

La *trans* ϵ -viniférine et la maladie d'Alzheimer

Une issue thérapeutique ?

Jérôme Guillard, Guylène Page, Fabienne Perrona et Agnès Rioux-Bilan

Résumé La maladie d'Alzheimer est caractérisée par plusieurs altérations cellulaires et moléculaires contre lesquelles il serait nécessaire de trouver un médicament multicible. Les polyphénols présentant de multiples effets pharmacologiques ont été utilisés dans ce projet. Il a ainsi été mis en évidence que dans un modèle cellulaire de la maladie d'Alzheimer, la *trans* ϵ -viniférine présentait des propriétés anti-inflammatoires et de désagrégation du peptide β -amyloïde ($A\beta$) supérieures à celles du resvératrol. La *trans* ϵ -viniférine a également un effet anti-inflammatoire dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer et atténue la formation des dépôts amyloïdes. Elle pourrait donc être une molécule thérapeutique multicible pertinente.

Mots-clés *Trans* ϵ -viniférine, maladie d'Alzheimer, peptide amyloïde $A\beta$, dépôts amyloïdes, inflammation, molécule multicible.

Abstract *Trans* ϵ -viniferin, a natural polyphenol against Alzheimer's disease
Alzheimer's disease is a disease affecting many cellular and molecular targets and therefore requires a search for therapeutic multi-target molecules. Polyphenols presenting multiple pharmacological effects seem to be more efficient. Our findings demonstrated that *trans* ϵ -viniferin, a natural polyphenol, both induced the disaggregation of $A\beta_{42}$ peptide and rescued inflammation on murine primary neuronal cultures. Moreover, it goes through the blood brain barrier and decreases inflammation and size of amyloid plaques in APPswePS1dE9 mice.

Keywords *Trans* ϵ -viniferin, Alzheimer's disease, amyloid peptide, amyloid deposits, inflammation, multi-target molecule.

Les sarments de vigne constituent une source importante et renouvelable de molécules à très haute valeur ajoutée de type polyphénols issues de la voie des phénylpropanoïdes, telles que la *trans* ϵ -viniférine. Ces molécules sont de puissants antioxydants et probablement de forts médiateurs d'effets biologiques qui intéressent aujourd'hui les industriels.

Notre projet VinOX porte sur l'utilisation de cette source renouvelable et l'extraction principalement de la *trans* ϵ -viniférine et dans une moindre mesure du *trans*-resvératrol au moyen d'une écotechnologie (extrudeuse réactive, brevet Valagro WO 2014076425) pour les valoriser dans diverses applications (dont la protection naturelles des plantes et la conservation des organes), mais principalement sur une problématique de santé publique : la maladie d'Alzheimer, grâce à la collaboration étroite développée avec le laboratoire EA3808 de Poitiers. Cette écotechnologie est développée à l'échelle pilote par la société EcoEthanol. EcoEthanol Poitou-Charentes est filiale à 100 % de la société d'économie mixte Valagro Carbone Renouvelable Poitou-Charentes dont la Région Nouvelle-Aquitaine est l'actionnaire majoritaire. Valagro est un centre de R & D dédié à la valorisation industrielle de la biomasse, de ses coproduits et des déchets. Ses trois domaines d'expertise avec des applications multiples sont : l'oléochimie, la chimie de la lignocellulose et la chimie des matériaux.

Le procédé développé par Valagro et mis en œuvre sur l'unité d'EcoEthanol dans le projet VinOX est continu, réduit la quantité de solvant nécessaire, est économique et a démontré de hauts rendements d'extraction.

Préambule

La maladie d'Alzheimer est un véritable problème de santé publique. En effet, sa prévalence ne cesse d'augmenter, notamment à cause du vieillissement de la population. On estime ainsi que 18 millions de personnes sont atteintes dans le monde, 900 000 en France et 25 000 en Poitou-Charentes, région dont la moyenne d'âge des habitants est assez élevée et qui est donc particulièrement touchée. Si aucun traitement n'est découvert d'ici là, on estime que le nombre de personnes atteintes va quasiment doubler d'ici vingt ans.

La maladie d'Alzheimer évolue progressivement vers un syndrome associant confusion, difficultés de jugement, modifications de la personnalité, désorientation et perte des capacités de langage, conduisant à un état grabataire et une dépendance des patients nécessitant une prise en charge lourde et onéreuse, à la fois pour la société et les familles.

Les lésions histopathologiques caractéristiques de cette maladie sont les dégénérescences neurofibrillaires intracellulaires, constituées de la protéine tau anormalement hyperphosphorylée, et les plaques séniles, formées de dépôts de peptide β -amyloïde ($A\beta$) agrégé. L'augmentation des dépôts amyloïdes dans le cerveau est induite par une diminution de la clairance de l' $A\beta$ et un déséquilibre des voies métaboliques de son précurseur APP (« amyloid protein precursor »). Chez un sujet sain, le précurseur APP est majoritairement clivé en APP soluble par la voie dite non amyloïdogénique. Chez un sujet atteint de la maladie d'Alzheimer, cette voie devient minoritaire et c'est la seconde

voie, dite amyloïdogénique, conduisant à la libération d'A β , qui est prépondérante. Le peptide A β s'oligomérisé et s'agrège pour former les dépôts amyloïdes. Ces lésions, ainsi que le stress oxydant et la neuroinflammation conduisent à une perte neuronale cholinergique précoce, responsable des troubles cognitifs.

