gingipain-mediated activation of protease-activated receptor-2 in mice. *Sci Rep.* déc 2017 ;7(1) : 11759.
94. Soscia SJ, Kirby JE, Washicosky KJ, Tucker SM, Ingelsson M, Hyman B, et al. The Alzheimer's Disease-Associated Amyloid β -Protein Is an Antimicrobial Peptide. Bush AI, éditeur. *PLoS ONE.* 3 mars 2010 ;5(3) : e9505.
95. Marques MA, Kulstad JJ, Savard CE, Green PS, Lee SP, Craft S, et al. Peripheral Amyloid- β Levels Regulate Amyloid- β Clearance from the Central Nervous System. *J Alzheimers Dis.* 16 févr 2009 ;16(2) : 325-9.
96. Gosselet F, Candela P, Cecchelli R, Fenart L. La barrière hémato-encéphalique : Une nouvelle cible thérapeutique dans la maladie d'Alzheimer ? *médecine/sciences.* nov 2011;27(11):987-92.
97. Zeng F, Liu Y, Huang W, Qing H, Kadowaki T, Kashiwazaki H, et al. Receptor for advanced glycation end products up-regulation in cerebral endothelial cells mediates cerebrovascular-related amyloid β accumulation after *Porphyromonas gingivalis* infection. *J Neurochem.* 15 juin 2020 ; jnc.15096.

98. Airoidi C, Colombo L, Manzoni C, Sironi E, Natalello A, Doglia SM, et al. Tetracycline prevents A β oligomer toxicity through an atypical supramolecular interaction. *Org Biomol Chem*. 2011 ;9(2) : 463-72.
99. Balducci C, Santamaria G, La Vitola P, Brandi E, Grandi F, Viscomi AR, et al. Doxycycline counteracts neuroinflammation restoring memory in Alzheimer's disease mouse models. *Neurobiol Aging*. Oct 2018 ;70 : 128-39.
100. Tai C-H, Bellesi M, Chen A-C, Lin C-L, Li H-H, Lin P-J, et al. A new avenue for treating neuronal diseases: Ceftriaxone, an old antibiotic demonstrating behavioral neuronal effects. *Behav Brain Res*. Mai 2019 ;364 : 149-56.
101. Umeda T, Ono K, Sakai A, Yamashita M, Mizuguchi M, Klein WL, et al. Rifampicin is a candidate preventive medicine against amyloid- β and tau oligomers. *Brain*. Mai 2016 ; 139(5) : 1568-86.
102. Schwartz BL, Herting RL, Schwartz P, Deutsch SI. d-Cycloserine enhances implicit memory in Alzheimer patients. :6.
103. Guevara T. Structural determinants of inhibition of *Porphyromonas gingivalis* gingipain K by KYT-36, a potent, selective, and bioavailable peptidase inhibitor. 2019 ; 8.
104. GAIN. (Page consultée le 15/11/2020) Alzheimer's trial. <https://gaintrial.com>.

Université de Bordeaux
FACULTÉ DE PHARMACIE DE BORDEAUX
DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Titre : *Porphyromonas gingivalis*, porte d'entrée vers la maladie d'Alzheimer ?

Résumé :

En étant la première cause de démence au monde la maladie d'Alzheimer fait figure de problématique majeure de santé publique du XXI^e siècle. Son apparition progressive perturbe la mémoire, les fonctions cognitives et entraîne une perte d'autonomie chez les patients touchés. Les principaux éléments qui la composent sont l'apparition de plaques amyloïdes, l'hyper-phosphorylation des protéines Tau, la neuro-inflammation et l'accroissement du stress oxydatif. On estime cependant qu'un tiers des cas de maladie d'Alzheimer dans le monde pourraient être attribués à des facteurs de risque potentiellement modifiables. Nous étudierons ici une possible étiologie bactérienne en lien avec une infection buccale dans le développement de la maladie en se focalisant notamment sur une bactérie particulière, *Porphyromonas gingivalis*.

Title : *Porphyromonas gingivalis*, gateway to Alzheimer's disease ?

Abstract :

Alzheimer's disease is the leading cause of dementia in the world and a major public health issue of the 21st century. Its progressive appearance disrupts memory, cognitive functions and leads to loss of autonomy in affected patients. The main components are the appearance of amyloid plaques, hyper-phosphorylation of Tau proteins, neuro-inflammation and increased oxidative stress. However, it is estimated that one-third of the world's cases of Alzheimer's disease could be attributed to potentially modifiable risk factors. We will study a possible bacterial etiology related to an oral infection in the development of the disease by focusing on a particular bacterium, *Porphyromonas gingivalis*.

Disciplines : Neurologie, Bactériologie, Sciences Pharmaceutiques

Mot clés : *Porphyromonas gingivalis*, bactérie, parodontite, Alzheimer, gingipaines