

La place des composés Multi Target Directed Ligands dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

Katia Hamidouche

▶ **To cite this version:**

Katia Hamidouche. La place des composés Multi Target Directed Ligands dans le traitement de la maladie d'Alzheimer. Sciences pharmaceutiques. 2017. dumas-01556379

HAL Id: dumas-01556379

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01556379

Submitted on 5 Jul 2017

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.

UNIVERSITE DE CAEN NORMANDIE

ANNEE 2017

U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

PRESENTEE PAR

Katia HAMIDOUCHE

SUJET : La place des composés "Multi Target Directed Ligands" dans le traitement de la maladie d'Alzheimer

SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE : 31/03/2017

JURY :

Pr. Michel Boulouard	PRESIDENT DU JURY
Dr. Véronique Lelong Boulouard	EXAMINATEUR
Dr. Joanna Bourgine	EXAMINATEUR
Pr. Thomas Freret	

Remerciements

Avant tout, je tiens à dédier ce travail à **mes parents**, que je remercie également profondément pour leurs longs encouragements et soutien, et à qui je présente toute ma reconnaissance et gratitude pour les sacrifices qu'ils ont choisis de faire afin de nous permettre, ma sœur, mes frères et moi-même de faire ces grandes études, et sans lesquels je n'aurai jamais découvert cet univers de savoir et de science « *à la Française* ».

Je tiens à remercier particulièrement les **Prs. Michel Boulouard** et **Thomas Freret**, sans lesquels, presque au même titre que mes parents, je serais encore perdue dans mon travail. Je me plains parfois de la ville de Caen, mais pas de vous, je reconnais la chance de vous avoir comme directeurs de thèses d'exercice et de science. Alors que la plupart des doctorants redoutent les réunions de travail qu'ils entretiennent avec leurs chefs, les nôtres ne sont qu'une grande source d'inspiration et de motivation pour moi, et un moment agréable dont je suis sûre que je regretterai énormément une fois partie, et oui, il faut bien que je parte … un jour, même si ce n'est pas l'impression que je donne.

Je remercie particulièrement les **Drs. Véronique Lelong-Boulouard** et **Joanna Bourgine** pour avoir accepté de prendre le temps d'examiner mon travail de DES et de thèse d'exercice en pharmacie, et de participer à ce jury.

Je remercie ma sœur **Amina**, mes frères **Lyes** et **Aghilas**, alias Billy, pour leur profond soutien et leurs blagues indéfectibles dont je ne peux me lasser.

Je tiens à remercier **ma nouvelle famille** que je côtoie depuis plus de quatre ans maintenant, l'ensemble des membres du laboratoire ex-GMPc, avec qui j'ai noué des liens sans m'en rendre compte. Je vous remercie tous pour votre bonne humeur, et simple présence au labo.

Je remercie bien sur mon cher et tendre époux, **Lyes**, dont le soutien et le réconfort me sont désormais vitaux.

Abréviations

5-HIAA : Acide 5-hydroxyindoleacétique

5-HT : 5-hydroxytryptamine

5-HT_4R : Récepteurs sérotoninergiques de type 4

ACh : Acétylcholine

AChE : Acétylcholinestérase

AChT : Acétylcholine transporteur

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

ApoE : Apolipoprotéine E

APP : Précurseur de la protéine amyloïde (« Amyloïd Precursor Protein »)

ATP : Adénosine Triphosphate

Aβ : Amyloïde bêta

BHE : Barrière hémato-encéphalique

BuChE : Butyrylcholinestérase

BZD : Benzodiazépine

ChAT : Choline acétyl transférase

ChT : Choline transporteur

COX 2 : Cyclo-oxygénase 2

DC : Donecopride

EHPAD : Etablissement d'hébergement de personnes âgées et dépendantes

HAS : Haute autorité de santé

IAChE : Inhibiteurs de l'acétylcholinestérase

IL : Interleukine

iNOS : Monoxyde d'azote Synthase inductible

IRM : Imagerie par résonnance magnétique

LCR : Liquide céphalorachidien

LDH : Lactacte Déshydrogénase

MA : Maladie d'Alzheimer

MAO : Monoamine oxydase

MAP : "Microtubules associated protein"

MCI : "Mild cognitive impairment"

MTDL : "Multi target directed ligands"

NF-κB : "Nuclear factor-kappa B"

NMDA : N-méthyl D-aspartate

P-gp : P glycoprotéine

PKA : Protéine kinase A

PSD 95 : “Postsynaptic density protein 95”

RNS : “Reactive nitrogen species”

ROS : “Reactive oxygen species”

SERT : “Serotonin transporter”

SOD : « Superoxyde Dismutase »

TEP : Tomoscintigraphie par émission de positrons

TNF-α : “Tumor necrosis factor-α “

Table des matières

Introduction 1

1. Historique 2

2. La maladie d'Alzheimer 4

    1. Epidémiologie 4

    2. Facteurs de risques 6

    3. La clinique 11

3. La mémoire 15

4. Neuroanatomie de la mémoire et au cours de la MA 17

5. Physiopathologie de la MA 21

    1. L'environnement cérébral 21

    2. Les plaques séniles amyloïdes 27

    3. Hyperphosphorylation de la protéine Tau 39

    4. Hypothèse cholinergique 42

    5. Dysfonctionnement des autres systèmes de neurotransmission dans la MA 47

6. Diagnostic 48

7. Traitements 51

Problématique 55

Résultats et discussion 57

1. Les nouvelles cibles thérapeutiques 57

    1. Le système sérotoninergique 57

2. Nouvelle Stratégie thérapeutique 70

3. Rappel sur le développement d'un médicament 72

1. La phase exploratoire 72

2. La phase pré-clinique 73

3. La phase clinique 74

- La phase I 74
- La phase II 74
- La phase III 74
- La phase IV 75

4. Les MTDLs 75

1. Le donecopride 76

2. Le composé 7m 89

Conclusion 93

Annexes 95

Références 97

Table des figures :

Figure 1 : Représentation du coût annuel par patient en dollars canadiens de la maladie d'Alzheimer en fonction du degré de sévérité de la maladie (Hux et al., 1998). 5

Figure 2 : Evolution des symptômes au cours de la MA (Ferris and Farlow, 2013). BADL : Basic activities of daily living. 13

Figure 3 : Classification fonctionnelle des systèmes de la mémoire (García-Lázaro et al., 2012). 17

Figure 4 : Atrophie cérébrale chez un sujet âgé non pathologique (80 ans, à droite) comparé au cerveau d'un jeune adulte (30 ans, à gauche) (Nasrallah and Wolk, 2014) 20

Figure 5 : Illustration de la toxicité cellulaire induite par les ROS (Sutherland et al., 2013). 26

Figure 6 : Clivage du précurseur amyloïde par les différentes enzymes sécrétases, définissant les deux voies amyloïdogéniques et non amyloïdogénique (Claeysen et al., 2012). 31

Figure 7 : Mécanisme de nucléation et élongation amyloïde (Ruzafa et al., 2012). 32

Figure 8 : Processus de formation des neurofibrilles de la protéine tau hyperphosphorylée (Šimić et al., 2016). 41

Figure 9 : illustration de l'innervation cholinergique du cerveau humain (Mesulam, 2013). 43

Figure 10 : Photo du psychiatre et neuroanatomiste allemand Theodor Hermann Meynert (Google images). 43

Figure 11 : Synthèse de l'acétylcholine (Zoheir et al., 2012). 44

Figure 12 : Dynamique d'apparition des anomalies des « biomarqueurs » de la MA au cours de son évolution (Jack et al., 2013). 51

Figure 13 : Illustration de l'innervation et voies sérotoninergiques au niveau du cerveau, avec description de la distribution de ses récepteurs (Visser et al., 2011). 58

Figure 14 : Métabolisme de la sérotonine (5-HT) au niveau du cerveau (Visser et al., 2011) 59

Figure 15 : Illustration du développement préclinique d'un médicament (www.leconomiste.com). 73

Figure 16 : Structures chimiques des composés : donepezil, ebselen et le produit de leur association (Luo et al., 2013). 76

Figure 17 : Structures des molécules : RS67333, donepezil et donecopride. 77

Figure 18 : Les composés RS 67333 et le donécopride sont des agonistes partiels des 5-HT_4R (Lecoutey et al., 2014). 78

Figure 19 : Actimètrie : Somme des interruptions des faisceaux dans l'actimètre en activité h orizontale pendant 30 minutes. 82

Figure 20 : Test de reconnaissance d'objet : temps d'exploration des objets nouveaux et familiers, en fonction des différentes doses de donecopride. 84

Figure 21 : Alternance spontanée : Pourcentage d'alternance dans le labyrinthe en fonction d es différents traitements. 86

Figure 22 : Illustration de synthèse de MTDL agonistes des 5-HT_4R et antagonistes des 5-HT_6R. 89

Figure 23 : Actimètrie : Somme des interruptions des faisceaux dans l'actimètre en activité h orizontale pendant 30 minutes. 91

Figure 24 : Alternance spontanée : Pourcentage d'alternances dans le labyrinthe en fonction des différents traitements. 92

Table des tableaux :

Tableau 1 : Principaux déficits mnésiques, symptomatologie clinique en lien avec les pathologies induites et leurs corrélations neuroanatomiques (Matthews, 2015). 19

Tableau 2 : Propriétés du donecopride quant à son activité inhibitrice des ChE comparée au donepezil (médicament référence) (Lecoutey et al., 2014). 77

Tableau 3 : Récapitulatif des propriétés in vitro et in vivo du donecopride. 88

Introduction

Le vieillissement des populations actuellement observé au niveau mondial est accompagné d'une forte augmentation des maladies liées à l'âge, dont les maladies neurodégénératives. L'une de ces pathologies est la maladie d'Alzheimer (MA), responsable de 70% des cas de démence chez les personnes âgées. Décrite pour la première fois il y a plus de 100 ans, la MA est caractérisée sur le plan clinique par une atteinte cognitive, incluant en particulier des troubles mnésiques. D'un point de vue histologique, sont retrouvés au niveau cérébral, en *post mortem,* chez des patients atteints de la MA, des plaques séniles constituées de protéines amyloïdes bêta (Aβ) ainsi que des amas fibrillaires intra-neuronaux dont la protéine tau du cytosquelette est anormalement phosphorylée. Sur le plan thérapeutique, l'arsenal actuellement disponible demeure encore très pauvre, et son efficacité fortement contestée. C'est pourquoi de nouvelles cibles et stratégies thérapeutiques sont actuellement à l'étude, dont les composés MTDL « Multi Target Directed Ligands » qui agissent sur plusieurs cibles de manière simultanée.

1. Historique

En 1901, le médecin Allemand Aloïs Alzheimer (1864-1915), en exercice à l'hôpital spécialisé des maladies mentales et épileptiques de Francfort, décrit chez une patiente âgée de 48 ans, nommée Auguste Deter, une atteinte des fonctions cognitives présentant une symptomatologie variée. Madame Auguste D. a développé au début de sa maladie des comportements incohérents et imprévisibles comme une jalousie envers son mari, elle cachait des objets dans son appartement, elle avait des hallucinations et avait l'impression que quelqu'un voulait la tuer. Le Dr Alzheimer a diagnostiqué chez cette patiente une dégradation de la mémoire ; quand on lui présentait des objets qu'elle revoyait un petit instant plus tard, elle oubliait les avoir vus une première fois. Elle avait des difficultés à la compréhension allant jusqu'à l'aphasie (difficultés à comprendre, parler, lire ou écrire). Madame Auguste D. était également désorientée. La symptomatologie d'Auguste Deter correspondait à ce qu'on appelait à l'époque la démence, mais du fait de son âge relativement jeune, on qualifia son état de démence présénile. En 1906, à la mort d'Auguste Deter des suites d'une septicémie, Aloïs Alzheimer, qui avait toujours suivi le cas de cette patiente obtint de la famille de pratiquer une autopsie. Le Dr. Alois Alzheimer exerçait alors, à Munich, à la clinique psychiatrique royale qui était dirigée par le Professeur Emil Kraepelin, et ce depuis 1903. Grâce à une technique histologie d'imprégnation argentique effectuée sur le cerveau de la défunte Auguste D., il a pu mettre en évidence par observation au microscope deux types de lésions caractéristiques : des plaques séniles, ainsi que des amas anormaux de fibrilles intra-neuronales. Alzheimer publia un article en 1907 (traduction anglaise (Alzheimer et al., 1995) décrivant le cas de sa patiente, sans identifier la maladie. Cette maladie a été définie dans un premier temps comme une démence du sujet jeune, rare et dégénérative, les démences vasculaires du sujet âgé étaient alors définies comme les démences séniles. C'est le professeur Kraepelin qui individualise cette maladie dans son traité de psychiatrie et lui

attribue le nom d'Aloïs Alzheimer.

Aloïs Alzheimer est nommé directeur de la clinique psychiatrique de l'université Freidreich-Wilhelm de Breslau (Wroclaw en Pologne) en 1912, où il est mort le 15 décembre 1915 suite à une affection dégénérative.

Malgré la description histologique d'Aloïs Alzheimer, la plupart des psychiatres ont attribué durant les 50 ans à venir l'origine de symptômes similaires décrits chez d'autres patients au vieillissement normal. Ce n'est qu'en 1960 que la maladie d'Alzheimer est reconnue comme une maladie à part entière par la découverte de lien entre les déficits des fonctions cognitives et la quantité de plaques et les amas de fibrilles.

L'avancée des moyens de recherche scientifiques dans les années 70 a permis aux chercheurs de porter un nouvel intérêt à la MA (Terry et al., 1973). Dans les années 80, les chercheurs ont beaucoup étudié les plaques amyloïdes ainsi que les fibrilles (protéine tau), et les ont principalement mises en cause de la MA (Glenner and Wong, 1984). D'ailleurs ces premières études ont permis d'aboutir à un lien génétique dans la MA pendant les années 90. En effet, un lien a été établi entre la survenue précoce de la MA et une forme mutante de l'apolipoprotéine E (ApoE), qui est une protéine nécessaire au catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides (Diedrich et al., 1991).

En dépit l'intérêt porté à l'étude de la maladie depuis les années 70, le premier traitement de la MA n'a été commercialisé qu'en 1994. Ces traitements reposent sur l'hypothèse de la mise en cause du système cholinergique dans les troubles cognitifs. En effet, le taux d'acétylcholine augmente au niveau du cerveau lorsque des animaux effectuent des tâches mnésiques et la modulation négative de ce système induit des troubles cognitifs. Le premier médicament mis sur le marché était la tacrine, un inhibiteur de l'acétylcholinestérase, qui permet d'augmenter la biodisponibilité du neurotransmetteur

acétylcholine au niveau des fentes synaptiques (Crismon, 1994), elle a été retirée du marché en 2004 en raison de sa toxicité hépatique.

2. La maladie d'Alzheimer

1. *Epidémiologie*

La maladie d'Alzheimer considérée à l'heure actuelle, contrairement à ce que pensait le professeur Kraepelin au début du XXème siècle, est une pathologie commune du sujet âgé. C'est la maladie la plus fréquente des démences, puisqu'à elle seule représente environ 70% des cas de démence chez les personnes âgées (Alzheimer's Association, 2014; Fratiglioni et al., 1999; Small et al., 1997). Selon les données épidémiologiques de l'Organisation Mondiale de la Santé, 35,6 millions de personnes étaient atteintes de cette maladie en avril 2012, et du fait du vieillissement de la population mondiale, ce nombre devrait atteindre 70 millions en 2030 (Castellani et al., 2010).

La prévalence de la maladie augmente avec l'âge des patients. Ainsi, une étude suédoise a démontré que cette prévalence est de 13% chez les sujets âgés de 77 à 84 ans, et de 48% chez les sujets âgés de plus de 95 ans (von Strauss et al., 1999). Un classement de la pathologie en fonction de l'âge de son apparition a été établi. En effet, dans environ 95% des cas, la maladie apparaît après l'âge de 65 ans, c'est la forme sporadique de la MA ou la forme d'apparition tardive. Dans les 5% des cas restant, la maladie survient avant l'âge de 65 ans, et cette proportion représente les cas familiaux, ou MA d'apparition précoce. Actuellement la majeure partie des patients atteints de la MA sont des habitants des pays développés, néanmoins avec l'émergence de pays en voie de développement comme la Chine et le Brésil, l'incidence de la MA ne cessera d'augmenter avec le vieillissement des populations. C'est pourquoi la prise en charge de cette forte population dépendante est un lourd fardeau pour les collectivités.

Les coûts engendrés sont variables selon les stades de la maladie et les pays. Par exemple, une étude Canadienne (Hux et al., 1998) effectuée en 1998 sur les données de l'Etude sur la santé et le vieillissement (ESV) a démontré que le coût de la prise en charge des patients dépend de différents paramètres, comme le type d'hébergement du patient, en institution ou à son propre domicile, et le degré de sévérité de la maladie. D'ailleurs, le placement en institution représente 84% du coût au stade avancé de la maladie, quant aux patients vivant encore chez eux, le recours aux soins prodigués par les services communautaires représente la majeure partie de dépenses. A titre d'exemple, le coût de soin d'un patient atteint de la MA au stade léger était estimé à 9 451 dollars canadiens($) par an, alors que la prise en charge d'un patient au stade avancé de la maladie coûte 36 794 $ (cf. Figure 1)

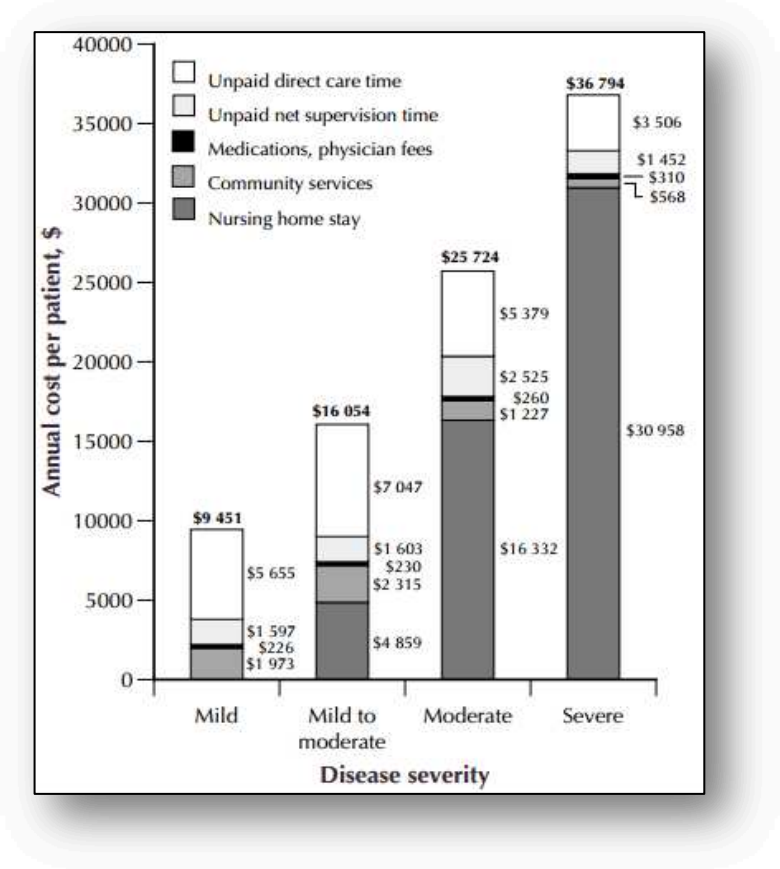


Figure 1 : Représentation du coût annuel par patient en dollars canadiens de la maladie d'Alzheimer en fonction du degré de sévérité de la maladie (Hux et al., 1998)**.**

Il est important de souligner que le coût de la médication n'évolue pas fortement avec le déclin de la maladie, puisque ce coût est de 226$ par an pour un patient au stade léger, et de 310$ au stade avancé. Une étude similaire américaine (Moore et al., 2001), ayant pris en compte le coût en personnel soignant, a révélé une augmentation des coûts de prise en charge des patients en fonction du stade de la maladie, le coût d'accès aux soins estimé pour un patient au stade léger de la maladie est de 12 995 $ américains, et de 27 836 $ pour un patient au stade avancé. Les dernières données épidémiologiques montrent que la MA a coûté au niveau mondial 604 milliards $ américains en 2010 (Wimo et al., 2013). Les données sur le coût global de la MA en France, d'après EuroCoDe (European Collaboration on Dementia, ([CSL STYLE ERROR: reference with no printed form.]) par patient et par an, en 2008, l'estiment à 25 119 euros, et globalement 160 milliards d'euros en l'Union Européenne.

2. *Facteurs de risques*

Différents facteurs influencent la survenue de la MA. Avec les nouveaux comportements de la société actuelle, la diversification et le développement des moyens d'études, la liste est loin d'être exhaustive, puisque de nouveaux facteurs peuvent être encore définis. Ainsi, certains facteurs sont physiologiques comme l'âge et la génétique, alors que d'autres peuvent être liés au comportement comme la consommation de benzodiazépines

- **L'âge** : l'âge des patients est de loin le facteur de risque le plus important de la MA puisqu'il s'agit d'une pathologie du sujet âgé. La MA survient principalement à partir de l'âge de 65 ans, et sa prévalence augmente avec l'âge (von Strauss et al., 1999). Ainsi, une récente étude américaine montre l'importance de l'association entre l'âge et la MA (Panegyres et al., 2014). En effet, le suivi de cohortes de sujets âgés jusqu'à leur décès a démontré que le nombre de patients atteints de la MA est plus important chez les

populations âgées. Cette étude rend davantage compte de l'interaction entre l'âge et la MA, puisqu'elle s'est concentrée sur des suivis de population de différentes origines.

- **Le sexe** : de manière intéressante la fréquence de survenue de la MA est différente chez les hommes et les femmes. En effet, il est établi depuis les années 90 que les femmes sont plus à risque de développer la maladie que les hommes (Gao et al., 1998). Cet effet est lié à l'espérance de vie qui est supérieure chez les femmes, puisqu'elles vivent plus longtemps que les hommes et vivent plus longtemps avec la maladie (Yang and Levey, 2015). Au-delà de l'espérance de vie, les deux sexes présentent des risques cliniques initiaux différents pour le développement de la MA. Ainsi, les femmes souffrent généralement de dépression avant la survenue de la pathologie, et présentent un risque plus élevé lorsqu'elles sont porteuses de l'allèle ApoE-Ɛ4, alors que les hommes majorent leur risque d'évolution vers la pathologie par un risque cardiovasculaire plus important (Kim et al., 2015). Certaines études qui prennent en compte les deux sexes quant à l'incidence de certains facteurs comme la dépression, l'allèle ApoE-Ɛ4 ou encore le mariage, montrent que les femmes sont plus sensibles que les hommes face à la MA (de Oliveira et al., 2014). De nombreuses études tentent également d'expliquer cette sensibilité différente des deux sexes à la pathologie par un facteur hormonal. En effet, les femmes atteintes de la MA présentent des taux d'estrogènes circulants et cérébraux inférieurs à ceux de sujets contrôles, et l'hormonothérapie substitutive semblent améliorer les fonctions cognitives (Vest and Pike, 2013). Cette même étude rapporte un effet protecteur similaire des hormones androgènes chez les hommes sur l'apparition de la MA. Néanmoins, certaines études ont démontré des effets controversés de l'hormonothérapie substitutive dus aux effets de randomisation ou à l'élément cognitif pris en compte (Haskell et al., 1997). D'autres facteurs de variabilité, comme le stress qui est plus important chez les femmes ou encore le taux de cortisol plus élevé chez les

hommes, peuvent également constituer une source de vulnérabilité à la pathologie (Munro, 2014).