À ce jour, aucun traitement préventif, curatif ou ralentissant de manière significative la progression de la maladie d'Alzheimer n'existe. Ainsi les études cliniques quantifiant le rôle protecteur des anti-inflammatoires [1], des antioxydants [2] ou d'inhibiteurs de l'oligomérisation et de l'agrégation du peptide amyloïde [3] n'ont pas prouvé l'efficacité de ces molécules qui n'agissent que sur une seule cible de la maladie. La recherche de nouvelles molécules permettant de ralentir l'évolution de la maladie et le déclin cognitif est indispensable et la nécessité de trouver des molécules multicibles pour lutter contre la maladie d'Alzheimer est de plus en plus établie. Ainsi, des molécules prévenant l'agrégation du peptide A β ou provoquant sa désagrégation et ayant simultanément des actions anti-inflammatoires et antioxydantes sont des bons candidats.

Le resvératrol, polyphénol présentant des propriétés antioxydantes [4], anti-inflammatoires [5], chélatrices d'A β [6] et ayant un effet sur les dimères de tau dans divers modèles de la maladie d'Alzheimer semble intéressant mais présente l'inconvénient d'être rapidement métabolisé. La *trans* ϵ -viniférine, dimère du resvératrol, dont les effets anti-inflammatoires et sur l'agrégation du peptide A β *in vitro* sont significativement supérieurs à ce polyphénol de référence, est une molécule particulièrement prometteuse car facile d'accès et annuellement renouvelable (elle est présente dans les sarments de vigne à hauteur de 0,1 %, soit 1 g dans 1 kg de sarments).

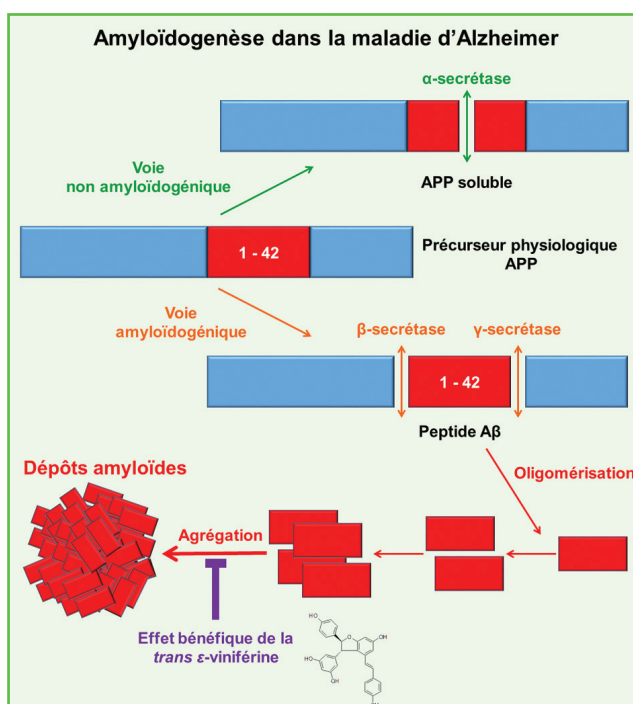
Résultats

En 2013, une première étude *in vitro*, financée par la Région Poitou-Charentes dans le cadre du projet VinOX, a été réalisée. Les propriétés anti-inflammatoires de la *trans* ϵ -viniférine et du resvératrol ont été évaluées et comparées dans un modèle cellulaire de la maladie d'Alzheimer, préalablement validé au sein de l'EA3808 [7]. Ainsi, à 1 μ M, concentration non toxique pour ces deux polyphénols, la *trans* ϵ -viniférine a un effet anti-inflammatoire supérieur à celui du resvératrol [8].

L'effet de ces polyphénols sur l'état du peptide A β a été également évalué. Outre leurs capacités d'inhibition de l'agrégation du peptide A β déjà connues, ces deux molécules sont également capables d'induire une désagrégation du peptide A β préalablement agrégé. Le resvératrol n'induit qu'une désagrégation partielle tandis que la *trans* ϵ -viniférine provoque la désagrégation quasi complète du peptide préalablement agrégé [8].