- **Génétique** : Les études menées sur des cas familiaux de la MA ont démontré que le risque de développer la maladie est important lorsqu'un parent de premier degré est atteint (Mayeux et al., 1991). De plus, au cours des études menées sur la physiopathologie de la MA, le lien a été rapidement établi entre la MA et des variantes génétiques du précurseur de la protéine amyloïde (APP) synthétisée au niveau cérébral (Tanaka et al., 1988). En effet, Chouraki a rapporté dans son étude que les facteurs génétiques les plus à risque de favoriser la MA sont les gènes de l'APP, la présénéline 1 et la présénéline 2, ces deux enzymes faisant partie du complexe de la sécrétase ɣ qui intervient dans le clivage de l'APP (Chouraki and Seshadri, 2014). D'autres gènes sont également mis en cause dans la MA, dont l'un des principaux est le gène de l'ApoE (apolipoprotéine E), protéine de métabolisme des lipides. Le lien entre les porteurs de l'allèle ApoE-Ɛ4 et la MA a été mis en évidence (Diedrich et al., 1991). Les patients présentent des manifestations physiopathologiques plus importantes comparés aux non porteurs de l'allèle ApoE-Ɛ4 (Abner et al., 2015).
- **Pathologie cardiovasculaires et diabète** : l'insuline, hormone à laquelle l'organisme devient insensible dans la pathologie du diabète de type 2, joue également un rôle très important au niveau cérébral. Cette hormone a des propriétés de facteur de croissance, et stimule ainsi l'activation des cellules souches, la croissance des dendrites, et la neuroprotection. Au cours de la MA, le cortex cérébral devient, comme dans le cas d'un diabète de type 2, insensible à l'insuline qui perd ainsi tous ses effets protecteurs (Hölscher, 2011). Cependant, malgré ce lien qui semble très pertinent entre l'insuline et la MA, le diabète constitue un facteur de risque pour la démence vasculaire, mais pas pour la MA (Hassing et al., 2002). D'autres études similaires ont démontré que le diabète

ne constitue un facteur de risque pour la MA que lorsqu'il est combiné à d'autres facteurs de risque cardiovasculaire comme le tabac, l'hypercholestérolémie ou l'hypertension artérielle (Vagelatos and Eslick, 2013). Contrairement au diabète, les maladies cardiovasculaires sont un important facteur de risque de la MA (Jefferson et al., 2015). En effet, les facteurs de risques cardiovasculaires précédemment cités, sont des facteurs non seulement importants pour le diagnostic mais aussi pour la physiopathologie de la MA (O'Brien and Markus, 2014). Ainsi, il a été démontré que l'insuffisance cardiaque, par réduction du travail cardiaque qui devient incapable de bien perfuser l'ensemble de l'organisme, induit une hypo perfusion à l'origine d'hypoxie cérébrale et de formation de microemboles qui aboutissent à des dommages tissulaires. De manière similaire, les fibrillations auriculaires, les maladies coronariennes et les accidents vasculaires sont quant à eux responsables de perte neuronale et donc de neurodégénérescence, ces pathologies potentialisent également le processus amyloïdogénique de la MA et entravent sa clairance de la protéine amyloïde (Alosco and Hayes, 2015; de Bruijn and Ikram, 2014).

- **Facteurs médicamenteux** : Une récente étude française a démontré que plus de la moitié des personnes âgées atteintes de démence consomment des psychotropes : antidépresseurs, antipsychotiques, anxiolytiques et hypnotiques (Breining et al., 2016), et que 40% de cette population est consommatrice d'anxiolytiques et hypnotiques. Une étude similaire finlandaise a également montré les mêmes résultats de consommation de médicaments psychotropes chez cette même population, et a précisé que les patients atteints de la MA se voient souvent prescrire des benzodiazépines (BZD) au cours de l'année qui précède le diagnostic (Tolppanen et al., 2016). Au-delà de la prescription d'anxiolytique-BZD pendant la MA, certains auteurs décrivent cette consommation comme un facteur de risque du développement de la maladie. En effet, l'incidence de la

démence et de la MA augmente chez les patients consommateurs de cette classe de médicament (Wu et al., 2009), particulièrement les BZD à longue durée d'action, ou à demi-vie longue (>20h). Billioti a décrit la même association entre l'incidence de la MA et la consommation de BZD, quelles que soient les durées et fréquences de consommation (Billioti de Gage et al., 2014). Les données de la littérature ne sont cependant pas unanimes. Ainsi, de récentes études n'ont pas démontré de lien entre la consommation à long terme de BZD, allant jusqu'à 11 ans avant le diagnostic de la démence, et la survenue de démence ou de MA. Un tel lien n'a pu être mis en évidence que chez les patients consommateurs de BZD depuis un moyen terme, soit environ 1 an avant le diagnostic (Gray et al., 2016; Imfeld et al., 2015).

- **L'hygiène de vie** : de nombreuses pathologies sont influencées par l'hygiène de vie des individus. En effet, comme pour les maladies pulmonaires, les cancers et les maladies cardiovasculaires par exemple, le tabac augmente le risque de survenue de la MA alors que ce risque est réduit lorsque les sujets arrêtent de fumer (Zhong et al., 2015). De plus, ce risque est d'autant plus important chez les patients porteurs de l'allèle ApoE-Ɛ4. De la même manière, les personnes qui pratiquent une moindre activité physique ou intellectuelle durant leur vie, présentent un plus fort risque de développer la MA (Friedland et al., 2001). Ces deux facteurs constituent également des facteurs de risques de maladies cardiovasculaires, qui sont également un facteur de risque de la MA. Par ailleurs, ces facteurs induisent un important stress oxydant au niveau de l'organisme pouvant être à l'origine de la physiopathologie amyloïde de la MA. De plus, la prévention du stress oxydant par une activité physique légère et régulière réduit les effets du stress oxydant et empêche le développement de certaines maladies comme la MA (Radak et al., 2008). Un autre facteur important pris en compte dans l'ensemble des études sur la MA est le niveau intellectuel ou le niveau d'éducation scolaire des sujets. En effet, dans les

études cliniques, le niveau intellectuel des participants est toujours normalisé et apparié puisqu'il constitue lui-même un facteur de risque pour la MA. Le caractère protecteur de ce facteur serait dû à la constitution d'une réserve cognitive chez les patients d'un haut niveau intellectuel, et la mise en place de phénomènes cognitifs compensatoires qui préviennent l'apparition des symptômes de la maladie (Evans et al., 1997).

3. La clinique

La dégénérescence observée est progressive, et c'est pourquoi trois stades cliniques de maladie d'Alzheimer ont été décrits dans la survenue de la pathologie : les stades léger, modéré et sévère, où les patients présentent des symptômes importants, et ne peuvent plus réaliser seuls les tâches de la vie quotidienne, ils deviennent alors dépendants (Alzheimer's Association, 2014).

Cependant avant même l'entrée dans la pathologie, on distingue un **stade préclinique** de la MA, durant lequel les sujets ne présentent pas de signes apparents de la pathologie, mais présentent déjà des modifications, comme les compositions altérées sanguines ou du liquide céphalorachidien (LCR) au niveau cérébral. Ce stade est appelé **MCI «Mild Cognitive Impairment»** où les patients manifestent des signes cliniques modérés sans être gênés dans l'accomplissement des tâches de la vie quotidienne. Au **stade préclinique** de la pathologie, la distinction clinique entre ces sujets et des sujets à vieillissement physiologique ne peut se faire que *via* des tests neuropsychologiques très élaborés, ce stade est néanmoins contemporain de l'apparition de biomarqueurs de la pathologie (Edmonds et al., 2015). Le **stade MCI** est un état commun chez certains sujets âgés, il est caractérisé par une atteinte des fonctions exécutives comme l'attention, la flexibilité ou encore l'inhibition (Belleville et al., 2014), voire même de la mémoire épisodique, dans ce dernier cas, certains auteurs parlent de MCI amnésique. De plus, il y a une étroite relation entre ces fonctions puisque

100% des sujets MCI amnésiques présentent des défauts d'inhibition (Allain et al., 2013). Il est difficile d'estimer la prévalence du MCI puisqu'elle peut dépendre des définitions rapportées, et seulement une faible partie (10 à 15% par an) des sujets décrits MCI évoluent vers un état de démence (DeCarli, 2003). Une meilleure estimation serait capitale puisque certaines mémoires et fonctions exécutives déclinent également chez les sujets âgés qui présentent un vieillissement physiologique. Ces déclins sont différents qu'il s'agisse d'un cas pathologique ou physiologique, par exemple, la mémoire sémantique est faiblement atteinte lors du vieillissement physiologique alors qu'elle est nettement atteinte chez les patients atteints de la MA. Parfois, la limite entre les états physiologique et pathologique est confuse du fait de la similarité des signes cliniques, comme la mémoire épisodique qui est atteinte au stade MCI et qui est l'un des éléments prédictifs de l'évolution vers un stade de démence de la MA, est également atteinte chez les sujets présentant un vieillissement physiologique. Par contre si l'on analyse plus finement les composantes de cette mémoire, on se rend compte que le rappel des informations est atteint dans les trois cas, alors que la familiarité liée aux évènements ou objets est fortement atteinte chez les patients déments, elle est à peine significativement atteinte chez les patients MCI, et ne présente pas de défauts chez les sujets vieillissant normalement (Koen and Yonelinas, 2014). La **MA** est donc une suite d'évolutions des symptômes manifestés pendant le stade MCI, la mémoire épisodique précocement atteinte se détériore davantage avec atteinte de la mémoire antérograde, les patients présentent des difficultés d'acquisition et de stockage de nouvelles informations ou souvenirs (Figure 2). D'autres mémoires sont également atteintes au cours de la MA comme la mémoire à court terme ou la mémoire de travail (Stopford et al., 2012), la capacité d'orientation et donc de la mémoire spatiale ou encore l'apprentissage. En effet, des déficits de mémoire spatiale, la capacité de trouver et maintenir un trajet d'un point à un autre, ont été rapportés par les personnels soignants, chez les patients atteints de la MA avant les

années 90 (Henderson et al., 1989), cependant, ce déficit présente une hétérogénéité clinique (Pai and Jacobs, 2004).

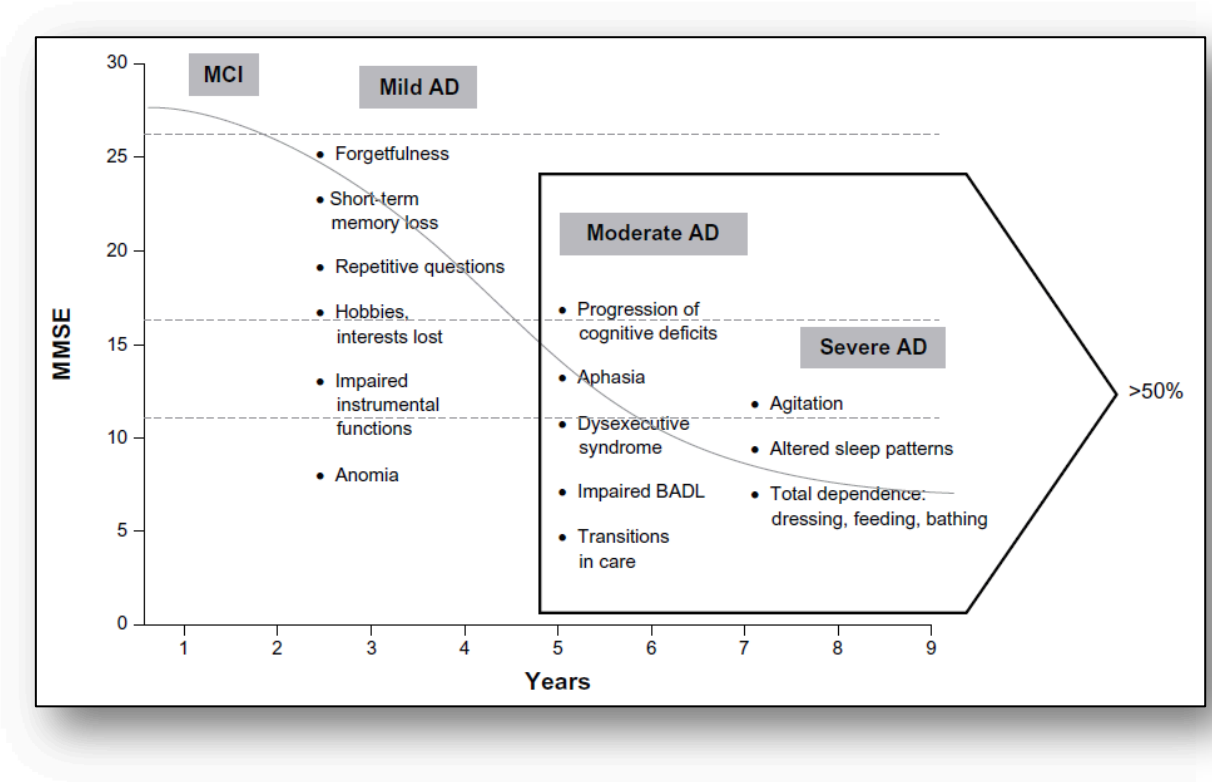


Figure 2 : Evolution des symptômes au cours de la MA (Ferris and Farlow, 2013). BADL : Basic activities of daily living.

De manière intéressante, des troubles d'orientation spatiale n'apparaissent que chez environs 50% des sujets définis MCI, et 80% des sujets atteints de la MA, alors que l'ensemble de ces patients présentaient des compétences de reconnaissance des endroits déjà vus similaires à celle des sujets contrôles (deIpolyi et al., 2007). Cette dernière étude a également démontré que l'atteinte d'autres fonctions cognitives comme les mémoires de travail, visuo-spatiale ou le langage ne déterminent pas l'atteinte de la mémoire spatiale. Par ailleurs, la mise en place de la mémoire spatiale, nécessite en plus de l'acquisition, consolidation et rappel, des stratégies d'orientation dans l'espace. Il existe deux stratégies différentes : allocentrique (orientation liée aux repères extérieurs et leur rapport avec l'environnement) et égocentrique (repères extérieurs par rapport à soi). De manière

intéressante, ces deux stratégies se retrouvent également altérées dès les stades précoces de la MA, ainsi que la possibilité de « switcher » d'une stratégie à l'autre (Serino et al., 2014). Par ailleurs, la mise en place de différents processus cognitifs est souvent élaborée et rarement isolée, de ce fait, l'atteinte d'une fonction cognitive peut en impacter une autre. L'apprentissage, par exemple, ou l'entraînement pour l'acquisition de nouvelles informations et l'établissement de mémoire à long terme, peut nécessiter un recours à la mémoire à court terme, qui permet d'emmagasiner les informations le temps de les utiliser, il peut nécessiter aussi l'attention du sujet. Par ces liaisons entre fonctions cognitives, l'atteinte de l'attention et de la mémoire à court terme chez les sujets atteints de la MA, peut impacter l'apprentissage et justifierait en partie ses déficits dans la pathologie (Germano and Kinsella, 2005).

Les fonctions exécutives montrent également une hétérogénéité d'évolution au cours de la MA, par exemple, la flexibilité, l'attention et le raisonnement sont déjà atteints au stade MCI, alors que le langage par exemple ne présente des déficits qu'aux stades avancés de la MA (Allain et al., 2013; Ferris and Farlow, 2013). Au-delà des troubles de la mémoire et fonctions exécutives qui caractérisent fortement la MA, les patients atteints de cette maladie souffrent également de troubles neuropsychiatriques comme la dépression, l'anxiété, l'irritabilité et l'agitation. En effet, ces troubles sont décrits chez 90% des patients atteints de démence dans les 5 ans qui suivent le diagnostic et parfois même aident au diagnostic (Hildreth and Church, 2015). D'ailleurs, une récente étude a décrit les mêmes syndromes chez les patients atteints de la MA, et de manière intéressante, il a été observé que l'anxiété, par exemple, est deux fois plus présente dans les cas où la MA survient précocement, avant l'âge de 65 ans (Suárez-González et al., 2016). La description de ces comorbidités a défini la dépression comme facteur de risque pour le développement de la MA, et certains auteurs pensent que cette pathologie serait un état prodromique de la MA (Garcez et al., 2015).

D'autres symptômes peuvent également se manifester au cours de la MA, comme les troubles du sommeil. De la même manière que la dépression, ces troubles augmentent, la survenue de la pathologie chez les patients qui souffrent de troubles du sommeil, ainsi que la vitesse du déclin cognitif (Lim et al., 2014).

3. La mémoire

La Maladie d'Alzheimer (MA), dans le langage courant correspond à une maladie du cerveau caractérisée par une perte de mémoire chez les sujets âgés. Il s'agit d'une dégénérescence progressive des neurones qui atteint globalement le cerveau. Cliniquement, les patients atteints de la MA souffrent de troubles de fonctions exécutives et de mémoire. Les fonctions exécutives sont l'ensemble de processus cognitifs établis par le cerveau afin de permettre un traitement d'information et d'adapter le comportement dans le but de s'adapter à l'environnement et nouvelles situations qui s'y présentent. La mémoire est ce qui permet de façon consciente ou inconsciente l'enregistrement de différentes informations, de les stocker et de les restituer au besoin. Ainsi, la mémoire se forme en trois étapes : l'**encodage**, qui permet l'acquisition de l'information, la **consolidation**, ou le stockage de cette information à terme et enfin le **rappel** ou la restitution du souvenir depuis une région cérébrale précise qui dépend du type d'information. Il existe différents types de mémoires qui peuvent être liées entre elles. La première dissociation entre ces mémoires est la distinction en mémoire à court terme et la mémoire à long terme (Shiffrin, 1993). La **mémoire à court terme**, comme la mémoire de travail par exemple, consiste en la rétention d'informations pendant quelques secondes à quelques minutes en vue de réaliser une opération, comme le fait de retenir une liste de prénoms en vue de les saisir, ces prénoms sont ensuite physiologiquement oubliés. La **mémoire à long terme** quant à elle consiste à retenir les informations plus longtemps, donc de manière durable voire définitive. Cette

dernière est encore segmentée en mémoire déclarative ou explicite, et mémoire non déclarative implicite. La **mémoire déclarative** est ce qui permet d'enregistrer et se rappeler de manière consciente des évènements, elle est encore divisée en mémoire épisodique et mémoire sémantique. La *mémoire épisodique* permet le rappel d'évènements dans un contexte spatio-temporel, elle est donc constituée par les trois composantes « quoi » pour l'évènement, « quand » pour le temps et « où » pour le contexte spatial. La *mémoire sémantique* est quant à elle un ensemble de connaissances individuelles sur les choses, leurs relations et leurs usages, y compris les noms des choses et leurs significations, et contrairement à la mémoire épisodique, cette mémoire ne fait pas référence à des épisodes autobiographiques. L'autre type de mémoire à long terme est la **mémoire non déclarative**, qui est inaccessible à la conscience. Elle est constituée principalement de la mémoire procédurale qui est une mémoire des habiletés motrices, verbales et cognitives, elle s'acquiert progressivement grâce à l'apprentissage ou l'entraînement et se restitue de manière implicite (comme le fait de savoir faire du vélo, ou conduire une voiture sans forcément faire appel aux gestes initialement appris). Enfin, l'**amorçage** ou le «priming» est également un type de mémoire non déclarative, c'est la facilitation à la réalisation d'une tâche suite à la réalisation d'une tâche ou l'acquisition d'une information liée au contexte, sans en avoir conscience (Figure 3) (Brickman and Stern, 2009; Matthews, 2015) (García-Lázaro et al., 2012).

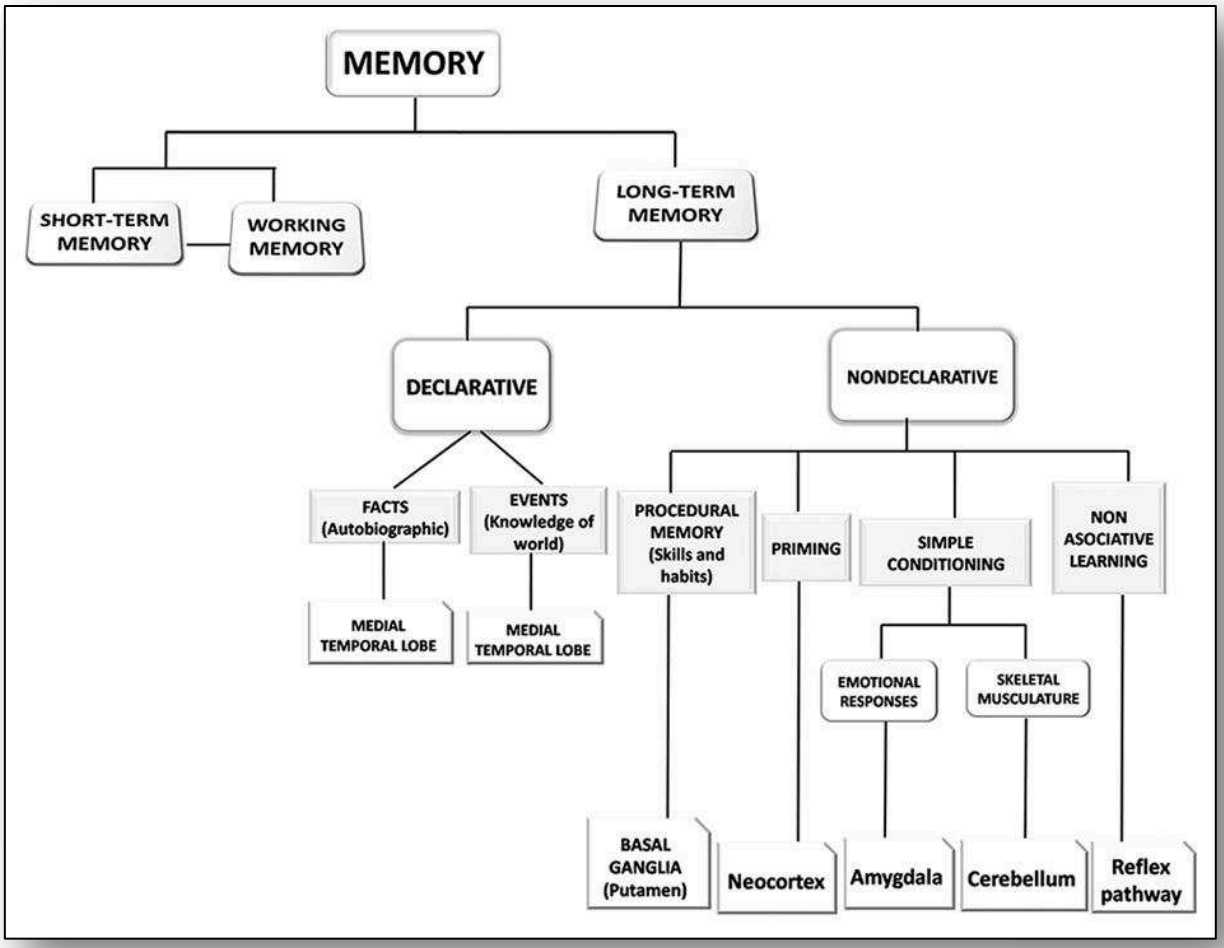


Figure 3 : Classification fonctionnelle des systèmes de la mémoire (García-Lázaro et al., 2012).

4. Neuroanatomie de la mémoire et au cours de la MA

En 1953, le chirurgien William Scoville a pratiqué, sur son patient Henry Gustav Molaison surnommé patient HM, une oblitération du lobe temporal médian qui inclut l'hippocampe, afin de traiter son épilepsie réfractaire aux traitements médicamenteux. A la suite de cette chirurgie, le patient a manifesté une amnésie antérograde, il ne pouvait plus intégrer de nouveaux souvenirs à long terme, alors que ses capacités intellectuelles, mémoire à court terme et de travail quant à elles, demeuraient intactes. C'était la première preuve de l'implication d'une structure cérébrale dans une fonction mnésique. De nos jours, des moyens non invasifs d'imageries anatomiques, fonctionnelles, ou encore grâce à des techniques d'électrophysiologie, il est devenu possible d'étudier plus aisément les

corrélations neuroanatomiques de la mémoire et autres fonctions cognitives. Il est largement admis que l'hippocampe (avec le cortex périrhinal) est une structure importante dans l'établissement de la mémoire épisodique (Deuker et al., 2016; Jacobs et al., 2016). Différentes structures hippocampiques sont nécessaires à la mise en place de cette mémoire, et l'on peut citer les régions CA1, CA3 de l'hippocampe, le gyrus denté ou encore le *subiculum*. La mémoire épisodique se mettant en place en 3 phases : acquisition, consolidation et rétention, il semblerait que l'acquisition mette en jeu le cortex préfrontal gauche, l'hippocampe est très important pour la phase de consolidation, et le rappel des informations nécessiterait le cortex préfrontal droit (García-Lázaro et al., 2012). Cependant, une même structure cérébrale anatomique peut-être le siège de différents types de mémoires, comme les mémoires de travail et à court terme qui sont également mises en place au niveau du cortex préfrontal, et qui est encore le siège d'autres fonctions exécutives comme l'inhibition, le rappel ou encore l'attention (Tableau 1) (Monaco et al., 2015). L'hippocampe aussi, grâce à ses cellules spatiales, en réseau avec le striatum et le cortex pariétal, forme le siège d'orientation, et d'apprentissage spatial, à l'origine de la mémoire spatiale. Dans ce réseau, le striatum semble davantage en lien avec la représentation spatiale égocentrique, et l'hippocampe en lien avec la représentation spatiale allocentrique (Chersi and Burgess, 2015).

Memory Subtype	Patient/Caregiver Early Concerns	Cognitive Testing Deficit	Relevant Neuroanatomy	Commonly Associated Neuropathology
Episodic (declarative, explicit)	Verbal: cannot remember breakfast this morning or the destination of most recent vacation Visual: cannot recall the cabinet in which the dinner plates are located or the side of the street of the local drug store	Verbal: recall of oral narrative, word list recall Visual: recall of figure copy, recall of figure location in space	Medial temporal lobes, Papez circuit Verbal: left greater than right Visual: right greater than left	Alzheimer disease, herpes encephalitis, thiamine deficiency, hippocampal sclerosis, hypoxic-ischemic insult, dementia with Lewy bodies
Semantic (declarative, explicit)	Cannot recall the number of weeks in a year or identify the breed of the family dog; identifies most household items as "thing"	Fund of general knowledge, picture naming, category fluency	Anterior and inferior temporal lobes	Frontotemporal lobar degeneration, Alzheimer disease
Working (declarative, explicit)	Cannot recall a phone number immediately after hearing it; cannot perform a series of simple requests after traveling from one room to the next	Digit span, mental arithmetic	Prefrontal cortex, subcortical structures, parietal association cortex	Vascular insults, frontotemporal lobar degeneration, dementia with Lewy bodies, Parkinson disease dementia, traumatic brain injury
Procedural (nondeclarative, implicit or explicit)	Cannot recall technique for using a driver off the tee; cannot maintain a violin bow hold[a]	Not routinely tested	Basal ganglia, cerebellum, supplementary motor area	Parkinson disease, cerebellar degeneration, Huntington disease

[a] Not referable to motor deficits or novice abilities.

Tableau 1 : Principaux déficits mnésiques, symptomatologie clinique en lien avec les pathologies induites et leurs corrélations neuroanatomiques (Matthews, 2015).

Cependant, malgré l'établissement de lien direct entre certaines structures et types de mémoires, la réalité physiologique n'est pas aussi simple puisque des réseaux neuronaux se mettent en place entre différentes structures et régissent les différentes fonctions cognitives comme la mémoire ou le langage. La mémoire sémantique par exemple, consiste en la connaissance de la forme, taille, couleur ou la fonction des objets. Il est ainsi difficile de définir une région précise au niveau cérébral qui relie toutes ces informations. Il a été proposé que ces informations prennent naissance dans le cortex occipital, centre visuel du cerveau, et continuent dans le lobe temporal gauche. Le cortex frontal gauche inférieur est quant à lui important pour la sélection des mots et le rappel de ces informations (García-

Lázaro et al., 2012; Jaimes-Bautista et al., 2015).

Grâce à ces réseaux, au cours des pathologies, ou d'apparition de troubles liés à l'âge, des phénomènes compensatoires se mettent en place afin de pallier aux déficits induits et modifient ainsi les réseaux de mémoires ou les structures impliquées selon les fonctions concernées (Steffener et al., 2009).

En effet, au cours du vieillissement physiologique, l'atrophie cérébrale est un phénomène physiologique, cette atrophie est autant globale que régionale puisque certaines régions comme l'hippocampe sont particulièrement atteintes (Figure 4) (Nasrallah and Wolk, 2014). Cette atrophie est bien sur également présente chez les patients atteints de la MA.

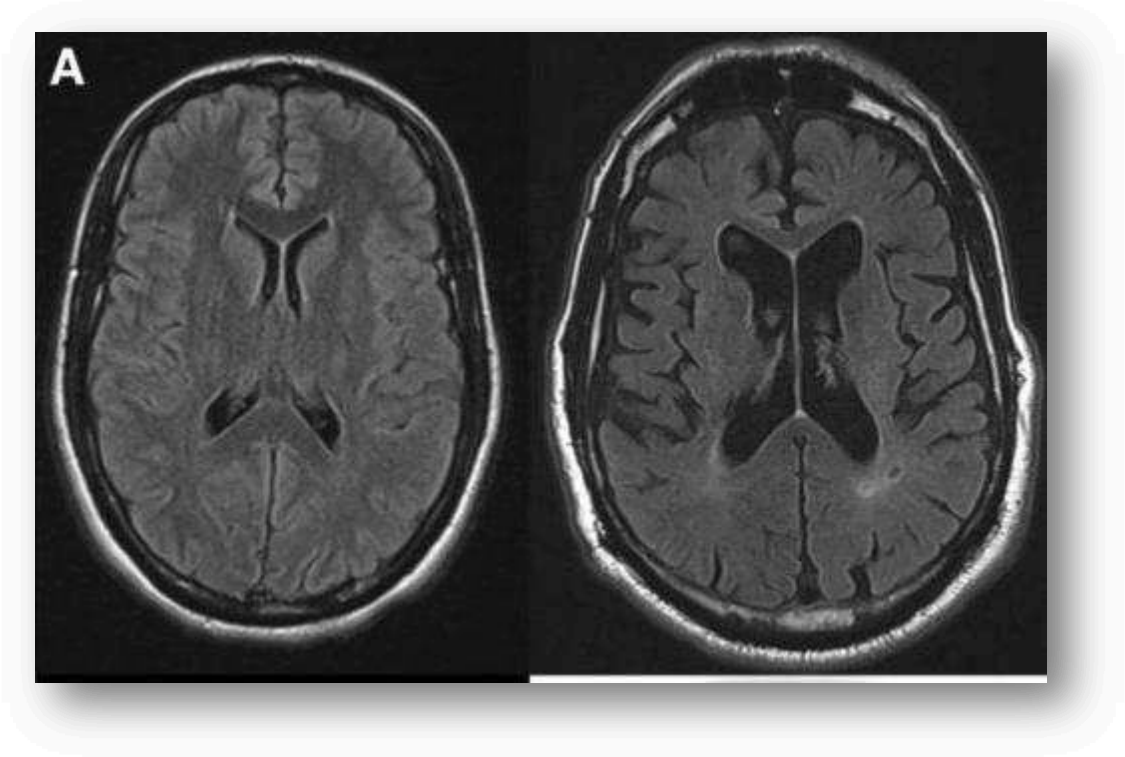


Figure 4 : Atrophie cérébrale chez un sujet âgé non pathologique (80 ans, à droite) comparé au cerveau d'un jeune adulte (30 ans, à gauche) (Nasrallah and Wolk, 2014)

Alors que les sujets à vieillissement « physiologique » perdent environ 0,2 à 0,4% de la surface de leur cerveau par an, le phénomène évolue dix fois plus vite chez les patients atteints de la MA. Cette atrophie débute au niveau de l'hippocampe et du cortex entorhinal,

pour s'étendre aux autres régions temporales et pariétales avant d'atteindre le cortex frontal. Cette atrophie est également accompagnée d'augmentation du volume des ventricules cérébraux et de perte de neurones dans des régions importantes comme le noyau basal de Meynert ou encore le *locus coereleus*, affectant les transmissions cholinergiques et noradrénergiques (Jahn, 2013). En accord avec les autres éléments physiopathologiques sévissant au cours de la MA, la diminution du métabolisme cérébral apparaît d'abord au niveau de l'hippocampe et des régions parahippocampiques (Cunnane et al., 2011). Au-delà de la mémoire épisodique, la diminution du volume de la région médiale temporale est également mise en cause dans les déficits de mémoire spatiale chez les patients atteints de la MA (deIpolyi et al., 2007).

5. Physiopathologie de la MA

La MA est caractérisée par deux marqueurs histologiques majeurs qui sont les plaques séniles amyloïdes retrouvées au niveau extracellulaire et l'hyperphosphorylation de la protéine tau neurofibrillaire intracellulaire. De plus, la physiopathologie de la MA est également caractérisée par une inflammation chronique, le stress oxydatif, l'hypoxie ou baisse du métabolisme cérébral et la perte de plasticité synaptique.

1. L'environnement cérébral

- **L'hypométabolisme**

Le cerveau d'un adulte jeune en bonne santé consomme un quart du glucose de l'organisme, alors que chez un patient atteint de MA, ce métabolisme est réduit d'environ 25%. Cette baisse peut-être causée par de nombreux autres facteurs comme l'âge ou les maladies cardiovasculaires par exemple, qui induisent une hypoperfusion cérébrale. Ce défaut de métabolisme est principalement représenté par un dysfonctionnement du

métabolisme cellulaire du glucose aux niveaux mitochondrial et extra mitochondrial. Ainsi, les enzymes de glycolyse ou celles du cycle respiratoire mitochondrial peuvent être inhibées ou négativement régulées (Ferreira et al., 2010). La MA étant une maladie neurodégénérative progressive, la plupart des processus physiopathologiques qui la régissent le sont également comme le sont ses manifestations cliniques. En effet, un défaut du métabolisme cérébral est déjà observé chez les patients au stade MCI, mais ce défaut n'est pas aussi important que celui observé chez les patients au stade démence de la maladie (Cunnane et al., 2011). Il est à souligner qu'une grande partie du glucose cérébral sert à maintenir les gradients d'ions pré et post synaptiques nécessaires à la transmission glutamatergique, ainsi que les potentiels membranaires ou encore le remaniement des phospholipides membranaires asymétriques, important pour les neurotransmissions (Cunnane et al., 2011). De manière intéressante, une forte densité de mitochondries est retrouvée au niveau synaptique, ainsi, un dysfonctionnement mitochondrial en lien avec l'hypométabolisme cérébral, réduirait considérablement les apports énergétiques neuronaux et aboutirait à terme à un dysfonctionnement de ces synapses, qui constitue aussi l'une des caractéristiques importantes de la MA.

- **La plasticité synaptique**

La plasticité synaptique correspond aux modifications morphologiques, chimiques et fonctionnelles qui interviennent au cours du temps au niveau de la synapse. Les synapses sont des zones spécialisées dans la transmission nerveuse. Elles évoluent avec le temps, certaines disparaissent, d'autres se créent, mais toutes se modifient et tendent, soit à renforcer, soit à affaiblir, la communication entre deux neurones. La plasticité synaptique serait ainsi à la base des processus d'apprentissage et de mémorisation. La majorité des travaux sur la plasticité synaptique sont basés sur le postulat de Hebb (1949) qui a proposé que, lorsqu'un neurone prend part de façon répétée à l'activation d'un autre neurone,

l'efficacité des connexions entre ces neurones est augmentée. Depuis, les manifestations de la plasticité qui font l'objet d'études intensives sont la LTP (Long Term Potentiation) et la LTD (Long Term Depression) qui représentent, respectivement, une augmentation et une diminution de l'efficacité de la transmission synaptique à long terme. Autrement dit, La plasticité cérébrale est donc la capacité que possède le cerveau à réorganiser ses réseaux de neurones en fonction des stimuli extérieurs et ou intérieurs et des expériences vécues par l'individu ou d'adapter son fonctionnement suite à un traumatisme ou à une maladie. Cette capacité à se modifier et à s'adapter apparaît être maximale chez l'adulte jeune et est caractérisée par la suite par une diminution graduelle mais constante jusqu'à la sénescence. Au cours de la MA, la plasticité synaptique présente des dysfonctionnements, significativement différents des sujets contrôles (Oberman and Pascual-Leone, 2013). Au cours de cette pathologie, une perte d'environ 35% de la densité synaptique est observée, ce pourcentage peut augmenter jusqu'à 50% dans certaines régions cérébrales comme l'hippocampe. Il y a également une perte du nombre de synapses par neurone (15 à 35%) chez ces mêmes patients 2 à 4 ans après l'apparition des symptômes cliniques. Comme l'hypométabolisme, le dysfonctionnement synaptique survient progressivement, en effet, la diminution de densité synaptique observée chez les sujets MCI n'est pas aussi importante que celle observée chez les patients atteints de la MA. De manière intéressante, au début de ce dysfonctionnement, des phénomènes compensatoires se mettent en place pour pallier aux déficits induits. Ainsi, la taille des synapses augmente pour maintenir une surface synaptique par unité de tissu constante, et l'expression de certaines protéines synaptiques, comme la synaptophysine ou la PSD95 (Postsynatic density protein 95) augmente. A terme ces phénomènes compensatoires sont dépassés, et une baisse de l'expression de ces molécules est retrouvée chez les patients atteints de MA. Une forte corrélation est retrouvée entre l'hyperphosphorylation des protéines tau et le dysfonctionnement synaptique, alors

que la relation entre le peptide Aβ et la perte synaptique est moins évidente, puisque certaines études décrivent la toxicité amyloïde sur les synapses accompagnées de défauts d'apprentissage et de mémoire, alors que d'autres observent des effets bénéfiques de l'APP humain sauvage sur la plasticité synaptique, et que son absence induit des déficits de plasticité synaptique chez le rongeur (Arendt, 2009).

- **Le stress oxydant**

Au cours du métabolisme cérébral, le glucose est transformé en ATP (Adénosine Triphosphate) lors des cycles respiratoires aérobiques au niveau de la mitochondrie grâce à des réactions enzymatiques d'oxydation phosphorylante. Au cours de ces cycles respiratoires, des électrons sont générés et transformés par ces mêmes enzymes oxydantes et éliminés sous forme de molécules d'eau après combinaison avec l'oxygène et l'hydrogène. Ces enzymes ne sont pas complètement efficaces et une faible partie des électrons se fixent sur l'oxygène et forment des ions superoxydes O_2^- au lieu de former une molécule d'eau. A l'état physiologique, l'organisme dispose d'éléments antioxydants qui contrebalancent la formation de ces éléments oxydants, comme la superoxyde dismutase qui réduit les ions superoxydes O_2^- en peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui seront réduits en molécules d'eau, la glutathion peroxidase avec le gluthathion, la bilirubine, etc. Au cours de certaines pathologies, comme la MA (Clark et al., 2010), ou avec l'âge par exemple, l'équilibre entre les deux systèmes oxydant et antioxydant est perturbé en faveur des facteurs oxydants et génèrent ainsi un stress oxydant. On peut évaluer le stress oxydant chez l'homme indirectement par mesure de la concentration sanguine des éléments antioxydants comme la bilirubine, l'acide urique ou encore l'albumine. L'albumine, par exemple, prévient la peroxydation lipidique par chélation des ions oxydants et captation des radicaux oxygénés ou carbonés. Chez les patients atteints de la MA, les taux de ces antioxydants sont diminués comparés à des sujets sains ou au stade MCI (Kim et al., 2006). De la même manière que les ions superoxydes sont générés, d'autres

espèces oxydantes, radicales ou non, sont générées et sont nommées les ROS « Reactive Oxygen Species ». De plus l'ion superoxyde peut réagir avec le monoxyde d'azote « NO » et former des peroxynitrites « NO_3^- » nommées des RNS « Reactive Nitrogen Species ». Des ions métalliques présents aussi au niveau du cerveau comme le fer, le cuivre, le zinc ou le manganèse peuvent promouvoir la formation des ROS. Ces ROS induisent des dommages au niveau cellulaire par peroxydation des phospholipides membranaires, lipides impliqués dans le métabolisme énergétique ainsi que les ADN nucléaire et mitochondrial (Tramutola et al., 2016). Les ROS interagissent également avec le peptide amyloïde, puisque ce même peptide est pro-oxydant sur un groupement sulfure de la méthionine 35, et forment des radicaux sulfoperoxyde qui induisent une toxicité mitochondriale, soit par augmentation du taux d'ions calcium Ca^{2+} intracellulaire, ou en agissant directement comme toxine mitochondriale, (Figure 5) (Sutherland et al., 2013).

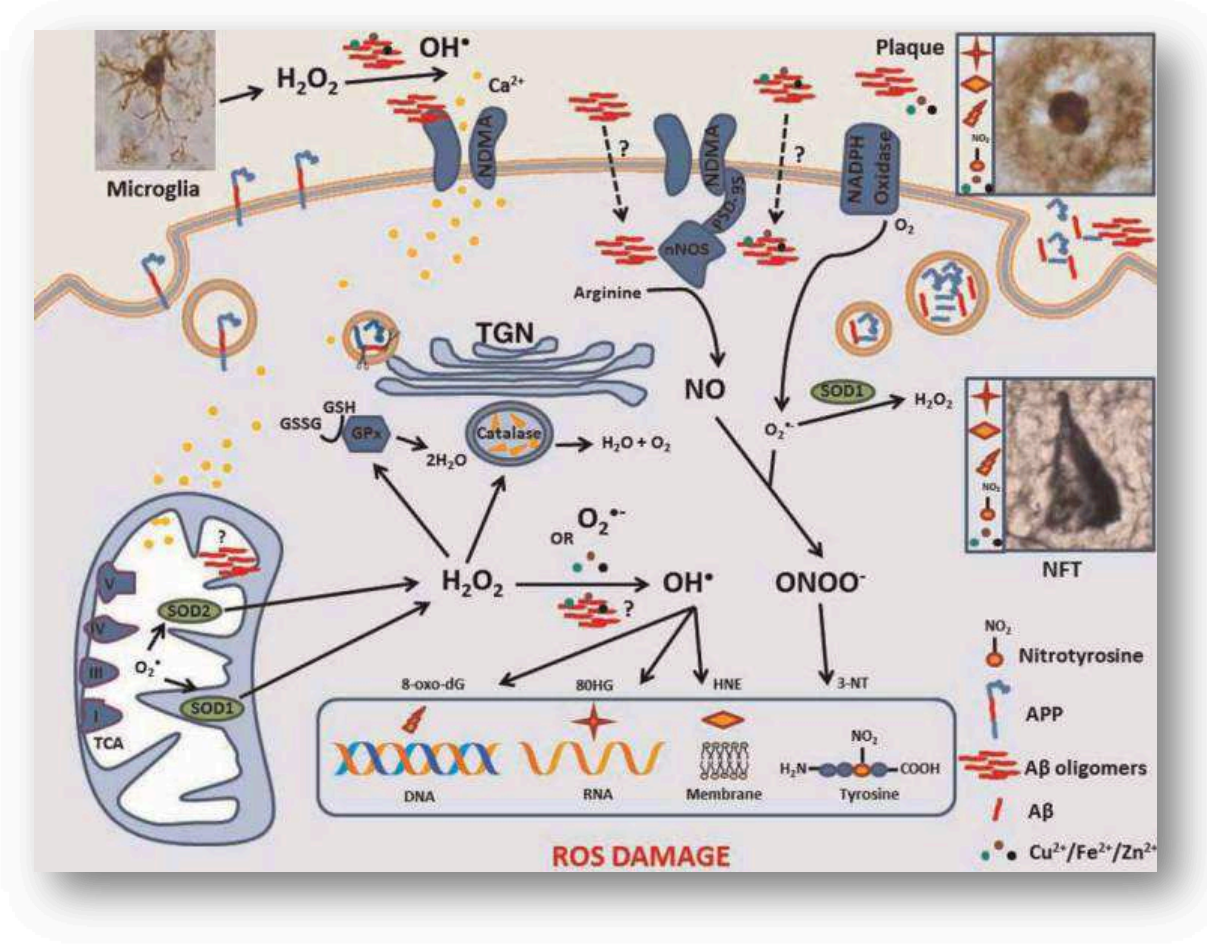


Figure 5 : Illustration de la toxicité cellulaire induite par les ROS (Sutherland et al., 2013).

- **La neuro-inflammation**

Un autre phénomène important dans la neurodégénérescence est l'inflammation qui sévit au cours des maladies chroniques, d'ailleurs, la prise d'anti-inflammatoires non stéroïdiens au long cours diminue le risque d'apparition de la MA (Thomas et al., 2015). Dans ce cas particulier de la MA, des cellules gliales et astrocytaires, cellules de défense cérébrale, sont hyperactives, et sont majoritairement retrouvées au niveau des plaques amyloïdes extracellulaires. Ces cellules secrètent un ensemble de molécules chimiques inflammatoires comme les cytokines, leucotriènes ou prostaglandines, qui agissent à leur tour en activant davantage de cellules gliales, ce qui entretient le processus inflammatoire. Ces molécules peuvent agir aussi comme substances chémo-attractives et attirer les cellules T et B du

système immunitaire qui arrivent à passer à travers la barrière hématoencéphalique (BHE) qui aura perdu son intégrité à cause de l'inflammation, ou encore augmenter l'agrégation du peptide amyloïde (Zhang et al., 2015b). Le peptide amyloïde, également, entretient le processus inflammatoire, puisqu'il augmente la sécrétion de molécules pro-inflammatoires.

2. *Les plaques séniles amyloïdes*

- **Découverte et synthèse**

Suite aux descriptions histologiques rapportées par Aloïs Alzheimer de la maladie qui porte son nom, le chercheur américain George G. Glenner s'est beaucoup intéressé depuis le début des années 70 à la composition moléculaire de protéines « pathologiques », et particulièrement celles des amyloïdoses. Celles-ci sont des maladies caractérisées par la présence de dépôts de protéines insolubles dans les tissus. Son équipe a décrit, par exemple, la protéine de Bence Jones rencontrée dans certaines hémopathies (Terry et al., 1973). Ces collaborateurs ont également purifié et caractérisé pour la première fois la protéine appelée β amyloïde ou Aβ, en raison de sa structure en feuillets β plissés, de poids moléculaire 4200 k daltons, à partir d'extrait de cerveaux enrichis en fibres amyloïdes, de patients atteints de la MA (Glenner and Wong, 1984), cette protéine n'ayant pas été retrouvée dans les cerveaux de patients contrôles non atteints de la MA. Glenner et ses collègues ont également séquencé la protéine amyloïde et comparé à d'autres séquences protéiques déjà connues, aucune similitude n'a été retrouvée avec les protéines déjà décrites. C'est en 1987 que Kang et ses collègues (Kang et al., 1987) ont décrit l'entière séquence de la protéine précurseur de la β-amyloïde APP (Amyloïd precursor protein). Ils ont ainsi décrit une séquence de 695 acides aminés, cependant, des variantes du peptide APP ont également été décrites contenant 751 ou 770 acides aminés, dû à des insertions au niveau de la séquence codante (Tanaka et al., 1988). Ce peptide APP aurait des propriétés de récepteur membranaire, puisqu'une petite

séquence constituée d'une suite de trois acides aminés lysine (649-651) pourrait constituer un domaine d'interaction avec les phospholipides membranaires, qui est une caractéristique particulière des récepteurs cellulaires de surface (Kang et al., 1987). Cette équipe de chercheur a également émis l'hypothèse d'un clivage de l'APP au niveau C-terminal de la protéine quand celle-ci est au niveau membranaire.

- **Expression tissulaire de l'Aβ**

Ces séquences protéiques ont également permis de réaliser des études génétiques et d'approfondir le lien entre l'expression de la protéine β amyloïde et la MA. Grâce à la technique d'hybridation de l'ADN, l'équipe de Tanzi (Tanzi et al., 1987) a décrit une forte expression du cDNA (obtenu à partir de l'ARN messager) de la protéine β amyloïde dans de nombreuses structures comme le cerveau, la rate, le rein et le cœur. Le taux de cette expression était plus faible dans d'autres structures comme le foie. Par la même technique, Tanzi et ses collègues ont également étudié l'expression du gène de la protéine β amyloïde chez l'Homme au niveau cérébral. Ainsi, parmi les régions d'intérêt étudiées, le gène est fortement exprimé au niveau du cortex frontal, et le cortex antérieur perisylvien, une moindre expression est observée au niveau du cervelet, du cortex postérieur perisylvien ainsi qu'au niveau du cortex temporal, enfin, une plus faible expression de la protéine β amyloïde a été décrite au niveau du lobe occipital (cortex visuel), du thalamus et de l'hippocampe. Cependant, il n'y a aucune corrélation entre le taux d'expression du gène de la protéine et la survenue de plaques amyloïdes au niveau des structures cérébrales, puisque celles-ci sont abondantes au niveau de l'hippocampe. La même étude a défini la position génétique du gène de la protéine amyloïde au niveau du chromosome 21. En effet, une forte expression du gène de la protéine amyloïde est constatée dans des cerveaux de fœtus âgés de 19 semaines atteints de trisomie 21, comparés aux fœtus normaux de même âge. D'autres études se sont également intéressées à l'expression du précurseur de la protéine amyloïde APP. L'ARN

messager (ARNm) de la protéine APP est exprimé dans différentes régions du cerveau comme les cortex frontal et temporal, l'hippocampe, le striatum et le thalamus (Goedert, 1987). La corrélation entre la physiopathologie de la MA et l'expression de APP a encore été écartée du fait de la similitude du taux d'expression de l'ARNm chez les patients atteints de la MA et les sujets contrôles non atteints de troubles psychiatriques. De plus, le taux d'expression de l'APP est similaire dans des régions cérébrales qui présentent une modification physiopathologique liée à la présence de plaques séniles comme le cortex frontal ou l'hippocampe, et des régions qui ne présentent pas ces modifications comme le striatum (Goedert, 1987), (Higgins et al., 1988).