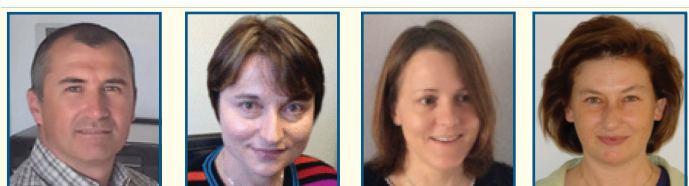
Ces résultats très prometteurs nous ont conduit à envisager un nouveau partenariat transdisciplinaire entre les laboratoires IC2MP et EA3808/CiMoTheMA pour la réalisation d'une étude *in vivo* dans un modèle murin de la maladie d'Alzheimer. Dans un premier temps, il a été vérifié que la *trans* ϵ -viniférine passait la barrière hémato-encéphalique car le traitement mis en place consistait en une injection hebdomadaire des souris par voie intrapéritonéale. Dans un second temps, l'effet de ce stilbénolide sur les dépôts amyloïdes et la neuroinflammation a été évalué. Les premiers résultats ont montré que la *trans* ϵ -viniférine, à une dose non toxique pour les souris, avait des propriétés anti-inflammatoires et limitait la formation des dépôts amyloïdes dans ce modèle animal [9]. La *trans* ϵ -viniférine pourrait donc être sur la bonne voie d'une multithérapie.

Ces résultats doivent maintenant être confirmés sur une cohorte d'animaux plus importante. Il est également nécessaire de faire l'étude des effets de cette molécule sur des souris plus âgées, associée à une évaluation mnésique des animaux. Ceci permettra d'évaluer les effets de la *trans* ϵ -viniférine sur la mort neuronale cholinergique et le déclin cognitif. Pour ces nouvelles expérimentations, le partenariat entre IC2MP et CiMoTheMA sera réactivé.



Références

- [1] Alzheimer's Disease Anti-inflammatory Prevention Trial Research Group (ADAPT), Results of a follow-up study to the randomized Alzheimer's Disease Anti-inflammatory Prevention Trial (ADAPT), *Alzheimers Dement.*, **2013**, 9(6), p. 714.
- [2] Mecocci P., Polidori M.C., Antioxidant clinical trials in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease, *Biochim. Biophys. Acta*, **2012**, 1822(5), p. 631.
- [3] Aisen P.S. et al., Tramiprosate in mild-to-moderate Alzheimer's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-centre study (the Alpha Study), *Arch. Med. Sci.*, **2011**, 7(1), p. 102.
- [4] Huang T.-C. et al., Resveratrol protects rats from A β -induced neurotoxicity by the reduction of iNOS expression and lipid peroxidation, *PLoS One*, **2011**, 6(12), e29102.
- [5] Capiralla H. et al., Resveratrol mitigates lipopolysaccharide- and A β -mediated microglial inflammation by inhibiting the TLR4/NF- κ B/STAT signaling cascade, *J. Neurochem.*, **2012**, 120(3), p. 461.
- [6] Granzotto A., Zatta P., Resveratrol acts not through anti-aggregative pathways but mainly via its scavenging properties against A β and A β -metal complexes toxicity, *PLoS One*, **2011**, 6(6), e21565.
- [7] Couturier J., Paccalin M., Morel M., Terro F., Milin S., Pontcharraud R., Fauconneau B., Page G., Prevention of the β -amyloid peptide-induced inflammatory process by inhibition of double-stranded RNA-dependent protein kinase in primary murine mixed co-cultures, *J. Neuroinflammation*, **2011**, 8(72), doi: 10.1186/1742-2094-8-72.
- [8] Vion E., Page G., Bourdeaud E., Chassaing D., Paccalin M., Guillard J., Rioux-Bilan A., Beneficial effects of *trans* ϵ -viniferin in a mouse primary cellular model of Alzheimer's disease, *J. Nutr.*, soumis pour publication.
- [9] Caillaud M., Guillard J., Chassaing D., Bourdeaud E., Paccalin M., Page G., Rioux-Bilan A., *Trans* ϵ -viniferin prevents amyloid aggregation and inflammation in a mouse Alzheimer model, *J. Alzheimers Dis.*, soumis pour publication.



J. Guillard

G. Page

A. Rioux-Bilan

F. Perrona

Jérôme Guillard est professeur à l'Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP)¹.

Guylène Page est professeur et directrice de l'EA3808 CiMoTheMA et **Agnès Rioux-Bilan**, maître de conférences, à l'Université de Poitiers².

Fabienne Perrona est directrice opérationnelle chez EcoEthanol³.

¹ UMR CNRS 7285 IC2MP (Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers), Équipe responsable de la purification des polyphénols, Université de Poitiers, Équipe 5 Synthèse organique, 4 rue Michel Brunet, TSA 51106, F-86073 Poitiers Cedex 9. Courriel : jerome.guillard@univ-poitiers.fr

² EA3808 CiMoTheMA (Cibles Moléculaires et Thérapeutique de la Maladie d'Alzheimer), Équipe responsable des études biologiques *in vitro* et *in vivo*, Université de Poitiers, Pôle Biologie Santé, Bât. B36/B37, 1 rue Georges Bonnet, TSA 51106, F-86073 Poitiers Cedex 9. Courriels : guylene.page@univ-poitiers.fr ; agnes.rioux-bilan@univ-poitiers.fr http://cimothea.labo.univ-poitiers.fr

³ SAS EcoEthanol, Équipe responsable de l'extraction des polyphénols, F-79500 Melle, et Valagro Carbone Renouvelable Poitou-Charentes, 4 rue Marcel Doré, F-86000 Poitiers. Courriel : fperrona@eco-ethanol.eu