- **Expression cellulaire et moléculaire de l'Aβ**

De nombreuses études ont été poursuivies afin de comprendre le lien entre la protéine amyloïde et la MA. Dyrks et ses collègues (Dyrks et al., 1988) ont démontré dans leur étude que l'insertion de l'APP au niveau de la membrane cellulaire est nécessaire pour son clivage. Ils ont démontré que l'APP, une fois inséré à la membrane cytoplasmique, est lysé par des enzymes dites protéases. En effet, des dérivés du peptide APP de poids moléculaires 100 et 11 k dalton (des extrémités N et C–terminales, respectivement) ont été décrits (Esch et al., 1990) pour la première fois, d'autres segments de plus petits poids moléculaires ont également été décrits, mais leur origine a été attribuée à des artefacts de manipulations. Deux ans plus tard, Estus (Estus et al., 1992) et ses collègues ont également caractérisé des petits dérivés du peptide APP de différents poids moléculaires de 8 à 11 k daltons. Ils ont apporté la certitude de leur origine à partir du segment C-terminal du peptide APP puisque ces résidus ont tous précipité avec un anticorps dirigé contre la partie C-terminale de l'APP. Le clivage du peptide APP au niveau membranaire est une étape importante du processus amyloïdogénique puisque les fragments C-terminaux du peptide APP s'agrègent pour former les plaques séniles retrouvées chez les patients atteints de la MA

(Yankner et al., 1989). Estus et ses collègues (Estus et al., 1992) ont également stipulé que les peptides de poids moléculaire 11,4 k daltons et 11,8 k dalton contiendraient les protéines amyloïdes β des plaques séniles. L'enzyme de clivage du précurseur APP a quant à elle été décrite pour la première fois en 1991 et nommée sécrétase β (Tagawa et al., 1991). Maruyama et ses collègues se sont également intéressés à la sécrétion du peptide Aβ. Ils ont ainsi démontré que le précurseur APP est clivé par des enzymes et génère différents fragments protéiques et ce clivage est important pour la sécrétion des fragments Aβ (Maruyama et al., 1994). Il est admis aujourd'hui que le précurseur APP est clivé par différentes familles d'enzymes. Le peptide APP est clivé au niveau du réticulum endoplasmique (Schreiner et al., 2015) par la protéine β sécrétase nommée BACE (Beta-site APP-cleaving enzyme) (Vassar et al., 1999) ou au niveau des membranes cellulaires par l'α sécrétase (Lammich et al., 1999), après l'action de l'une ou l'autre des sécrétases (α ou β), le peptide est enfin clivé par la ɣ sécrétase, constituée de 4 protéines formant un complexe à activité protéolytique (Figure 6) (Claeysen et al., 2012; De Strooper, 2003). Par ailleurs, le peptide APP peut également être clivé par une autre sécrétase nommée δ (ou asparagine endopeptidase) formant ainsi un peptide qui constitue un meilleur substrat pour la BACE, promouvant ainsi le processus amyloïdogénique. L'activité de cette enzyme δ sécrétase est connue pour être plus élevée chez les patients atteints de la MA comparés aux sujets contrôles (Zhang et al., 2015a, 2016).

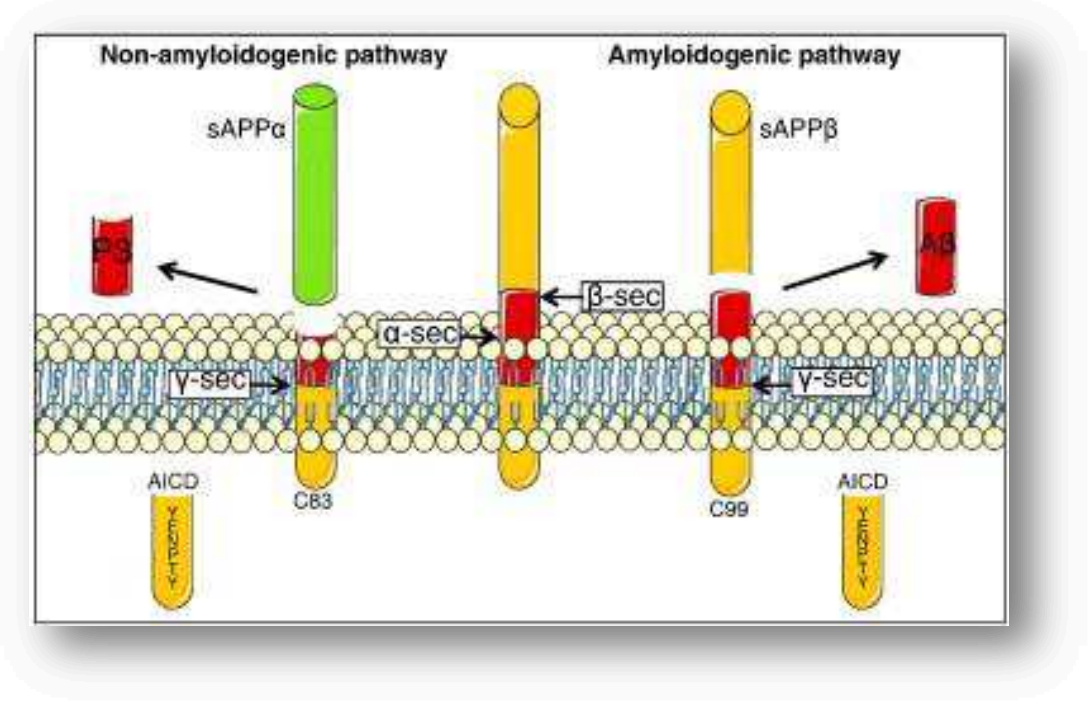


Figure 6 : Clivage du précurseur amyloïde par les différentes enzymes sécrétases, définissant les deux voies amyloïdogéniques et non amyloïdogénique (Claeysen et al., 2012).

AICD : APP intracellular domain, C83 : C-terminal fragment (ou α-CTF), C99 : C-terminal fragment (ou β CTF), P3 : Peptide P3.

Les produits de ce clivage sont différents selon que l'APP ait été clivé par l'α ou la β sécrétase. De l'action de l'α sécrétase résulte le peptide sAPPα (Soluble Amyloïd Precusor Protein) qui a des propriétés neuroprotectrices (Corrigan et al., 2012; Obregon et al., 2012). Cependant la β sécrétase ou BACE est impliquée dans le processus amyloïdogénique de la MA puisque les produits peptidiques Aβ de son action sont neurotoxiques (Jin et al., 2013; Malmsten et al., 2014). Les produits de la β sécrétase sont différents par leur taille, ceux majoritairement représentés sont les peptides $A\beta_{1-40}$ et $A\beta_{1-42}$ qui contiennent respectivement 40 et 42 acides aminés. Le fragment $A\beta_{1-42}$ est plus présent au niveau des plaques séniles retrouvées chez les patients atteints de la MA ou dans les modèles animaux, et présente une toxicité plus important que $A\beta_{1-40}$ (Jarrett et al., 1993; Klein et al., 1999). De plus, l'analyse approfondie des formes peptidiques Aβ a permis la description de la présence d'acides aminés N-terminaux tronqués (Masters et al., 1985). D'ailleurs, le peptide AβpE3,

décrit par (Mori et al., 1992), est l'un de ceux ayant suscité le plus d'intérêt, puisque sa présence n'a pas été décrite chez les patients non atteints de la MA (Wirths et al., 2010). Lorsque les peptides amyloïdes sont synthétisés sous leur forme native, ils sont en « hélice α », ces hélices changent de conformation pour former des « feuillets β », et ce sont ces feuillets qui sont responsables du pouvoir pathogène amyloïde. En effet, les feuillets β s'associent entre eux, au cours du processus de nucléation, pour former des oligomères, qui eux forment à leur tour des protofibrilles, puis ces protofibrilles s'agrègent pour donner lieu à des fibrilles amyloïdes et constituent les plaques séniles (Huang et al., 2013). Néanmoins, les oligomères formés peuvent avoir différentes formes et tailles selon les conditions physiologiques, comme la concentration en sel ou la concentration en oligomères. Par exemple, une faible concentration en oligomères ralentirait le processus de nucléation et aboutit à des fibrilles ordonnées, alors qu'une forte concentration en oligomères de formes hétérogènes aboutit à la formation de fibrilles amyloïdes désordonnées (

Figure 7) (Ruzafa et al., 2012).

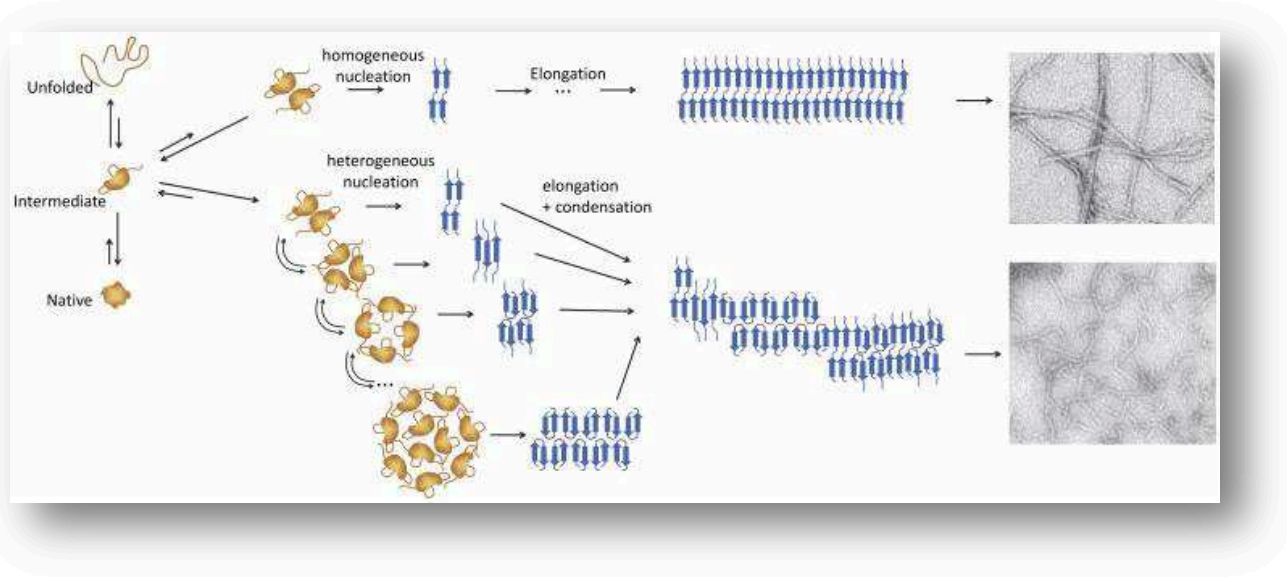


Figure 7 : Mécanisme de nucléation et élongation amyloïde (Ruzafa et al., 2012)**.**

Malgré l'absence de lien direct entre l'apparition des plaques amyloïdes séniles au

niveau cérébral et la MA, la neurotoxicité incontestable des plaques séniles a été mise en évidence sur des cultures cellulaires de neurones différenciés ou de neurones primaires (Yankner et al., 1989). Elle fait l'objet de nombreuses études afin de mieux comprendre la physiopathologie de la MA (Cochet et al., 2013; Obregon et al., 2012; Parikh et al., 2014; Park et al., 2014; Schreiner et al., 2015), ainsi que pour développer de nouvelles stratégies thérapeutiques ciblant le processus amyloïdogénique du peptide APP (Dinamarca et al., 2006; Luo et al., 2013; Mao et al., 2014; Rizzo et al., 2012).

- **Neurotoxicité amyloïde**

Avant d'aborder les effets toxiques du peptide Aβ, il est important d'aborder un fait important qui concerne son accumulation au niveau cérébral. En effet, la clairance de la barrière hémato encéphalique du peptide Aβ diminue au cours de la MA (Gosselet et al., 2011; Mawuenyega et al., 2010), ce qui induit son accumulation et favorise la formation de plaques amyloïdes. Le mécanisme de clairance d'Aβ du système nerveux central est un mécanisme actif qui fait intervenir la P-glycoprotéine (P-gp), un transporteur ATP-dépendant de la famille des transporteurs ABC (ATP-Binding Cassette) (Lam et al., 2001), dont le blocage diminue l'efflux d'Aβ. Des résultats similaires ont été décrits chez des souris déficitaires en P-gp, où la clairance d'Aβ était réduite (Cirrito et al., 2005). De plus, Aβ réduit sa propre élimination en régulant négativement la P-gp par interaction avec des facteurs induisant l'inflammation comme le facteur transcriptionnel NF-κB, puisque le traitement par un inhibiteur de cette voie rétablit le niveau de P-gp (Park et al., 2014).

Ainsi, l'accumulation d'Aβ au niveau cérébral par diminution de son élimination favorise ses activités toxiques, d'ailleurs différents modèles cellulaires (Cochet et al., 2013; Li et al., 2013; Obregon et al., 2012; Yankner et al., 1989) et animaux (Dinamarca et al., 2006; Sohanaki et al., 2016; Webster et al., 2014) ont été mis en œuvre pour évaluer ces effets. Les

premiers effets toxiques décrits au niveau cellulaire par Yankner étaient démontrés par des croissances de neurites avec apparition d'inclusions vacuolaires suivies de mort cellulaire (Yankner et al., 1989). Une étude similaire a démontré que le peptide Aβ diminue la viabilité cellulaire et augmente l'apoptose des cellules PC 12 (cellules de phéochromocytome qui développent un phénotype neuronal (Shafer and Atchison, 1991) ainsi que celle de neurones hippocampiques d'embryons de rat (Zheng et al., 2016). Les effets du peptide Aβ sur l'apoptose neuronale sont autant directs qu'indirects, et l'utilisation de modèle de culture de cellules neuronales d'embryon de souris incluant des cellules gliales, des astrocytes et des neurones corticaux a démontré qu'un traitement par le peptide Aβ diminue le nombre de neurones dans la culture cellulaire. Le nombre d'astrocytes et de cellules gliales quant à lui augmente en réponse au traitement par Aβ avant de se stabiliser (Söllvander et al., 2016). Cette même équipe suédoise a démontré qu'après ce traitement, lorsque l'on purifie le même milieu de culture du peptide Aβ, le nombre de neurones continue à baisser. En effet, une analyse par microscopie électronique a montré des microvésicules libérées par les astrocytes, lesquelles, après avoir phagocyté les peptides Aβ, les dégradent très lentement, et ces microvésicules seraient chargées en composés toxiques qui induiraient encore la mort neuronale. Le traitement de cellules SH-SY5Y (cellules de neuroblastome) par le peptide Aβ perturbe l'activité des mitochondries, augmente le taux de protéines anti-apoptotiques comme p53 ou Bcl-2 dans un premier temps, puis induit la mort cellulaire par apoptose (Li et al., 2013) où l'on observe également une augmentation de la sécrétion de l'enzyme lactate deshydrogénase (LDH), signe de perturbation cellulaire. Ces effets apoptotiques du peptide Aβ ont largement été décrits dans d'autres études, et confortent son action notamment *via* l'induction d'un dysfonctionnement mitochondrial. Ainsi, le peptide Aβ augmente l'activité de la caspase-9 (cysteine-requiring aspartate proteases), qui induit l'apoptose par voie intrinsèque mitochondriale, alors qu'il augmente d'une moindre façon l'activité de la

caspase-8, qui induit l'apoptose par voie extrinsèque au niveau cellulaire. Il augmente également le taux de protéines pro-apoptiques mitochondriales comme le cytochrome C, et perturbe les rapports entre protéines apoptotiques et anti-apoptotiques (Tan and Kim, 2016).

En lien direct avec l'apoptose induite par dysfonctionnement mitochondrial, et à cause de son pouvoir pro-oxydant, Aβ induit un stress oxydant important au niveau cellulaire et cérébral, qui fait d'ailleurs l'objet de nombreuses études en vue de développer des nouveaux traitements pour la MA (Belluti et al., 2014; Clark et al., 2010; Lan et al., 2014; Luo et al., 2013). Il réduit les réserves anti-oxydantes de l'organisme comme le taux de la forme réduite du glutathion « GSH » (Müller et al., 1997), l'expression de la Manganèse Superoxyde Dismutase et augmente ainsi le niveau de glutathion «GSSG» sous forme oxydée au niveau cellulaire (Xing et al., 2015), ou encore celui du monoxyde d'azote «NO» (Jun et al., 2015) dont le métabolisme aboutit à la formation de peroxynitrites.

Par ailleurs, au niveau cérébral, les plaques amyloïdes sont entourées de cellules microgliales, indicateurs du processus inflammatoire chronique. En effet, le peptide amyloïde active le processus inflammatoire au niveau cérébral, en interagissant avec des voies de signalisation de l'inflammation comme la voie NF-κB «Nuclear Factor-Kappa B», impliquée dans les réponses immunitaires et au stress cellulaire (Park et al., 2014). Par ailleurs, Aβ augmente l'expression de deux enzymes, la iNOS « Monoxyde d'azote Synthase inductible » et la COX 2 « cyclo-oxygénase de type 2 » aboutissant à des phénomènes inflammatoires et immunitaires, ainsi que les taux de cytokines inflammatoires comme les interleukines 1 et 6 (IL-1 et IL-6) et le TNF-α « Tumor Necrosis Factor-α » (Raha et al., 2016). A terme, l'activation des cellules gliales et la sécrétion de cellules inflammatoires au niveau cérébral aboutit non seulement à l'entretien du phénomène au niveau local mais aussi à la destruction du tissu cérébral.

On sait également que l'Aβ est un élément important dans le déficit synaptique qui intervient au cours de la MA, les taux de protéines synaptiques sont diminués chez les patients atteints de la MA, et ce déficit est également constaté dans des modèles animaux amyloïdogéniques (Patel et al., 2014). Il a également été rapporté que les effets toxiques des oligomères Aβ sur culture cellulaire seraient initiés au niveau des axones terminaux et non au niveau des corps cellulaires, expliquant ainsi l'apparition des déficits synaptiques avant la perte neuronale (Buskila et al., 2013; Parikh et al., 2014).

- **Le peptide neuroprotecteur sAPPα**

Lorsque le précurseur amyloïde n'est pas clivé par la β sécrétase, celui-ci est clivé par une autre sécrétase dite α, il en résulte un peptide soluble nommé sAPPα, qui présente des propriétés neuroprotectrices, et un fragment C-terminal qui reste accroché à la membrane cytoplasmique, et qui sera clivé également par la ɣ sécrétase. Ce peptide sAPPα représente également un axe de recherche important dans la physiopathologie de la MA, et une cible importante pour le développement de nouvelles thérapeutiques.

D'abord, dans le but de comprendre les fonctions d'APP, des équipes allemandes et suisses ont comparé des souris : sauvages, des souris qui n'expriment pas la protéine membranaire APP, des souris qui expriment le fragment APPΔCT15 auquel manque les 15 acides aminés C-terminaux, représentant le domaine d'interaction de la protéine, et des souris qui expriment uniquement le fragment sAPPα afin de comparer les différents phénotypes. Alors que le fragment C-terminal d'APP est nécessaire pour la transduction des signaux que suscite cette protéine, ces chercheurs s'attendaient à obtenir des profils identiques entre les souris sauvages et les souris APPΔCT15. Cependant, ils ont constaté qu'en plus de ce génotype, le fragment sAPPα suffit également à lui seul pour rétablir le phénotype sauvage des souris. En effet, sAPPα a permis de rétablir : le développement

somatique, le poids du cerveau, la force de préhension, l'activité spontanée dans les cages de vie, l'activité exploratoire, l'apprentissage spatial, ainsi que la plasticité synaptique objectivée par le rétablissement de la potentialisation à long terme (Ring et al., 2007).

Il y a déjà une vingtaine d'années, Furukawa avait démontré avec ses collègues que le traitement par sAPPα de cultures neuronales corticales embryonnaires humaines ou de rat réduisait la mort cellulaire induite par le glutamate ou le peptide neurotoxique Aβ. En effet, le glutamate, neurotransmetteur important dans les phénomènes de plasticité synaptique, peut également induire des processus d'excitotoxicité lors de dysfonctionnement cellulaire ou lorsque sa concentration cellulaire est trop importante. De manière intéressante, sAPPα régule l'excitabilité neuronale glutamatergique et contrebalance l'excitotoxicité, par activation de canaux potassiques induisant ainsi une hyperpolarisation neuronale. Afin de vérifier l'origine de ces effets, des études comparatives avec le dérivé sAPPβ n'ont pu démontrer ces mêmes effets neuroprotecteurs (Furukawa et al., 1996). Par ailleurs, sAPPα facilite la transmission synaptique liée aux récepteurs NMDA (N-méthyl D-aspartate) et de ce fait, la potentialisation à long terme, corrélée au niveau comportemental par une amélioration de la mémoire de référence spatiale chez des rats adultes, après traitement par un inhibiteur des α sécrétases endogènes (Taylor et al., 2008). Afin de définir les mécanismes de cet effet protecteur du neuropeptide sAPPα, il a été démontré que le traitement par sAPPα d'une culture de neurones hippocampiques régule l'expression de différents gènes de survie ou de mort cellulaire. Ainsi, sont concernés les gènes des protéines pro-inflammatoires et de réponses immunitaires mises en cause dans la MA. De la même manière, sAPPα induit la diminution de l'expression de la protéine oncogène p53 qui régule l'apoptose, expression qui est augmentée au cours de la MA. Par ailleurs sAPPα promeut l'expression de gènes de survie et de prolifération cellulaire comme le gène Cd80 (Ryan et al., 2013). Au niveau cellulaire, il a été démontré que $A\beta_{40}$ et $A\beta_{42}$ promeuvent la prolifération de

cellules embryonnaires humaines, mais sont incapable d'induire leur différenciation en cellules neuronales à l'inverse de sAPPα (Porayette et al., 2009). De plus, sAPPα induit la croissance de neurites sur une culture de neurones corticaux embryonnaires de souris (Hasebe et al., 2013). De la même manière, chez des souris transgéniques porteuses du gène de la protéine ADAM 10 qui présente une activité α sécrétase (Cochet et al., 2013), il a été montré une augmentation des boutons pré synaptiques cholinergiques, glutamatergiques et GABAergiques à l'âge de 8 mois ainsi qu'à l'âge de 18 mois pour les boutons cholinergiques. Cette poussée neuronale a été confirmée par l'injection de sAPPα, directement au niveau cérébral, à des souris non transgéniques chez lesquelles il a été également observé une augmentation des boutons pré synaptiques des mêmes neurones dans les régions proches du site d'injection, et une augmentation des boutons cholinergiques au niveau des régions plus éloignées du site de traitement cérébral (Bell et al., 2008). Par ailleurs, par liaison avec la β sécrétase, sAPPα l'inhibe afin de réguler le clivage d'APP. De ce fait, la β sécrétase devient incapable de se fixer au précurseur amyloïde, afin de le cliver et générer le peptide neurotoxique Aβ. Ainsi, le traitement par sAPPα de souris transgéniques qui surexpriment des formes mutées d'APP, induisant un phénotype amyloïdogénique, entraîne une diminution de leurs taux d'$A\beta_{40}$ et $A\beta_{42}$, et ce pour les deux formes solubles et insolubles. Chez ces mêmes animaux, sAPPα entraîne une diminution des fragments C-terminaux β (β CTF) produits après action de la β sécrétase sur le peptide précurseur amyloïde (Obregon et al., 2012). De manière intéressante, au-delà du processus amyloïdogénique, sAPPα agit également sur l'autre marqueur histologique de la MA, l'hyperphosphorylation de la protéine tau. En effet, sAPPα inhibe la protéine GSK3β (Glycogen Synthase kinase 3), une sérine/thréonine kinase qui régule de nombreux processus cellulaires fondamentaux, en la phosphorylant sur la sérine 9. Cette même protéine kinase GSK3β, parmi ses autres fonctions, induit la phosphorylation de la protéine tau. Ces résultats ont été observés sur une

lignée cellulaire de neuroblastomes humains SH-SY5Y, et confirmés chez des souris triples transgéniques PSAPP/TgsAPPα (Deng et al., 2015). Ainsi, le peptide sAPPα récemment revu par Habib (Habib et al., 2016), augmente la concentration neuronale de la guanosine monophoshate cyclique (GMPc) ce qui entraîne une réduction de la concentration des ions calciques libres intracellulaires, et de ce fait réduit la neurotoxicité liée à la perturbation de l'homéostasie de ces cations. sAPPα réduit de ce fait la toxicité liée à Aβ, au stress oxydant induit par le Fe^{2+} et les radicaux libres. Au niveau structurel, sAPPα possède un domaine riche en cystéines similaire à celui des facteurs de croissance et possède donc des propriétés de facilitateur de la neurogenèse et neurotrophique. De plus, une corrélation positive a été établie entre la baisse du taux de sAPPα dans le LCR et l'apparition des déficits cognitifs chez l'Homme et l'animal. C'est pourquoi la promotion de ce peptide (et de ses actions) au niveau cérébral est un enjeu majeur dans la recherche de traitements pour la MA.

3. *Hyperphosphorylation de la protéine Tau*

Depuis la première description d'Aloïs Alzheimer, des fibrilles avec une capacité d'imprégnation ont été observées au niveau intra neuronal lors de l'autopsie de madame Auguste Deter. Ces fibrilles formées de protéines tau hyperphosphorylées, font l'objet d'une grande attention dans l'étude de la MA puisqu'elles représentent un des principaux marqueurs de la pathologie, au même titre que les plaques séniles amyloïdes.

La protéine tau fait partie de la famille des protéines fixées aux microtubules qui stabilisent le cytosquelette cellulaire, elle appartient à la famille des MAP « Microtubules associated protein ». Elle est principalement synthétisée au niveau cérébral, il en existe six isoformes, elle est située majoritairement au niveau des axones, et de manière moins importante au niveau des dendrites et corps cellulaires. C'est une protéine très importante puisqu'elle joue des rôles différents et importants à différents stades du développement. En

effet, la protéine tau intervient dans la synaptogenèse et la maturation des neurones au cours du développement, et à l'âge adulte, elle participe à la formation des neurones par fixation aux microtubules favorisant ainsi leur assemblage, d'où découle également un rôle secondaire dans le transport des organites cellulaires. Le fonctionnement normal de la protéine tau nécessite sa phosphorylation par des kinases, et le degré de phosphorylation joue un rôle dans la fixation aux microtubules, ainsi, un faible degré de phosphorylation de tau augmente la polymérisation des microtubules.

Au cours de la MA, tau se trouve hyperphosphorylée, à un stade précoce de la maladie, à cause d'un déséquilibre entre les kinases phosphorylantes et les phosphatases qui sont les protéines de déphosphorylation. Cette hyperphosphorylation peut être induite par le peptide Aβ ou le stress oxydant par exemple, et aboutit au détachement des protéines tau. L'augmentation de la concentration de la protéine tau détachée favorise son repliement sur elle-même et s'agrège entre elles pour former des feuillets bêta dits « amyloïde-like », ces feuillets s'agrègent à leur tour pour former de plus larges filaments (Figure 8) (Hasegawa, 2016).

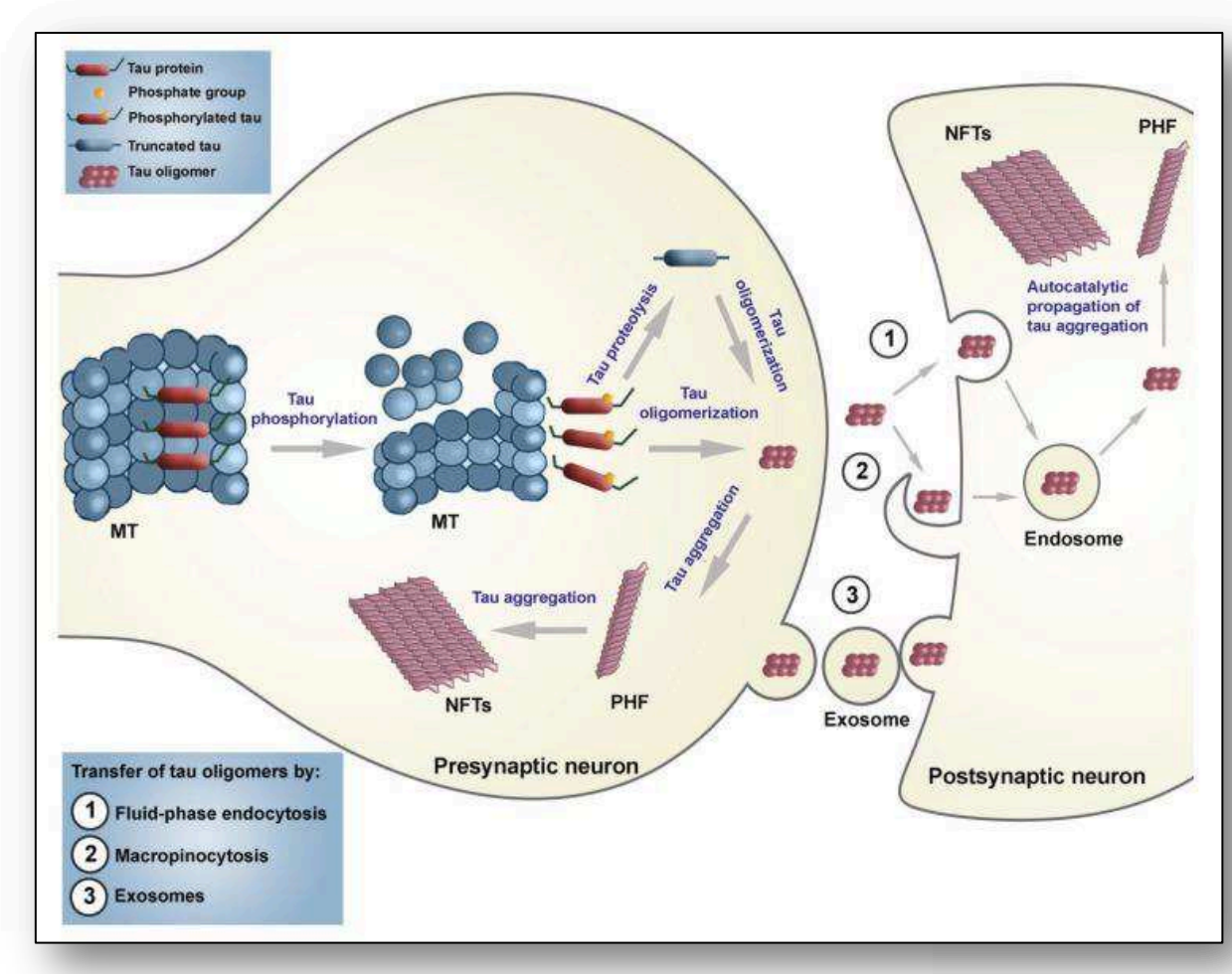


Figure 8 : Processus de formation des neurofibrilles de la protéine tau hyperphosphorylée (Šimić et al., 2016).

Une fois séquestrée dans ces filaments, tau ne peut plus assurer sa fonction de protéine liée aux microtubules, et perd sa fonction de stabilisatrice du cytosquelette, aboutissant à la perturbation de la dynamique du cytosquelette et du transport axonal, au dysfonctionnement synaptique et à la neurodégénérescence. Les agrégats fibrillaires de tau seraient une des manifestations tardives de la maladie qui renforce en plus sa progression par interaction physique avec les autres fonctions cellulaires. Il existe également plus d'une cinquantaine de mutations de la protéine tau qui sont toutes pathogéniques par perturbation de sa fonction et promotion de sa fibrillation, rendant ainsi la protéine tau impliquée dans différentes maladies neurodégénératives en plus de la MA (Arendt et al.,

2016). L'implication exacte de l'hyperphosphorylation de la protéine tau dans la neurodégénérescence de la MA demeure encore incomprise. On sait néanmoins grâces à des modèles d'études animaux et cellulaires que la protéine tau interagit de manière réciproque avec le peptide Aβ, puisque tau aggrave la pathologie amyloïde et favorise une diminution du taux du peptide neuroprotecteur sAPPα (Bright et al., 2015), et que des souris transgéniques amyloïdogéniques exprimant également le gène de la protéine tau (souris 5xFAD × Tg30) développent des neurofibrilles tau de manière plus importante en comparaison à des souris qui expriment seulement le transgène de la protéine tau (souris Tg30) (Héraud et al., 2014).

Cette partie ne sera pas développée de manière plus importante puisque notre étude portera principalement sur le peptide amyloïde.

4. Hypothèse cholinergique

Au-delà des nombreuses hypothèses émises dans le cadre de la physiopathologie de la MA comme la toxicité amyloïde ou les fibrilles de protéines tau hyperphosphorylées, une autre hypothèse concernant le déficit de la transmission cholinergique a également été postulée.

L'acétylcholine (ACh) est le premier neurotransmetteur qui a été découvert, au début du XX^{e} siècle. Comme illustré dans la « Figure 9 », l'ACh est largement distribuée au niveau des systèmes nerveux périphérique et central. Les projections cholinergiques issues de régions cérébrales comme le noyau basal de Meynert (Figure 10) et le septum médial, innervent ainsi l'ensemble des régions du cerveau prosencéphalique comme le thalamus, l'hippocampe et l'amygdale. Le complexe constitué du noyau pédonculopontin avec la région latérodorsale du tegmuntun innervent quant à elles, les régions du cerveau mésencéphalique comme le striatum et le pont.

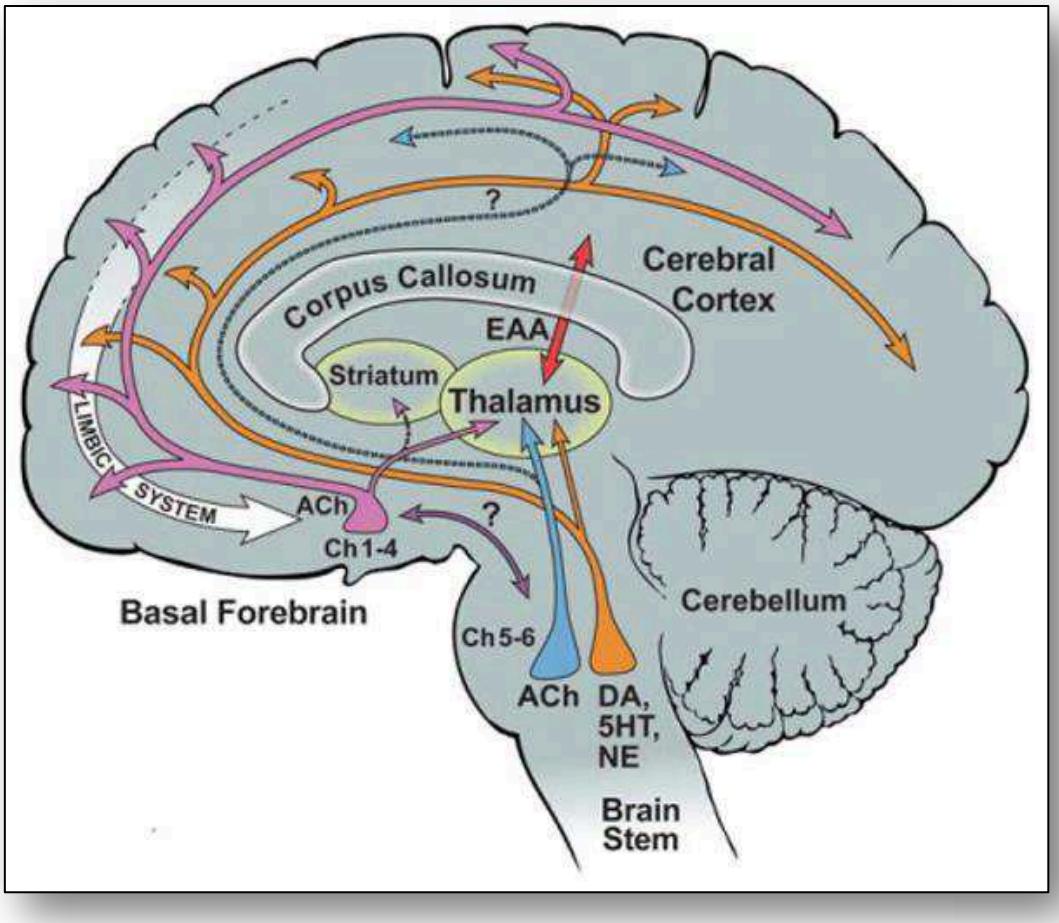


Figure 9 : illustration de l'innervation cholinergique du cerveau humain (Mesulam, 2013).

ACh : Acétylcholine, DA : dopamine, 5-HT : sérotonine, NE : norépinéphrine, EAA : acides aminés excitateurs, ? : la voie n'est pas confirmée chez l'humain, Ch1-4 : groupes neuronaux cholinergiques du prosencéphale, Ch5-6 : groupes neuronaux cholinergiques du mésencéphale.



Figure 10 : Photo du psychiatre et neuroanatomiste allemand Theodor Hermann Meynert (Google images).

D'un point de vue métabolique, l'ACh est synthétisée au niveau des terminaisons nerveuses grâce à la choline acétyle transférase (ChAT) qui utilise la choline et l'acétyle CoA comme substrats. Une fois synthétisée, l'ACh est emmagasinée dans des vésicules pré synaptiques grâce à l'acétylcholine transporteur (AChT), et le contenu de ces vésicules est libéré dans les fentes synaptiques suite à un influx nerveux. Une fois dans la fente synaptique, l'ACh se fixe sur ses récepteurs qui sont classés en deux familles : les récepteurs muscariniques et nicotiniques (Figure 11).

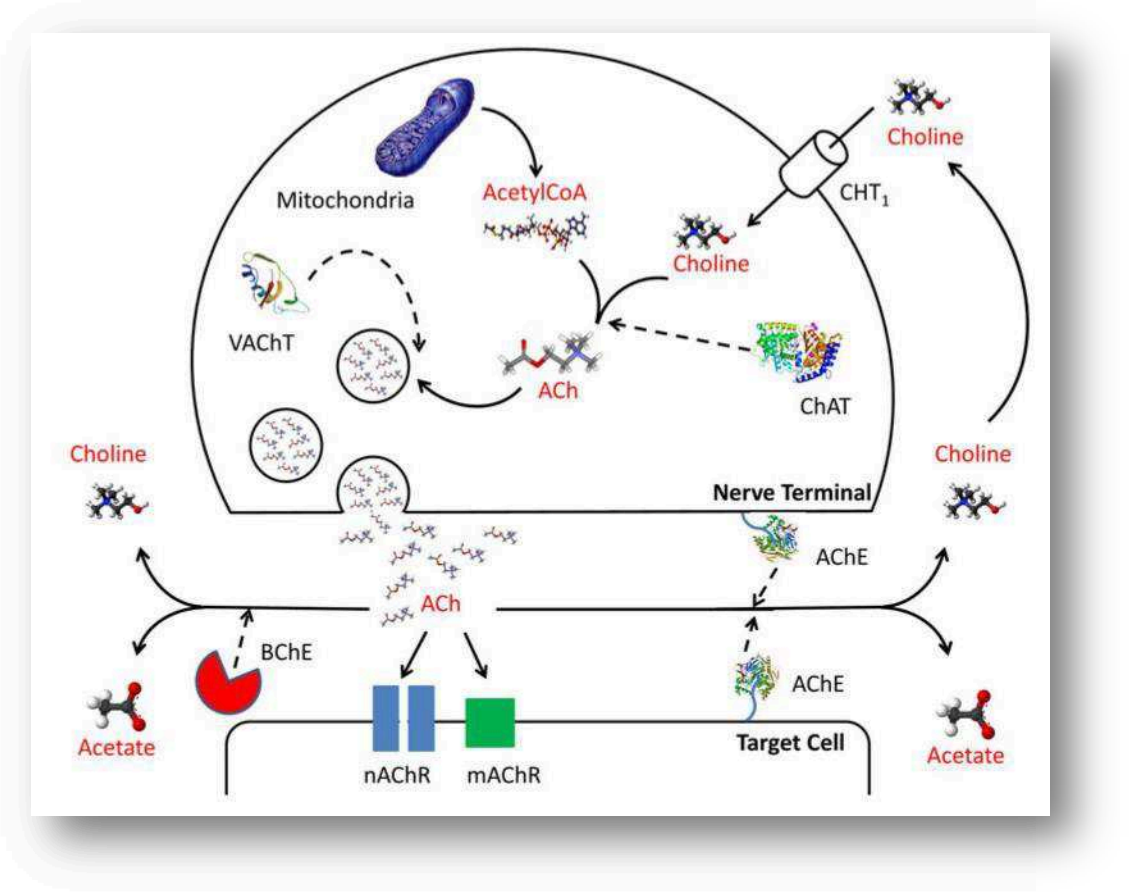


Figure 11 : Synthèse de l'acétylcholine (Zoheir et al., 2012).

Ach : Acetylcholine, ChAT : choline acetyltransferase, CHT1 : high affinity choline transporter-1, VAChT : vesicular ACh transporter, AChE : acetylcholinesterase, BChE : butyrylcholinesterase, mAChR : muscarinic receptors, nAChR : nicotinic receptors.

Les récepteurs muscariniques sont des récepteurs métabotropiques dont il existe 5 sous types : M1, M2, M3, M4 et M5 qui sont organisés en deux familles : les M1 (M1, M3 et M5) couplés à la protéine Gq qui active la phospholipase C, et les M2 (M2 et M4) qui sont

couplés à la protéine Gi/α qui inhibe l'adénylate cyclase. Le récepteur M2 est un autorécepteur pré synaptique qui joue un rôle de rétrocontrôle inhibiteur, les autres sont tous post synaptiques. Ces récepteurs sont largement distribués au niveau cérébral avec des fortes densités dans des régions importantes pour la mémoire comme l'hippocampe, le striatum et le cortex. Les récepteurs nicotiniques quant à eux sont des récepteurs canaux pentamériques constitués par des sous unités α et β. Il existe 7 sous types de sous unités α et 3 sous types β, qui se combinent avec des stœchiométries différentes afin de donner lieu à des récepteurs différents quant à leur perméabilité cationique, fixation des ligands et leurs propriétés de désensibilisation. Les récepteurs homopentamériques α7 et hétéropentamériques α4β2 sont majoritairement exprimés dans l'ensemble du cortex cérébral et au niveau de l'hippocampe. Après fixation sur ses récepteurs pré ou post synaptiques, l'ACh module différentes fonctions comme le cycle veille sommeil, l'attention et la mémoire, au niveau du système nerveux central ou encore les fonctions cardiovasculaire, rénale et gastrointestinale, au niveau du système nerveux périphérique. Si l'ACh ne s'est pas fixée sur ses récepteurs, sa demi-vie dans la fente synaptique est de l'ordre de quelques millisecondes avant d'être dégradée par l'acétylcholinestérase (AChE) ou la butyrylcholinestérase (BuChE) (Prado et al., 2016).

Avant les années 80, il a été établi que la transmission cholinergique est impliquée dans la modulation du processus de mémorisation et qu'elle est déficitaire chez les patients atteints de la MA, avec déplétion de l'enzyme choline acétyle transférase. Au cours des années 70, on avait déjà identifié des structures hautement impliquée dans la mémoire, comme l'hippocampe, et qui avaient des projections nerveuses afférentes et efférentes cholinergiques, et présentent une forte densité en récepteurs cholinergiques. Il a également été observé que la scopolamine, un antagoniste des récepteurs muscariniques de l'ACh, utilisée en prémédication chirurgicale induisait des amnésies chez les patients (Smith and

Swash, 1978).

Par ailleurs, l'ACh joue également un rôle important dans les manifestations pathologiques de la MA, puisque les études menées sur l'ACh, déficitaire au cours de cette pathologie, ont démontré que l'ACh réduit la mort cellulaire liée à Aβ, et l'inflammation astrocytaire induite au cours de la MA (Grimaldi et al., 2016). De manière intéressante, ces effets mettent autant en œuvre les récepteurs muscariniques que nicotiniques puisque l'activation des récepteurs M1 par exemple, augmente la sécrétion du peptide neuroprotecteur sAPPα et diminue la neurotoxicité liée au peptide Aβ ainsi que sa formation par interaction avec son enzyme de synthèse BACE (β sécrétase) (Jiang et al., 2014). Alors que, plusieurs données expérimentales montrent que les récepteurs nicotiniques homopentamériques α7 sont à l'origine de la neuroprotection vis-à-vis de l'excitotoxicité induite par le glutamate et la neurotoxicité liée à Aβ. Ces récepteurs nicotiniques diminuent également la sécrétion de cytokines inflammatoires au niveau central et inhibent leur synthèse au niveau périphérique (Yakel, 2013).

Il existe une relation réciproque entre le peptide Aβ et le système cholinergique puisque les récepteurs muscariniques et nicotiniques régulent le métabolisme amyloïdogénique, et que la dégénérescence cholinergique semble être secondaire à la neurotoxicité liée à Aβ. Par ailleurs, un déficit de la transmission nerveuse cholinergique peut également aboutir à une hyperphosphorylation de la protéine tau et la production d'Aβ, aboutissant ainsi à la neurodégénérescence. Ces dernières données remettent en cause l'hypothèse cholinergique, puisqu'il est ainsi difficile de définir si le déficit de la transmission cholinergique est la cause ou la conséquence du processus dégénératif (Tata et al., 2014).

5. *Dysfonctionnement des autres systèmes de neurotransmission dans la MA*

- **Le système glutamatergique**

Au-delà du dysfonctionnement cholinergique qui survient au cours de la MA, les autres systèmes de neurotransmission cérébrale sont également perturbés. Par exemple, le glutamate, une cible thérapeutique importante dans la MA joue un rôle physiologique très important dans des phénomènes cognitifs comme la mémoire et l'apprentissage. En effet, l'activation des récepteurs NMDA (N-méthyl D-aspartate) par le glutamate à des concentrations de l'ordre du millimolaire, induit un flux de cations calciques « Ca^{2+} » au niveau intracellulaire qui active des enzymes responsables de la mise en place et renforcement de la plasticité synaptique. Dans le but de mettre en évidence l'intérêt de ce neurotransmetteur, des études ont montré que l'absence des récepteurs NMDA chez la souris au niveau de l'hippocampe induisait des déficits mnésiques, alors que leur surexpression améliore la mémoire. A l'état pathologique, comme dans le cas de la MA, les récepteurs NMDA sont hyperactivés par le glutamate à des concentrations inférieures à celle nécessaire à l'état physiologique, et ce de manière plus au moins continue, d'où résulte un flux d'ions Ca^{2+} et Na^{+}, qui activent des enzymes du catabolisme Calcium Calmoduline dépendantes. Certains neurones sont incapables de compenser cette hyperactivation et dégénèrent, et ce phénomène est appelé « excitotoxicité ». Cette toxicité peut également être modulée par d'autres récepteurs que les NMDA, mais ces derniers sont plus vulnérables du fait de leur large distribution au niveau des régions impliquées dans la mémoire comme l'hippocampe. Les neurones glutamatergiques, qui sont acteurs et cible de l'excitotoxicité sont retrouvés colocalisés avec les plaques séniles amyloïdes. Par ailleurs, le peptide Aβ augmente la susceptibilité à la mort neuronale par perturbation des homéostasies glutamatergique et calcique (Danysz and Parsons, 2003; Doraiswamy, 2003). De plus, les

transporteurs du glutamate responsables de sa recapture présentent des anomalies au cours de la pathologie, puisque des variantes de ces transporteurs sont exprimées au cours de la MA, et ces variantes sont moins fonctionnelles, ou ne le sont pas, laissant ainsi le glutamate s'accumuler dans les fentes synaptiques et se fixer sur ses récepteurs post synaptiques (Scott et al., 2011).

- **Les catécholamines**

Par ailleurs, la MA étant une pathologie multifactorielle et polysymptomatique, n'est pas exclusivement liée à l'acétylcholine et au glutamate. Par exemple, la dopamine, en plus de ses fonctions dans le système de récompense ou encore le contrôle des fonctions motrices, joue également un rôle important dans la mémoire (Chudasama and Robbins, 2004). Il a été démontré que le traitement d'un modèle de souris amyloïdogénique de la MA par le précurseur de la dopamine « L-DOPA » améliore la mémoire dans ce modèle. De plus, les récepteurs dopaminergiques « D_2 » voient leur densité baisser au cours de la MA au niveau du striatum, et les perturbations du métabolisme dopaminergique induisent des symptômes neuropsychiatriques comme l'agitation et l'agressivité qui sont souvent observés chez les patients atteints de la MA (Ambrée et al., 2009; Tanaka et al., 2003). De la même manière, d'autres neurotransmetteurs importants pour la mémoire comme la sérotonine ou la noradrénaline présentent des perturbations au cours de la MA (Storga et al., 1996).

6. Diagnostic

A ce jour, le diagnostic de la MA est réalisé lorsque les patients ou leur entourage se plaignent de manifestations cognitives qui durent depuis au moins six mois, d'après la HAS « Haute Autorité de Santé ». Le diagnostic est réalisé grâce à des tests neuropsychologiques comme le MMSE « Mini Mental State Examination » ou test de Folstein, le test de l'horloge ou encore le test des tracés ou Trail-Making Test. Le MMSE est l'un des tests les plus

couramment utilisés dans le diagnostic des démences. Il s'agit d'un questionnaire sur papier où le score maximum est de 30, et les valeurs supérieures à 24 définissent des fonctions cognitives normales. D'ailleurs, en France, les stades de la MA sont définis selon les scores obtenus au test du MMSE (HAS) :

- Stade léger : MMSE > 20
- Stade modéré : 10 < MMSE < 20
- Stade sévère : MMSE < 10

Néanmoins, certaines études ont démontré que ce test doit être accompagné d'autres mesures diagnostiques afin d'assurer son efficacité (Creavin et al., 2016). Dans le but de prévenir et d'améliorer la prise en charge de patients atteints de la MA, de nombreuses études ont été menées afin de définir des marqueurs biologiques ou « biomarqueurs ». Les marqueurs histologiques de la MA sont les premières cibles à la recherche de ces biomarqueurs, comme la protéine tau, le peptide Aβ ou les plaques séniles. En effet, les marqueurs établis au niveau mondial pour le diagnostic avec certitude de la maladie d'Alzheimer sont :

- La baisse de la concentration de $A\beta_{1-42}$ au niveau du LCR à des concentrations < 500 pg/mL pour des valeurs normales de 794 ± 20 pg/mL, puisque le peptide amyloïde est séquestré au niveau cérébral sous forme d'agrégats séniles.
- L'augmentation de la concentration de la protéine tau au niveau du LCR à des valeurs > 450 à > 600 pg/mL chez des patients âgés de 51 à 75 ans en comparaison à des valeurs normales < 500 pg/mL chez des sujets d'âge supérieur à 70 ans. Ce facteur présente d'avantage une valeur pronostique que diagnostique dans le cadre de la MA.
- La phosphorylation de la protéine tau sur l'acide aminé en position 181 est également caractéristique de la MA, ainsi que sur d'autres positions comme les acides aminés

199, 231, 235, 396 et 400 (Sharma and Singh, 2016).

Cependant, ces méthodes présentent un inconvénient majeur, puisqu'elles nécessitent la pratique d'une ponction lombaire, un geste invasif, afin de récupérer des échantillons de LCR. C'est pourquoi de nombreuses équipes essayent d'identifier des marqueurs sériques, comme les marqueurs histologiques de la MA, des marqueurs de l'inflammation ou encore des marqueurs du stress oxydant (Ciavardelli et al., 2016), qui ne susciteraient pas de gestes invasifs et permettraient un suivi au long cours.

Par ailleurs, d'autres investigations peuvent aussi être entreprises comme l'imagerie par résonnance magnétique (IRM) structurelle qui peut mesurer le volume cérébral, la tomoscintigraphie par émission de positrons (TEP) évalue la densité du peptide Aβ au niveau cérébral, ou encore le métabolisme cérébral. Ces méthodes présentent néanmoins des inconvénients puisqu'elles ne permettent pas de diagnostiquer la maladie de manière sûre. De plus, la TEP par exemple nécessite l'utilisation de radioligands ou radiotraceurs comme le Fluoro Désoxy Glucose marqué au fluore 18 (^{18}F-FDG), et peuvent présenter des contre-indications chez certaines personnes comme les porteurs d'implants métalliques, celles souffrant de claustrophobie ou encore présentant des allergies aux radioligands utilisés (Knight et al., 2016). Au-delà des contre-indications et lourdeurs de ces investigations, une étude rétrospective a démontré qu'il ne serait pas recommandé d'utiliser ces pratiques couramment en clinique dans un but diagnostique ou de suivi de la MA (Smailagic et al., 2015). Par ailleurs, des équipes se sont intéressées à la chronologie d'apparition d'anomalies de ces « biomarqueurs » au cours du vieillissement évoluant vers la démence de la MA. Ainsi, au cours du temps, la perturbation du peptide Aβ est la première manifestation observée au niveau du LCR ou par imagerie de scintigraphie, puis apparaissent des anomalies touchant la protéine tau (totale et phosphorylée) qui précèdent les déficits de métabolisme cérébral et enfin la survenue des déficits cognitifs (Figure 12) (Jack et al., 2013). Ces travaux permettront

à l'avenir de mieux appréhender des nouvelles méthodes diagnostiques de la MA.

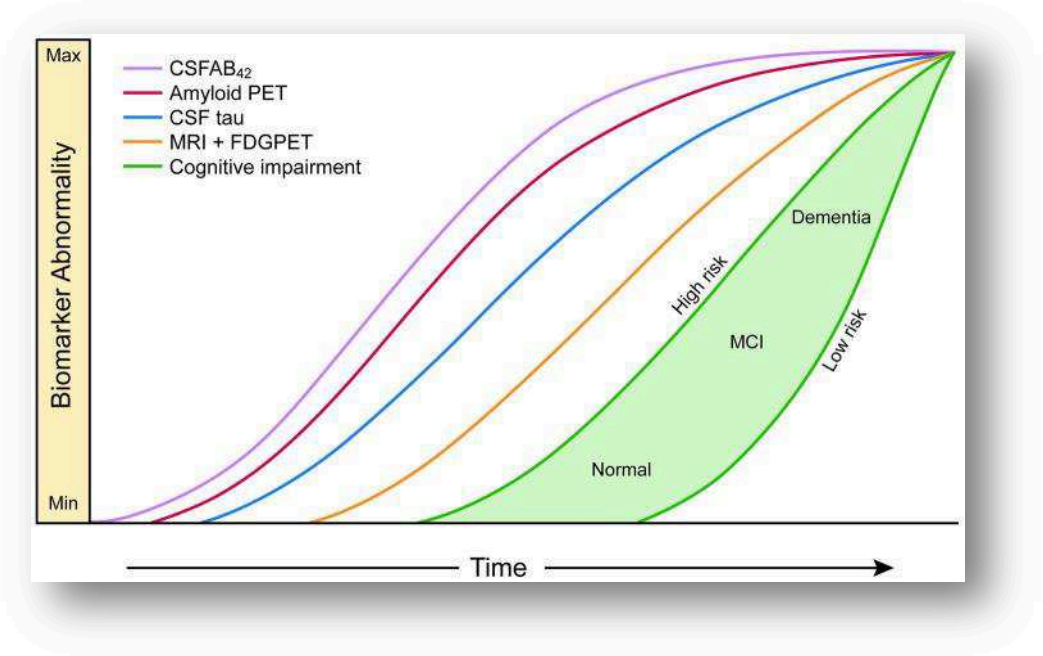


Figure 12 : Dynamique d'apparition des anomalies des « biomarqueurs » de la MA au cours de son évolution (Jack et al., 2013)**.**

7. Traitements

La MA est un problème majeur de santé publique. En effet, la dépendance engendrée par la MA induit des coûts colossaux pour les collectivités, que les patients soient internalisés dans des établissements spécialisés ou chez eux. De ce fait, le traitement de cette pathologie représente un enjeu majeur pour la communauté scientifique. De nombreux travaux sont menés dans le but de développer des traitements efficaces pour cette pathologie qui ont porté sur différents aspects pathologiques. Au niveau histologique, le peptide Aβ et la protéine tau hyperphosphorylée sont des cibles majeures, alors que d'un point de vue symptomatologique, les neurotransmetteurs semblent plus directement liés à la mémoire, qui est la principale atteinte clinique. A ce jour, les traitements disponibles sur le marché, agissent uniquement sur les troubles de mémoires. Ils sont indiqués dans les stades légers à modérés de la MA, et ciblent les deux systèmes cholinergiques et glutamatergiques.

- **Les inhibiteurs de l'AChE**

Les premières ouvertures thérapeutiques reposent sur l'hypothèse cholinergique de la MA, modulant positivement la transmission cholinergique par apport exogène du neurotransmetteur ou son précurseur (hypothèse basée sur le traitement de la maladie de Parkinson par le précurseur de la dopamine L-Dopa), soit par inhibition du métabolisme de l'ACh, ou encore par activation des récepteurs muscariniques (Abernethy, 1987). Cette hypothèse a été confortée par des études *in vivo* et *in vitro* qui ont démontré les effets bénéfiques de cette neuromodulation (Liu et al., 2014; Nepovimova et al., 2014; Rizzo et al., 2012; Smith and Swash, 1978). C'est dans ce cadre qu'a été développée la première classe pharmacologique de médicaments ayant une indication dans le traitement symptomatique de la MA, les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (IAChE). La tacrine est le premier médicament mis sur le marché en 1993 aux Etats Unis et au Japon, et retiré du marché en 2004 à cause de son hépatotoxicité, puis ont suivi les autres médicaments de cette classe pharmacologique : donepezil (Aricept®) – 1996, rivastigmine (Exelon®) -2000 et galantamine (Reminyl®) commercialisée en 2001 (Tata et al., 2014).

Au jour d'aujourd'hui, le donepezil est de loin le médicament le plus utilisé pour le traitement symptomatique de la MA à la dose initiale de 5 mg par jour puis 10 mg par jour (Rogers and Friedhoff, 1996). Cette molécule est également utilisée à la dose journalière de 23 mg aux Etats Unis d'Amérique, mais la pertinence de cette dose reste encore à démontrer (Molino et al., 2013). Il s'agit d'un inhibiteur sélectif, réversible et non compétitif de l'AChE. Sa demi-vie est de 70h, sa concentration plasmatique maximale est atteinte au bout de 2 à 4h après administration, il présente une biodisponibilité de 90 à 100%, un fort taux de fixation aux protéines plasmatiques (93 à 96%) et son équilibre plasmatique est atteint au bout de 14 à 22 jours. Au niveau hépatique, le donepezil est métabolisé par deux cytochromes, le CYP3A4 dont l'action donne naissance à un métabolite inactif et le CYP2D6

qui catalyse la production d'un métabolite actif. L'existence de cette dernière voie métabolique peut être à l'origine d'une certaine variabilité interindividuelle quant à l'efficacité thérapeutique du donepezil (Campos et al., 2016).

L'ensemble des IAChE sont indiqués pour le traitement de la maladie d'Alzheimer dans les stades légers à modérés, et le donepezil est en plus indiqué dans les stades modérés à sévères, il ne semble pas recommandé pour le traitement des déficits cognitifs au stade MCI et garde son effet bénéfique retardateur de la pathologie au stade sévère de la pathologie (Cheewakriengkrai and Gauthier, 2013). En plus de ses effets sur les troubles de la mémoire, le donepezil améliore également le déficit de langage après 6 mois de traitement en comparaison au placebo ou à l'état de base, même au stade sévère de la maladie. La rivastigmine a également démontré des effets bénéfiques similaires sur les troubles du langage (Ferris and Farlow, 2013). De plus le traitement par le donepezil retarde le placement en établissement d'hébergement de personnes âgées et dépendantes (EHPAD) des patients atteints de la MA, alors que l'arrêt du donepezil augmente les chances de placement en EHPAD particulièrement au cours des 6 mois suivants l'arrêt du traitement (Jelic and Winblad, 2016). Par ailleurs, le donepezil est également conseillé dans d'autres pathologies neurodégénératives comme la démence aux corps de Lewy ou la démence vasculaire où il améliore les symptômes cognitifs et comportementaux comme les délires, hallucinations visuelles et l'agitation (Cheewakriengkrai and Gauthier, 2013).

Concernant les autres possibilités de modulation de la voie cholinergique, certains composés, comme les agonistes des récepteurs muscariniques M1, n'ont pas pu être développés jusqu'au stade de médicaments, à cause de leurs effets secondaires ou leurs propriétés physicochimiques comme une très faible solubilité dans le milieu physiologique ou un faible passage de la barrière hématoencéphalique (BHE) (Jiang et al., 2014).

- **L'antagoniste des récepteurs NMDA**

Outre les IAChE, un autre médicament, la mémantine (Ebixa®) est mise sur le marché depuis 2002, pour le traitement de la MA pour les patients atteints d'une forme modérée à sévère de la maladie. La mémantine est un antagoniste voltage dépendant, non spécifique et rapidement réversible des récepteurs NMDA du glutamate (Molino et al., 2013). En effet le glutamate est l'un des neurotransmetteurs excitateurs majeurs et occupe 70% des synapses excitatrices au niveau cérébral. Dans certaines conditions pathologiques (maladies neurodégénératives, accidents vasculaires cérébraux,…) un hyperfonctionnement du système glutamatergique va concourir à la mise en place du phénomène d'excitotoxicité soit par sensibilisation des récepteurs ionotropes NMDA, soit par augmentation de la libération de glutamate ou par diminution de sa recapture (Lewerenz and Maher, 2015), c'est pourquoi les antagonistes de ces récepteurs sont une voie thérapeutique intéressante dans la MA. Cependant, les antagonistes à forte affinité aux récepteurs NMDA comme la phencyclidine ou la dizocilpine n'ont pu être développés à cause de leurs graves effets secondaires comme l'induction de psychoses, du fait du blocage de l'activité physiologique des récepteurs NMDA. La mémantine quant à elle a démontré des effets neuroprotecteurs en présence de glutamate ou du peptide Aβ. Par ailleurs, elle réduit la sénescence cellulaire en agissant sur le stress oxydant et elle améliore les performances de mémoire et d'apprentissage chez les rongeurs (Doraiswamy, 2003; Ota et al., 2015). Chez les patients atteints de la MA, la mémantine améliore les fonctions cognitives, réduit le déclin cognitif ainsi que le temps de travail des personnels soignants (Dysken et al., 2014; Farokhnia et al., 2014).

Problématique

La MA est donc une maladie neurodégénérative, multifactorielle, affectant un organe dont les cellules ne se reproduisent plus. A ce jour, le diagnostic de la pathologie n'est posé avec certitude que lorsque la maladie est déjà bien installée et les patients ou leur entourage se plaignent de manifestations cliniques. La dépendance engendrée par la pathologie conjuguée au nombre de personnes atteintes par la pathologie, du fait du développement des populations et l'augmentation de l'espérance de vie, induit des coûts de prise en charge, en institution ou aux domiciles des patients, qui deviennent de plus en plus un très lourd fardeau pour la société. De plus, les traitements actuellement disponibles sur le marché, malgré leurs propriétés vantées dans les études *in vitro* ou sur des modèles animaux (Bhattacharya et al., 2014; Kim et al., 2014; Ota et al., 2015), n'ont que des effets symptomatiques et ne font que retarder l'évolution de la pathologie vers la démence sévère. En effet, une équipe de recherche japonaise a démontré dans une récente étude que la mémantine, administrée seule ou avec des IAChE améliore l'état des patients après 6 mois de traitement, mais l'état des patients régresse après un an de traitement (Matsuzono et al., 2015)). De nombreuses autres études démontrent également l'effet seulement retardateur de l'évolution de la pathologie des mesures pharmacologiques ou non pharmacologiques comme l'exercice physique (Gillette-Guyonnet et al., 2011; Laver et al., 2016).

Ainsi, la société fait face à la MA, un problème majeur de santé publique, démunie d'outil thérapeutique. C'est pourquoi de nombreuses équipes de recherche au niveau mondial travaillent sur cette pathologie neurodégénérative, dans le but de mieux comprendre sa physiopathologie afin de développer de nouvelles cibles et stratégies thérapeutiques. En effet, de nombreuses molécules sont actuellement en essai clinique de phase I, II ou III, comme des agonistes des récepteurs cholinergiques α-7, des antagonistes

des récepteurs sérotoninergiques de type 6, des inhibiteurs des β ou ɣ sécrétases ou encore des vaccins ou immunoglobulines qui ciblent directement le peptide Aβ. Ainsi, dans le cadre du développement de certains composés, l'idalopirdine par exemple, un antagoniste sélectif des récepteurs sérotoninergiques de type 6, a atteint la phase III de développement clinique, alors que celui d'autres composés thérapeutiques comme le vaccin nommé AN-1792, en phase clinique II a été arrêté en 2002 à cause d'effets secondaires graves incluant des méningoencéphalites, et les essais du vaccin CAD 106 ont également été arrêtés à la même phase, malgré une production appropriée d'anticorps, à cause d'une absence de réponse thérapeutique (Godyń et al., 2016).

Dû au nombre important d'échecs en phases cliniques du développement de nouveaux médicaments pour le traitement de la MA, de nombreux travaux sont en cours en vue de développement de nouvelles cibles thérapeutiques. Grâce à une étude bibliographique, nous allons aborder de nouvelles cibles et stratégies thérapeutiques innovantes qui sont étudiées au laboratoire Groupe Mémoire et Plasticité comportementale « GMPc » en collaboration avec le laboratoire Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie « CERMN ».

Résultats et discussion

1. Les nouvelles cibles thérapeutiques

Lorsque l'on écrit le mot clé « Alzheimer's disease » sur le moteur de recherche « NCBI », nous obtenons un résultat de plus de 12000 références. Au-delà des travaux menés sur la physiopathologie de la MA, de nombreux travaux sont également menés sur de nouveaux composés pharmacologiques de synthèse ou phytothérapeutiques. De la même manière, même si de nombreux composés inhibiteurs de l'AChE, à l'instar des médicaments déjà sur le marché, sont encore en développement, des nombreuses cibles thérapeutiques sont étudiées comme les composés modulant le système sérotoninergiques, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, les estrogènes, les agonistes des récepteurs cannabinoïdes, les statines, les antioxydants, les agents chélateurs de métaux ou encore tous les composés qui ciblent le processus amyloïdogénique (Doraiswamy, 2002).

1. Le système sérotoninergique

Parmi ces nouvelles cibles, les modulations positive ou négative des récepteurs sérotoninergiques semblent des voies innovantes très prometteuses. La sérotonine intervient dans différentes fonctions physiologiques comme la thermorégulation, le cycle veille sommeil, l'humeur, la prise alimentaire ou encore les mémoires à long et court terme. La sérotonine est largement distribuée dans l'organisme, elle est retrouvée dans différents types cellulaires comme les plaquettes sanguines, les cellules entérochromaffines de la muqueuse intestinale ou encore dans des neurones. Au niveau cérébral, les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques prennent naissance au niveau du noyau du raphé pour innerver l'ensemble du cerveau (Figure 13Figure 13).

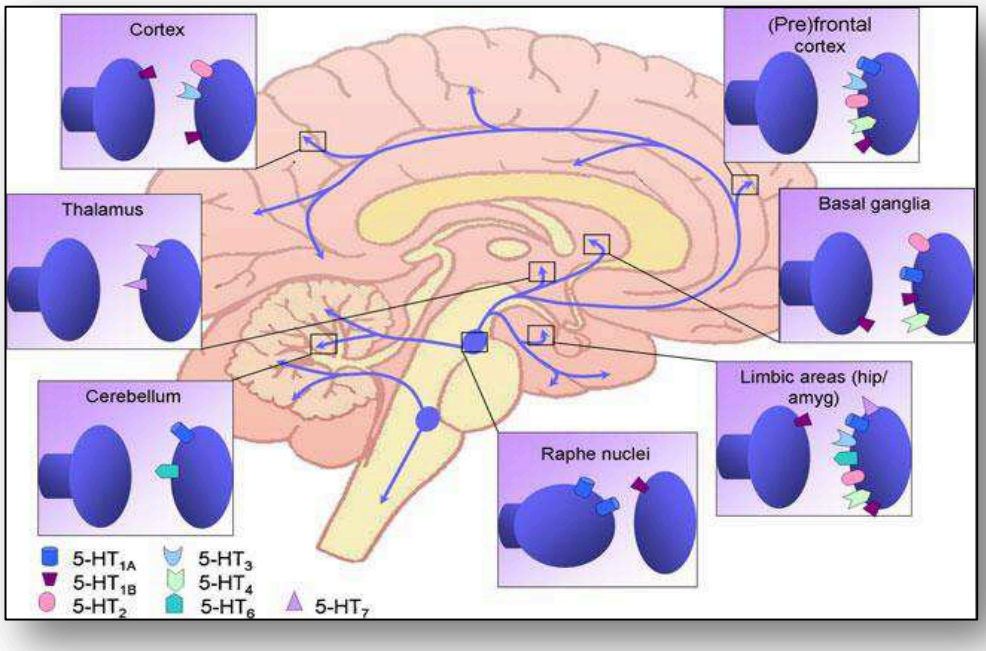


Figure 13 : Illustration de l'innervation et voies sérotoninergiques au niveau du cerveau, avec description de la distribution de ses récepteurs (Visser et al., 2011).

La sérotonine est synthétisée principalement au niveau des terminaisons nerveuses dans le cerveau à partir de son précurseur tryptophane, il est transformé grâce à la tryptophane hydroxylase en 5-hydroxytryptophane, lui-même transformé par une acide aminé décarboxylase en 5-hydroxytyptamine (5-HT) ou sérotonine. Après sa synthèse, la sérotonine est prise en charge par le « Vesicular Monoamine Transporter » pour être stockée dans des vésicules, dont le contenu est libéré dans les fentes synaptiques par exocytose après l'arrivée d'un influx nerveux. Au niveau de la fente synaptique, la sérotonine se fixe sur ses récepteurs pré ou post synaptiques, et peut également être recaptée grâce au « Serotonin Transporteur (SERT) », et se retrouver à nouveau dans la terminaison nerveuse où elle peut-être recyclée dans ses vésicules de stockages, ou être dégradée par l'enzyme monoamine oxydase (MAO) pour générer l'acide 5-hydroxyindole-acétique (5-HIAA), (Figure 14) (Visser et al., 2011).

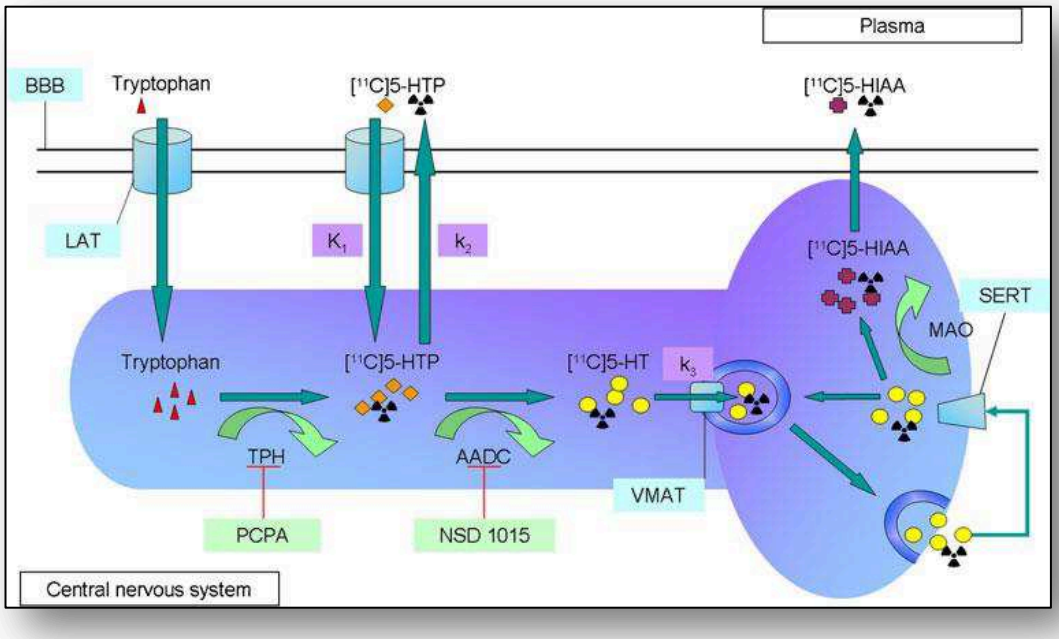


Figure 14 : Métabolisme de la sérotonine (5-HT) au niveau du cerveau (Visser et al., 2011)

BBB : Blood Brain Barrier, LAT : Large Amino acid Transporter, TPH : Tryptophane hydroxylase, 5-HTP : 5-Hydroxy Tryptophane, AADC : Aromatic Amino Acide Decarboxylase, 5-HT : 5-Hydroxy tryptamine, VMAT : Vesicular Monoamine Transporter, MAO : Monoamine Oxydase, SERT : Serotonin transporter, 5-HIAA : 5-Hydroxyindoleacetic acid, PCPA : p-cholorophénylalanine (TPH inhibitor), NSD 1015 : AADC inhibitor.

Concernant les récepteurs sérotoninergiques, du fait de la variété fonctionnelle de la sérotonine, ils sont divisés en 7 familles nommées 5-HT_1 à 5-HT_7 eux-mêmes subdivisés en 14 sous familles. Ces récepteurs sont tous métabotropiques, à 7 domaines transmembranaires couplés à la protéine G (αi, αq ou αs), sauf les récepteurs 5-HT_3 qui sont des récepteurs canaux. Ainsi, les récepteurs 5-HT_1 par exemple, sont couplés à la protéine Gαi, inhibent l'adénylate cyclase et diminuent ainsi la production d'AMPc (Adénosine monophosphate cyclique), les récepteurs 5-HT_2 sont quant à eux couplés à la protéine Gq, ils activent ainsi la phospholipase C et augmentent le taux d'inositol triphosphate, alors que les récepteurs 5-HT_4 et 5-HT_6 sont couplés à la protéine Gs, activent l'adénylate cyclase et augmentent quant à eux la production d'AMPc. La majeure partie des récepteurs sérotoninergiques sont post synaptiques, et les récepteurs 5-HT_{1A} représentent le principal autorécepteur présynaptique qui sert de frein au tonus sérotoninergique (Albert et al., 2011).

Au cours de la MA, les études *post mortem*, montrent une baisse de la concentration de la sérotonine et son métabolite 5-HIAA au niveau cérébral. Il y a également une diminution de la densité des récepteurs sérotoninergiques comme les récepteurs 5-HT_{2A} et 5-HT_6, alors que celle d'autres récepteurs comme les 5-HT_3 restent inchangée (Ramirez et al., 2014). Par ailleurs, le nombre des transporteurs de recapture de la sérotonine SERT, marqueurs de terminaisons nerveuses sérotoninergiques, est diminué au cours de la pathologie (Chen et al., 2011), et une dénervation sérotoninergique du cortex et de l'hippocampe est également constatée. De plus, le déficit sérotoninergique accompagne la MA, et celui-ci est plus prononcé que les déficits des autres systèmes monoaminergiques (Šimić et al., 2016).

De manière intéressante, la modulation des récepteurs sérotoninergiques a démontré des effets bénéfiques sur la mémoire. Ainsi, les antagonistes des récepteurs 5-HT_{1A} par exemple améliorent la mémoire et l'apprentissage chez l'Homme, mais leur développement n'a pas abouti à la mise sur le marché de nouveaux médicaments en raison d'effets secondaires importants. De la même manière, les agonistes partiels des récepteurs 5-HT_4 et les antagonistes des récepteurs 5-HT_6 ont démontré des effets bénéfiques sur la mémoire, et certains composés sont actuellement en développement clinique pour le traitement de la MA. Dans ce rapport, nous allons principalement aborder les effets de modulation des récepteurs 5-HT_4, puis ceux de l'inhibition des récepteurs 5-HT_6.

- **Les récepteurs 5-HT_4**

A la fin des années 80, un nouveau récepteur appartenant à la famille des récepteurs sérotoninergiques a été découvert, sur des neurones d'embryon de souris, et ne correspondait pas aux autres familles (1, 2 et 3) déjà décrites. Ce nouveau récepteur couplé positivement à la protéine Gs, ne répondant pas aux stimulations des agonistes ou

antagonistes des récepteurs déjà connus et activé par des composés de structure benzamidique, a été proposé pour la première fois comme étant le récepteur 5-HT_4 (Bockaert et al., 1990; Dumuis et al., 1988). Il a été mis en évidence un grand nombre de variantes d'épissage du récepteur sérotoninergique 5-HT_4 chez la souris, le rat et l'homme, qui tous diffèrent au niveau de la longueur et la composition de leur extrémité C-terminale, après un site d'épissage commun. Deux variantes du récepteur ont été décrites dans un premier temps nommées S et L pour « short » et « long », retrouvées dans le cerveau de rat, ou ailleurs, comme l'iléon, le colon, la vessie ou encore les oreillettes cardiaques, sans présenter de différence de profil pharmacologique (Gerald et al., 1995). Quelques années plus tard, deux nouvelles variantes ont été décrites, et l'ensemble des quatre variantes sont dites « a, b, e et f » chez la souris, présentant de fortes similitudes avec les variantes décrites chez l'Homme et le rat allant jusqu'à 90%. Cette nouvelle étude a confirmé l'absence de différence de profil pharmacologique quant à l'affinité des récepteurs à leurs ligands (Claeysen et al., 1998). De manière intéressante, cette même équipe a démontré que ces variantes étaient dotées d'une activité intrinsèque constitutive en l'absence d'agoniste endogène, la sérotonine. Cependant les variantes les plus courtes « e et f » montrent une activité intrinsèque plus importante que celle des variantes plus longues « a et b », le fragment C-terminal du récepteur jouant ainsi un rôle inhibiteur sur cette activité. Cependant, une même activité pharmacologique est observée lorsque ces récepteurs sont activés par un agoniste (Claeysen et al., 1999). Chez la souris, et de manière similaire à l'Homme, ces récepteurs ont été retrouvés dans différents organes comme l'intestin, le colon, le cerveau et les oreillettes cardiaques, mais pas au niveau hépatique (Liu et al., 2005). Plus précisément, au niveau cérébral, les récepteurs 5-HT_4 sont présents aux niveaux de différentes structures comme le bulbe olfactif, les ilots de Calleja, les ganglions de la base, le noyau accumbens, l'hippocampe et la substance noire.

Au niveau de la voie nigro-striatale, les 5-HT_4R sont situés sur les corps cellulaires et terminaisons nerveuses des neurones GABAergiques, (GABA : acide ɣ aminobutyrique), concernant le cortex, l'hippocampe et l'amygdale, ces récepteurs sont localisés sur des neurones cholinergiques et glutamatergiques (Peñas-Cazorla and Vilaró, 2015).

Concernant l'activation des récepteurs 5-HT_4, celle-ci s'effectue soit par couplage à la voie Gs/AMPc/PKA (Protéine Kinase A), soit par voie indépendante de la protéine Gs, et qui implique la formation de complexe avec la protéine Src (Proto-oncogène tyrosine protéine kinase) puis induction de signal. La désensibilisation des récepteurs 5-HT_4 peut s'effectuer de deux manières différentes, soit par découplage aux voies de signalisation (Gs ou Src), ou alors, comme de nombreux autres récepteurs, par endocytose. Aucune différence de désensibilisation n'a été constatée selon les différentes variantes (Bockaert et al., 2008).

Au cours de la MA, certains auteurs ont décrit une baisse de la densité des récepteurs 5-HT_4 au niveau cérébral, et ce dans des régions impliquées dans la mémoire comme l'hippocampe et le cortex préfrontal (Wong et al., 1996). De manière intéressante, Madsen et ses collègues ont observé quant à eux, qu'au début de la MA, la densité des récepteurs 5-HT_4 augmentait. Cette augmentation a été mise en lien avec les dépôts amyloïdes, et sa finalité serait de pallier la baisse de concentration de la sérotonine et améliorer les fonctions cognitives. Cependant, cette densité de récepteur diminue aux stades sévères de la pathologie (Madsen et al., 2011).

- **Activation des récepteurs 5-HT_4**

L'activation de ce groupe de récepteurs a démontré des effets très prometteurs dans le cadre de la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques pour la MA. En effet, l'administration de composés agonistes de ces récepteurs améliore la mémoire chez les rongeurs. Lamirault et ses collègues, ont démontré chez des rats âgés, que le RS67333 par

exemple, agoniste partiel des 5-HT_4R, améliore les performances des mémoires de reconnaissances d'objet et de place, mémoires délai dépendante assimilées à la mémoire épisodique chez l'Homme (Lamirault and Simon, 2001). Une équipe italienne a voulu savoir sur quel processus de mémoire agit ce même agoniste, grâce au même test comportemental, ils ont pu affirmer que ce même composé RS67333, agit sur les phases d'acquisitions et de consolidation de la mémoire (Orsetti et al., 2003). En plus de la mémoire de type épisodique, le RS67333 améliore également les performances de mémoire et d'apprentissage spatiaux (Darcet et al., 2016). Il a également été démontré que le SSP-002392 un autre agoniste des 5-HT_4R améliore la latence d'échappement chez les souris dans un test d'évitement passif mettant en jeu la mémoire à long terme ((Lo et al., 2014). De manière intéressante, ces composés agissent également sur la mémoire à court terme, présentant ainsi des effets bénéfiques dans des tests de mémoire de travail. Le composé VRX-0301, également appelé PRX04130, actuellement en essai clinique de phase II pour le traitement de la MA, améliore la mémoire de travail à court terme chez des rats âgés (Mohler et al., 2007). De plus, ces composés sont également capables de contrebalancer les déficits mnésiques induits par la scopolamine, un antagoniste des récepteurs muscariniques de l'acétylcholine. Cette propriété anti-amnésiante a été révélée dans des tests de mémoire de travail à court terme et tests de mémoire de référence spatiale (Cachard-Chastel et al., 2008; Lelong et al., 2003; Shen et al., 2011). Au-delà des modèles pharmacologiques, ces composés ont également démontré des effets bénéfiques sur la mémoire de reconnaissance dans un modèle amyloïdogénique de la MA, les souris 5XFAD (Five Familial Alzheimer's Disease) (Giannoni et al., 2013).

Au niveau neurochimique, Mohler a rapporté dans ses travaux, utilisant la microdialyse *in vivo*, que l'activation des 5-HT_4R augmente la concentration en acétylcholine, principal neurotransmetteur mis en œuvre dans les phénomènes de mémoire, au niveau de

l'hippocampe pendant la phase test de l'animal (test d'alternance spontanée, mémoire de travail, effectué dans un labyrinthe en croix) (Mohler et al., 2007). Une autre équipe américaine, en utilisant la même technique de microdialyse a mis en valeur des effets similaires de deux agonistes partiels des 5-HT_4R, le PRX04130 (testé par Mohler dans son étude) et le prucalopride, au niveau du cortex préfrontal chez le rat (Johnson et al., 2012). Ces résultats sont particulièrement intéressants puisqu'ils font le lien entre les 5-HT_4R et l'acétylcholine, au niveau de régions cérébrales qui jouent des rôles majeurs dans la mémoire, comme l'hippocampe pour la mémoire à long terme et le cortex préfrontal pour la mémoire de travail à court terme. De la même manière, dans l'étude de Madsen où il a été démontré une augmentation de la densité des récepteurs 5-HT_4 au stade initial de la MA, il a également stipulé l'hypothèse que cette augmentation permettrait de contrebalancer les déficits en acétylcholine dans des régions où sont présents les dépôts amyloïdes afin de compenser les déficits cognitifs.

Outre ses effets sur la mémoire, l'activation des récepteurs 5-HT_4 agit également sur le processus amyloïdogénique. En effet, au cours des travaux de Mohler, il a été rapporté que le traitement de lignées cellulaires exprimant les récepteurs 5-HT_4 de manière stable, les cellules CHO (cellules ovariennes de hamster de Chine) et IMR 32 (cellules de neuroblastome d'origine humaine), ou de manière induite par transfection de vecteur contenant le transcrit de récepteurs 5-HT_4, les cellules COS-7 (cellules de singe CV-1 rénales à l'origine, portant le gène SV40, se comportant comme des fibroblastes) par le PRX04130, augmente la sécrétion du peptide sAPPα neuroprotecteur. Cet effet sur l'augmentation de la sécrétion de sAPPα est également constitutionnel, puisque la simple expression de ces récepteurs par des cellules HEK-293 (Cellules de reins embryonnaires humains) ou des neurones corticaux embryonnaires de souris, augmente la sécrétion de sAPPα. De plus, l'activation de ces récepteurs par des agonistes comme le prucalopride, augmente d'avantage la libération de

sAPPα, de manière supérieure à l'augmentation induite de manière constitutionnelle (Cochet et al., 2013; Shen et al., 2011). Au-delà des effets observés *in vitro*, certains auteurs ont testé *in vivo* les effets de ces agonistes dans des modèles animaux, quant à leur capacité à agir sur la cascade amyloïdogénique. Les résultats ont confirmé l'augmentation de la sécrétion de sAPPα après traitement par le RS67333, des souris transgéniques Tg2576, porteuses du gène APP humain muté exprimant le phénotype amyloïde. Cette étude a démontré également l'augmentation des fragments C-terminaux résultant de l'action de l'α sécrétase « CTFα », ainsi que la diminution des plaques séniles au niveau de l'hippocampe (Hashimoto et al., 2012). Une étude similaire a rapporté une augmentation de sAPPα au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal, après traitement par le prucalopride, des souris transgéniques porteuses d'une autre mutation du gène APP humain (Cachard-Chastel et al., 2007). De la même manière, dans une plus récente étude, des souris transgéniques 5XFAD, présentant un phénotype amyloïde plus sévère, ont été traitées par le RS67333 de manière chronique (1 à 3 mois de traitement selon les protocoles), à raison de deux fois par semaine. Il a été prouvé que ce traitement augmente la concentration en sAPPα au niveau de l'hippocampe et du liquide céphalorachidien, et diminue le nombre des plaques séniles ainsi que la concentration des peptides Aβ42 et Aβ40 solubles au niveau cérébral. De plus, ce traitement diminue également l'inflammation astrogliale et microgliale induite par le peptide amyloïde (Giannoni et al., 2013). Ces résultats observés dans les différentes études sont tous liés à l'activation des récepteurs 5-HT_4 puisque l'utilisation d'antagonistes des 5-HT_4R comme le composé RS39604 ou encore le dérivé GR113808 abolissent ces effets bénéfiques.

- **Les récepteurs 5-HT_6**

Parmi ces nouvelles cibles thérapeutiques intéressantes pour le traitement de la MA, la modulation des récepteurs 5-HT_6 (5-HT_6R) semble également être une voie d'intérêt innovante (Quiedeville et al., 2014). Ce groupe de récepteurs couplés positivement à la

protéine G a été découvert pour la première fois dans le cerveau de rat (Monsma et al., 1993; Ruat et al., 1993). Ce récepteur présente la particularité d'être quasi exclusivement localisé au niveau du système nerveux central (Woolley et al., 2004), ce qui lui confère dans le cadre de sa modulation à des fins thérapeutiques l'avantage attendu que cette approche soit quasiment dénué d'effets secondaires périphériques. Grâce à des techniques d'hybridation *in situ* et de RT-PCR quantitative chez le rat, il a été démontré que ce récepteur est fortement exprimé au niveau du striatum, les tubercules olfactifs et le noyau accumbens, et présente une expression modérée au niveau d'autres régions cérébrales comme l'hippocampe, le thalamus, l'amygdale ou encore le cortex cérébral (Hirst et al., 2003; Kinsey et al., 2001; Yoshioka et al., 1998). Plus précisément au niveau neuronal, les 5-HT_6R sont des récepteurs post-synaptiques, principalement localisés sur des neurones glutamatergiques et GABAergiques. De manière intéressante, l'ARNm codant pour ces récepteurs n'est pas exprimé au niveau des neurones cholinergiques, sérotoninergiques ou encore dopaminergiques (Helboe et al., 2015).

Par ailleurs, avec le développement et l'utilisation radiographique de radioligands ([I^{125}]-SB258585) affins et sélectifs pour ce récepteur, il a été démontré chez les patients atteints de la MA, une baisse de liaison aux 5-HT_6R au niveau des cortex frontal et temporal (comparativement à des sujets sains), sans que cette baisse ne soit corrélée au scores MMSE des patients (Garcia-Alloza et al., 2004; Marcos et al., 2008a). Par ailleurs, une étude a montré que l'expression des 5-HT_6R n'est pas modifiée chez le rat âgé (Mitchell et al., 2009).

- **Blocage des récepteurs 5-HT_6**

Les premiers travaux de pharmacochimie visant à mettre au point des ligands affins et sélectifs des récepteurs 5-HT_6 ont permis d'accéder dans un premier temps à des antagonistes. La mise en œuvre de ces antagonistes a permis de montrer que le blocage des

5-HT_6R induisait des effets bénéfiques sur la mémoire chez le rongeur, (Benhamú et al., 2014). Cependant, certains de ces composés n'ont pu atteindre le stade de développement clinique à cause d'un très faible passage de la BHE, par exemple, <1% pour le Ro04-6790, un des premiers antagonistes développés par le laboratoire Roche.

Le blocage des 5-HT_6R, de manière similaire à l'activation des 5-HT_4R, augmente la sécrétion d'ACh aux niveaux de structures cérébrales importantes pour la mémoire comme l'hippocampe, le cortex préfrontal, ou encore le striatum, chez le rongeur (Marcos et al., 2006; Zhang et al., 2007). D'ailleurs, il a été suggéré que cette augmentation de sécrétion d'ACh soit mise en place au niveau cérébral afin de compenser les déficits cholinergiques qui surviennent avec l'âge lors d'apparition des troubles cognitifs, ainsi que dans des situations pathologiques comme la MA. De plus, ce blocage lève l'inhibition des inter-neurones GABAergiques sur les neurones glutamatergiques et augmente ainsi la sécrétion de glutamate dans les mêmes structures cérébrales (Dawson et al., 2000), dans le but de compenser encore les déficits mnésiques liés à l'âge. Par ailleurs, l'activation des 5-HT_6R réduit la potentialisation à long terme (LTP) au niveau du champ CA1 de l'hippocampe. La LTP étant le processus mis en œuvre dans les transmissions synaptiques, à l'origine des phénomènes d'apprentissage et mémorisation, et l'hippocampe une région importante pour la mémoire et particulièrement atteinte dans les pathologies neurodégénératives comme la MA. De manière intéressante, les antagonistes des 5-HT_6R bloquent cet effet, rétablissent ainsi la LTP et par conséquent les phénomènes sous-jacents, soit la mémoire et l'apprentissage (West et al., 2009).

D'un point de vue comportemental, des études ont été menées sur le blocage aigu ou chronique des 5-HT_6R chez les rongeurs. Celles menées dans notre laboratoire (Da Silva Costa et al., 2009, 2011), ont démontré que l'administration aiguë d'un antagoniste des 5-HT_6R (SB271046) contrebalançait les déficits de mémoires de reconnaissances spatiale et non

spatiale, ainsi que la mémoire de travail chez des souris âgées. De la même façon, une étude a démontré une amélioration des performances de mémoire de travail chez le rat (Callaghan et al., 2012) après blocage des 5-HT_6R. D'autres études ont été réalisées en traitements chroniques avec ces antagonistes chez des rats âgés, ont montré une amélioration des performances d'apprentissage spatial et du rappel de la mémoire de référence (Foley et al., 2004) ainsi que de celles de discrimination sociale (Mitchell et al., 2006).

Au-delà de la mise en évidence des effets bénéfiques des antagonistes des 5-HT_6R sur des animaux âgés, le recours aux modèles pharmacologiques a été entrepris par de nombreuses équipes de recherche. Ainsi, les antagonistes SB357134 et SB399885 améliorent l'apprentissage dans une tâche de conditionnement opérant après administration de scopolamine, ou de MK-801, un antagoniste non compétitif des récepteurs glutamatergiques NMDA (Perez-García and Meneses, 2005). De la même manière, ce déficit est contrebalancé par le SB271046 dans une tâche de mémoire de travail après induction de déficit cholinergique (Da Silva Costa-Aze et al., 2012). Des antagonistes développés par le laboratoire GSK ont également réussi à contrebalancer le déficit induit par la scopolamine dans un test de reconnaissance d'objet (de Bruin et al., 2011). Dans un test de mémoire de référence, la piscine de Morris, le composé SB271046 administré de manière aiguë a quant à lui contrebalancé le déficit mnésique induit par le MK-801 (Marcos et al., 2008b). Ce dernier a également démontré une abolition totale des déficits induits par un hypofonctionnement cholinergique, dans un test de mémoire de référence spatiale réalisé en piscine de Morris.

Par ailleurs, les effets des agonistes des 5-HT_6R ont également été évalués. Contre toute attente, et en parallèle à l'effet bénéfique des antagonistes des 5-HT_6R, la modulation positive de ces récepteurs n'a pas démontré que des effets délétères sur les performances de mémoire chez le rongeur. L'EMD-386088 par exemple, altère l'apprentissage dans un test de conditionnement chez le rat (Meneses et al., 2008), il n'a pas d'effet sur la mémoire à long

terme basée sur un conditionnement aversif lorsque le déficit de mémoire est induit spontanément par le temps, mais améliore les performances de cette même mémoire lorsque le déficit mnésique est induit par la scopolamine, ou le MK801, un antagoniste des récepteurs glutamatergiques (Woods et al., 2012). Une autre étude menée par (Kendall et al., 2011) a montré que ce même agoniste EMD-386088 et le composé E-6801, améliorent les performances de mémoire de reconnaissance, après un délai induisant un déficit de mémoire et contrebalancent les déficits de mémoire lorsque ceux-ci sont induits par la scopolamine.

Ces effets divergents peuvent reposer sur la différence des structures mises en jeu lors des différents tests de mémoire, comme la mémoire de reconnaissance qui est principalement supportée par l'hippocampe. Il se pourrait également que les réseaux neuronaux requis lors de modulation positive ou négative de ce récepteur soient différents, ce qui pourrait expliquer que l'activation ou le blocage d'un même récepteur aboutissent au même résultat. Par ailleurs, la notion d' « agonisme biaisé » a été introduite et pourrait également être à l'origine de cette divergence d'effet encore non élucidée. Cette notion est également connue comme une sélectivité fonctionnelle, où un agoniste stabiliserait préférentiellement une des conformations actives de son récepteur couplé à une protéine G, induisant ainsi à l'activation d'un signal spécifique dû à ce couplage (Vaidehi and Kenakin, 2010). Ainsi, selon les structures ciblées par l'agoniste biaisé, la signalisation intracellulaire engendrée, et par conséquent, les effets comportementaux, seront différents. Ce concept d'antagoniste biaisé prend de plus en plus d'ampleur dans le domaine de la recherche, il a déjà été décrit sur les ligands des récepteurs opioïdergiques et adrénergiques (Dogra and Yadav, 2015; Woo et al., 2015), et pourrait être à l'origine d'avancées importantes pour le traitement de différentes pathologies.

2. Nouvelle Stratégie thérapeutique

Actuellement, les traitements disponibles sur le marché pour la MA ne présentent que de modestes effets symptomatiques, et ne font que retarder l'évolution de la maladie. Les nouvelles thérapeutiques en développement passent avec succès les étapes de recherche préclinique, mais échouent dans les phases d'essais cliniques, à cause d'effets secondaires ou de manque d'efficacité thérapeutique (Godyń et al., 2016). Il paraît donc évident que l'action sur une seule cible thérapeutique pour agir sur la physiopathologie de la MA ne suffit pas pour contrer cette maladie. Dans le but d'améliorer l'état des patients, certaines études ont évalué l'efficacité d'une combinaison des traitements disponibles, soit la mémantine avec le donepezil ou les autres IAChE. Les résultats de ces combinaisons thérapeutiques agissant principalement sur les composantes symptomatiques de la MA ont démontré au plus une équivalence thérapeutique comparée à celles obtenues après leurs administrations seuls, et ces études n'ont pu apporter des preuves évidentes en faveur de ces associations (Matsuzono et al., 2015; Molino et al., 2013; Tariot et al., 2004). Face à ces échecs thérapeutiques, une nouvelle stratégie a émergé dans le but de contrer la MA, et consiste à agir à la fois sur les déficits cliniques, à l'image des traitements déjà sur le marché, tout en ayant des propriétés dites « disease modifyer », c'est-à-dire, qui agissent sur la physiopathologie de la maladie.

De ce fait, les chercheurs, ont testé des combinaisons thérapeutiques dans le but de trouver le meilleur paradigme pour le traitement de la MA. Des équipes françaises ont associé deux composés plus largement utilisés dans le sevrage alcoolique, l'acomprosate, qui influence la transmission glutamatergique, et le baclofène, un agoniste des récepteurs du $GABA_B$ inhibiteurs du SNC. Cette association a démontré un effet synergique neuroprotecteur, à des doses subactives, contre la toxicité induite par Aβ, sur une culture de

neurones corticaux de rats et des cellules endothéliales de micro-vaisseaux dérivés de l'Homme (Chumakov et al., 2015). Cette association a également contrebalancé le stress oxydant et l'apoptose liés aux mitochondries observés dans la MA. De la même manière, les troubles mnésiques liés à Aβ dans la MA, chez la souris, ont été rétablis dans des tests de mémoire de référence spatiale, de reconnaissance d'objet, de mémoire à court terme et d'évitement passif, mémoire émotive. Une autre équipe française a également démontré une protection synergique de la mémantine combinée à la vitamine D contre la toxicité induite par le glutamate ou Aβ sur les axones, dans une culture de neurones corticaux de souris (Annweiler et al., 2014). De la même manière, les IAChE sont utilisés en association avec les agonistes des 5-HT_4R. En 2007, Mohler avait déjà démontré, un effet synergique de l'association de galanthamine avec le VRX-03011 administrés à doses subactives chez le rats dans un test de mémoire de travail retardée chez le rat (Mohler et al., 2007). Cachard-Chastel a réussi à reproduire l'effet synergique chez des souris lors d'un test d'apprentissage spatial, par co-administration de donepezil avec le prucalopride (un agoniste partiel des 5-HT_4R) à doses subactives (Cachard-Chastel et al., 2008). Cette association a présenté un tel intérêt, qu'elle a été investie sur la mémoire de reconnaissance d'objet, au sein du laboratoire GMPc, et a démontré un effet synergique lors de la combinaison du donepezil avec le composé RS67333, également administrés à doses subactives (Freret et al., 2012). Au-delà de ces effets bénéfiques démontrés sur différents types de mémoires, un équipe de recherche du premier laboratoire mondial de médicaments Pfizer a démontré que les associations de donepezil avec le prucalopride ou le VRX-03011 présentent un effet synergique sur l'augmentation du taux d'ACh au niveau du cortex préfrontal chez le rat (Johnson et al., 2012). En effet, on peut postuler l'hypothèse que cet effet synergique soit lié aux agonistes des 5-HT_4R qui augmentent la sécrétion de l'ACh au niveau des fentes synaptiques, et la présence d'IAChE qui empêche leur dégradation.

Cependant, une équipe américaine n'a pas réussi à démontrer une efficacité supérieure de la combinaison du scyllo-inositol, un modulateur d'Aβ, et du flurbiprofène, un anti-inflammatoire non stéroïdien. En effet, le scyllo-inositol seul a montré des effets bénéfiques supérieurs sur l'apprentissage spatial, et la réduction des plaques d'Aβ comparé à son association avec le flurbiprofène, chez des souris 5XFAD, modèle amyloïdogénique de la MA, après un mois de traitement (Aytan et al., 2013). Cette dernière étude mentionnée comparée aux précédentes démontre bien l'importance de l'effet synergique dans une association de médicaments dans le but de traiter la MA.

Par ailleurs, l'un des moyens de réaliser cette association de médicaments est le recours à des composés récemment développés appelés MTDL « Multi Target Directed Ligands », soit des composés qui agissent sur différentes cibles pharmacologiques en même temps. Les avantages de l'utilisation d'un même composé agissant sur plusieurs cibles en même temps sont triples : le choix de cibles à synergie d'action, et de ce fait l'utilisation de faibles doses réduisant ainsi les effets indésirables, l'utilisation d'une seule molécule, et évitement donc des interactions métaboliques, enfin, l'ergonomie de prise, puisqu'un seul comprimé suffirait pour des patients qui sont déjà souvent sous poly-médication. Dans le cadre du développement d'une telle stratégie, les chercheurs se retrouvent dans le processus de développement d'un nouveau médicament afin de le mettre sur le marché à disposition des patients.

3. Rappel sur le développement d'un médicament

1. *La phase exploratoire*

Lors du développement d'un médicament, la première étape consiste à sélectionner une cible thérapeutique, et des milliers de molécules sont alors criblées (Figure 15) dans des chimiothèques de laboratoires publiques ou privés. Ces molécules sont étudiées par des

moyens informatiques, afin d'en sélectionner les plus pertinentes pour la pathologie. Des études de « docking » et structures cristallographiques, par exemple peuvent être réalisées afin d'évaluer le meilleur rapport entre molécules et structures protéiques, et renseignent ainsi par exemple les énergies de liaisons, ou encore les types de liaisons (hydrogène, covalente, ou de type Van Der Waals) mises en place entre les molécules et leurs cibles. De cette manière, les études de liaisons permettent également de faire le point sur les groupements fonctionnels qui interagiraient de manière optimale avec la cible et orientent ainsi les chimistes dans l'optimisation des structures des potentiels futurs médicaments.

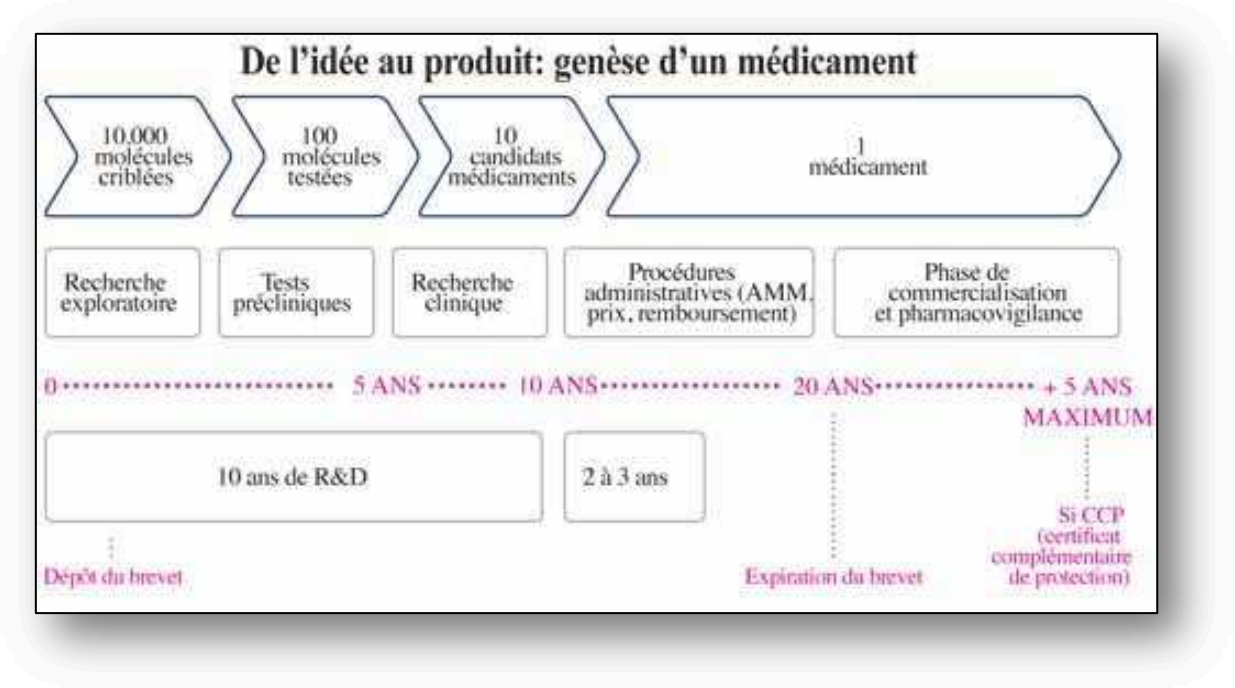


Figure 15 : Illustration du développement préclinique d'un médicament (www.leconomiste.com).

2. *La phase pré-clinique*

Quelques molécules (environ une centaine) sont sélectionnées afin de réaliser des tests rapides de screening *in vitro* qui évaluent des propriétés souhaitées des molécules, et la demande de brevet peut être effectuée. Ces tests sont généralement des tests simples et réalisables en grandes séries sur des automates, afin d'avoir les résultats dans de brefs délais, et peuvent également être réalisés et/ou complétés par des tests sur culture cellulaire. Un

plus faible nombre de molécules sont sélectionnés encore afin d'évaluer leurs interactions dans un organisme vivant, à ce stades des tests *in vivo* sont réalisés. Ces tests permettent de mesurer différents paramètres, comme la pharmacologie, la toxicologie ou encore la pharmacocinétique, etc. Les tests réalisés *in vivo* sont effectués sur au moins deux espèces différentes dont une espèce non-rongeur.

3. *La phase clinique*

A l'aboutissement de ces tests, une dizaine de candidats médicaments sont sélectionnés afin de réaliser les tests cliniques chez l'Homme dans le but de devenir un médicament. La recherche clinique est segmentée en quatre phases.

- **La phase I**

Elle est réalisée sur un petit nombre de sujets sains et évalue la tolérance et pharmacocinétique de doses uniques ou répétées.

- **La phase II**

Elle est scindée en deux phases : IIa qui évalue l'efficacité d'un produit chez un nombre restreint de malades, et décide donc de continuer ou pas les recherches cliniques, et IIb qui permet de déterminer la dose optimale (dose la plus efficace pour le moins d'effets indésirables), et continue d'évaluer la tolérance au produit (effets secondaires).

- **La phase III**

Elle permet d'évaluer le médicament à échelle presque réelle de son utilisation, et est réalisée sur des échantillons allant de centaines à quelques milliers de patients. Elle permet de tester l'efficacité et tolérance du produit dans les vraies conditions de prescription, et définit le rapport bénéfice/risque, avec établissement des précautions d'emploi. A cette étape, une demande d'autorisation de mise sur le marché peut-être demandée aux autorités

de santé.

- **La phase IV**

Elle est réalisée après la mise sur le marché, qui évalue l'efficacité et tolérance sur des sous-groupes de patients non évalués durant la phase III, ainsi que des comparaisons à des produits de référence. Cette étape est effectuée en parallèle des suivis de sécurité de pharmacovigilance.

4. Les MTDLs

La synthèse de MTDLs représente un enjeu majeur dans le cadre du développement de nouvelles thérapeutiques pour le traitement de la MA. Les laboratoires de chimie (de synthèse ou médicinale) multiplient leurs efforts afin de mettre à disposition des nouvelles molécules capables de cibler plusieurs sites thérapeutiques différents à la fois. Au-delà du challenge multi-cibles, les molécules synthétisées doivent également présenter d'autres propriétés qui répondent aux exigences de la pathologie, comme la taille de la molécule, qui doit être petite afin de permettre son passage à travers la BHE, et éviter les protéines d'efflux, ce qui garantirait une biodisponibilité cérébrale suffisante pour l'action de la molécule. De la même manière, ces molécules doivent présenter de bonnes propriétés galéniques afin de faciliter la mise en forme médicale, comme la solubilité dans l'eau et/ou d'autres solvants, ou encore la résistance au suc gastrique, etc.

Dans le but de synthétiser de telles molécules, les laboratoires recourent à différentes méthodes, comme la fusion de deux molécules ayant déjà des propriétés thérapeutiques. Par exemple, (Luo et al., 2013) ont fusionné le donepezil avec l'ebselen et ont réussi à synthétiser un composé à la fois inhibiteur de l'AChE et antioxydant (Figure 16).

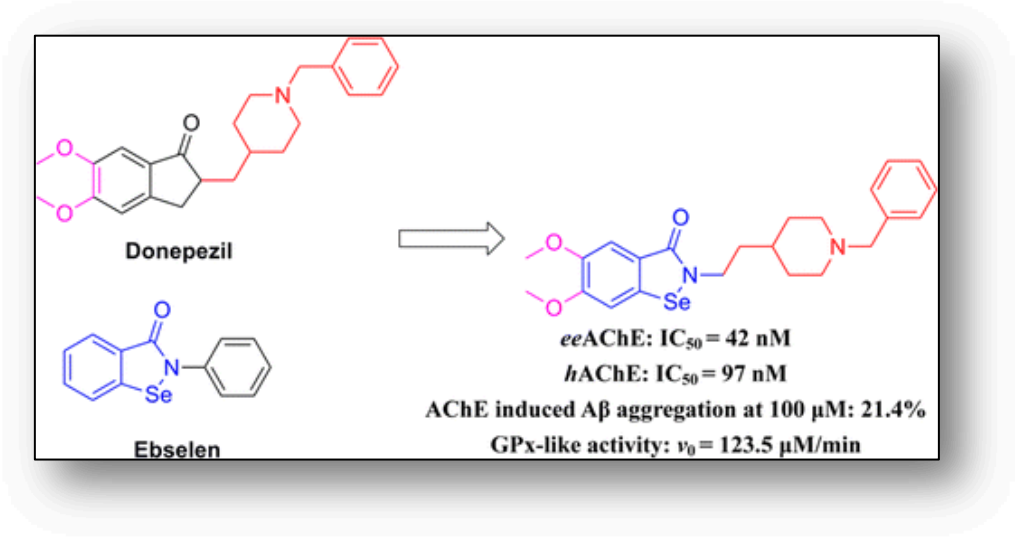


Figure 16 : Structures chimiques des composés : donepezil, ebselen et le produit de leur association (Luo et al., 2013).

De la même manière, l'équipe de Rizzo (Rizzo et al., 2012) a quant à elle synthétisé par condensation de trois molécules, un ensemble de molécules à la fois capables d'inhiber l'AChE, d'inhiber l'agrégation amyloïde et d'activer les récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2. Ce dernier groupe de molécule présente des propriétés neuroprotectrices contre le peptide amyloïde, IAChE et également antioxydant.

1. *Le donecopride*

- **Synthèse et évaluation *in vitro***

Un pharmacophore peut-être également utilisé comme modèle, et suite à des modifications moléculaires basées sur les études de docking et de cristallographie, on peut ainsi aboutir à des composés multi-cibles (Belluti et al., 2014; Zhu et al., 2009). C'est ainsi que le laboratoire CERMN (Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie) à Caen s'est basé sur les agonistes des 5-HT_4R qui présentent déjà de faibles propriétés inhibitrices de l'AChE humaine (RS67333 : IC50 =403nM, et RS67506 : IC50=211nM) pour synthétiser des composés à la fois agonistes partiels des récepteurs 5-HT_4

et inhibiteurs de l'AChE (Lecoutey et al., 2014), dont le chef de fil a été nommé « donecopride » (Figure 17).

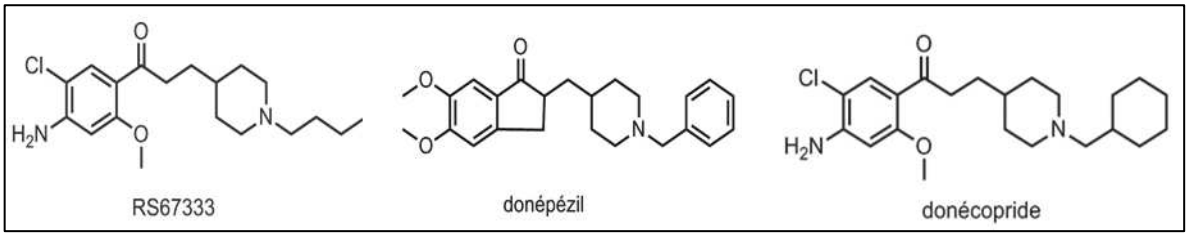


Figure 17 : Structures des molécules : RS67333, donepezil et donecopride.

En effet, les études menées sur le donecopride ont démontré qu'il est bien à la fois inhibiteur de l'AChE et agoniste partiel des 5-HT_4R. L'activité inhibitrice de l'AChE, au niveau de son site catalytique, a été démontré, sur l'AChE humaine, être de même ordre que celle du médicament donepezil, chef de file des IAChE disponibles sur le marché pour le traitement de la MA (Tableau 2).

	(*h*)AChE IC_{50} (nM)	(*eq*)BuChE IC_{50} (nM)	Propidium iodide displacement percent inhibition at 10^{-5} M
Donecopride	**16 ± 5 (*n* = 2)**	**3 530 ± 50 (*n* = 2)**	**24 ± 2 (*n* = 2)**
Donepezil	**6 ± 0.6 (*n* = 5)**	**7 000 (30)**	**21.5 ± 1.5 (*n* = 2)**

Tableau 2 : Propriétés du donecopride quant à son activité inhibitrice des ChE comparée au donepezil (médicament référence) (Lecoutey et al., 2014).

Par ailleurs, le donecopride montre une sélectivité importante vis-à-vis de l'enzyme BuChE équine, majoritairement localisée au niveau périphérique et responsable d'effets secondaires. En plus de son action sur le site catalytique de l'AChE, responsable de la dégradation de l'ACh, le donecopride inhibe également le site périphérique de l'AChE, évalué dans le (Tableau 2) par sa capacité de déplacement de l'iodide de propidium, ce qui confère à ce MTDL une propriété d'inhibiteur compétitif mixte de l'AChE. En effet, le site

périphérique anionique de l'AChE, dont le rôle dans la physiopathologie de la MA n'est pas clairement établi, présente des effets neurotoxiques par accélération de la formation de fibrilles amyloïdes et potentialisation de sa toxicité, alors que cet effet n'est pas retrouvé avec la BuChE (Carvajal and Inestrosa, 2011). C'est pourquoi aussi, au cours des synthèses de MTDL inhibiteurs de l'AChE, l'inhibition du site périphérique de cette enzyme représente un enjeu aussi important que l'inhibition de son site catalytique (Liu et al., 2013; Luo et al., 2013; Mishra et al., 2013). Quant à son effet sur les récepteurs sérotoninergiques, le donecopride est un agoniste partiel des 5-HT_4R, puisqu'il stimule la sécrétion d'AMPc dans le modèle de cellules COS-7 et que l'amplitude de son effet correspond à 48% (Ki : 8,5 nM) de celui de la sérotonine, agoniste endogène et dont l'activité est celle d'un agoniste total ou entier (Figure 18). A noter que le composé utilisé ici comme référence RS67333, également agoniste partiel a une efficacité comparée à celle de la sérotonine très proche de celle du donécopride (49% (Ki : 13 nM).

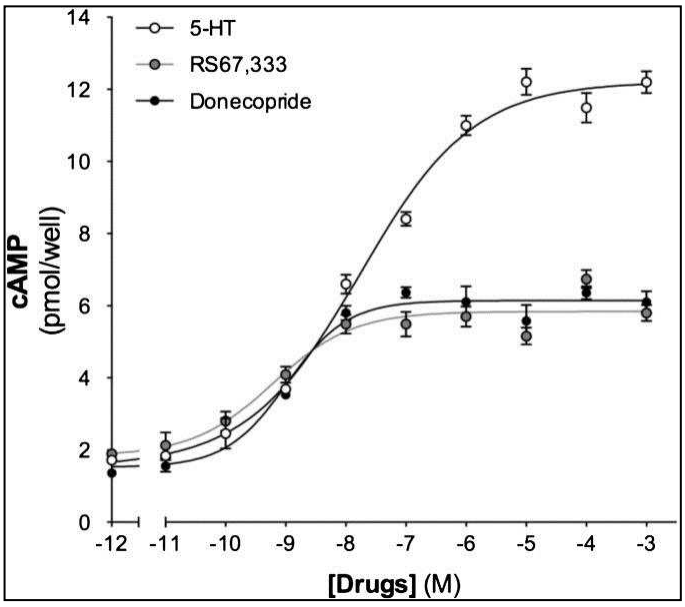


Figure 18 : Les composés RS 67333 et le donécopride sont des agonistes partiels des 5-HT_4R (Lecoutey et al., 2014).

Il est également à souligner un point important dans le développement d'agonistes

des récepteurs 5-HT_4 en tant qu'agents thérapeutiques, qui concerne l'avantage théorique à cibler des agonistes partiels plutôt que des agonistes entiers. En effet, il a été démontré que l'activation prolongée d'un récepteur par un agoniste total induit à terme une désensibilisation de ce récepteur et de ce fait, une perte des effets liés à l'activation de ce dernier. Le donecopride promeut également, à l'instar des agonistes des 5-HT_4R déjà décrits, la sécrétion du neuropeptide protecteur sAPPα, chez les cellules COS-7 qui expriment les 5-HT_4R de façon transitoire (EC_{50} : 11nM, vs EC_{50} : 27 nM pour le RS67333). En terme de propriétés physicochimiques pour la mise en forme de médicaments, le sel de fumarate de donecopride présente une bonne solubilité thermodynamique dans l'eau (0,9 µM), mais aussi à pH physiologique 7,4 (18,2 µM) et à pH intestinal (0,7 µM).

Le cerveau est l'organe cible de la MA, et les composés développés dans le but de traiter des maladies qui affectent cet organe doivent répondre à une caractéristique très importante qui consiste à traverser la BHE. Cette barrière est constituée principalement de cellules endothéliales liées entre elles par des jonctions serrées. Elle sert à séparer les compartiments sanguin et cérébral, et contrôler étroitement les échanges entre eux. Ainsi, seules les molécules de petites tailles, ou substrats de protéines d'influx, présentes au niveau des cellules endothéliales, passent à travers la BHE. Pour évaluer la capacité d'un futur médicament à traverser la BHE, les premiers tests évaluent sa capacité à passer à travers une membrane artificielle, par un mécanisme passif, constituée d'une bicouche de phsopholipides solubilisés dans un solvant organique, imitant ainsi le passage passif à travers les phospholipides des cellules endothéliales qui forment la BHE. Le fumarate de donecopride présente une bonne perméabilité de membrane artificielle (Log P_e : -4.43, une bonne perméabilité de cette membrane est représentée par des valeurs comprises entre -4 et -5). De manière intéressante, ce résultat a été reproduit sur des cellules endothéliales de capillaires de cerveau de bovins, et sur des cellules gliales de rats. De plus, le donecopride ne

semble pas être substrat de la protéine P-gp, responsable d'efflux de plusieurs molécules et médicaments. Enfin, les tests de toxicité n'ont pas montré d'effets mutagène et cytotoxique, et le donecopride ne présente pas une forte affinité au canal potassique cardiaque codé par le gène hERG (human ether-à-go-go related gene), responsable d'arythmies.

- **Evaluation *in vivo***

a. Screening pharmacologique

Par ailleurs, les effets du donecopride ont été évalués *in vivo* chez la souris au sein du laboratoire GMPc. Comme pour tous médicaments en voie de développement, le premier stade de l'étude pharmacologique *in vivo* consiste à étudier les effets d'une nouvelle substance et ses interactions dans un organisme vivant. La première étape consiste en un screening pharmacologique, effectué sur des petits groupes de quatre animaux, et trois doses (1, 10 et 100 mg/kg) sont testées en comparaison à des médicaments qui servent de références pharmacologiques. Ce test a été développé en 1971 (Morpurgo, 1971), et repose sur des observations rapides des souris sur une plaque en polyester blanche, 30 minutes, 3 et 24 heures après traitement. Les animaux utilisés dans ce test étaient des souris NMRI, non consanguine couramment utilisées pour des tests comportementaux. Les références pharmacologiques utilisées sont : le sérum physiologique pour le groupe contrôle, l'amphétamine comme substance psychostimulante, la chlorpromazine comme substance induisant la dépression du SNC. Comparé à nos groupes références, le donecopride ne modifie pas l'activité des souris aux doses de 1 et 10 mg/kg, puisque ces groupes d'animaux présentaient un profil similaire aux contrôles aux trois moments d'observations, néanmoins, les souris traitées avec le donecopride à la dose de 100 mg/kg présentaient une hypoactivité, passivité, relaxation, ptosis et tremblement 30 minutes après traitement, et une souris est morte 10 minutes après traitement suite à des convulsions. On a de ce fait estimé la dose

létale 50 approximative « DL_{50} » (dose qui induit la mort chez 50 % des animaux), à 75 mg/kg pour le donecopride.

b. Activité locomotrice

Ainsi, nous avons décidé de tester le donecopride aux doses qui n'affectent pas l'activité des souris. Etant donné que les tests mnésiques sont basés sur l'activité locomotrice des animaux, il était important de vérifier que le donecopride n'affectait pas cette activité au moment du test. C'est pourquoi nous avons décidé de tester ce nouveau composé à trois doses encore (0,1, 1 et 10 mg/kg) dans un test d'actimètrie. Ce test est effectué dans un actimètre, où les souris sont mises dans des cages transparentes, et leurs mouvements horizontaux et verticaux sont comptés de manière indirecte en mesurant le nombre d'interruptions de rayons infrarouge. Pour ce test, des effectifs de 10 animaux par groupe ont été réalisés. Les traitements étaient administrés 30 minutes avant la mise des souris dans l'actimètre, comme ce sera le cas pour les tests comportementaux mnésiques. De la même manière que pour le screening pharmacologique, les groupes références ont également été utilisés afin de caractériser l'activité du donecopride (amphétamine, chlorpromazine). Ce test a démontré que le donecopride ne modifie pas l'activité des souris aux trois doses de 0,1, 1 et 10 mg/kg. La référence mnésique utilisée, l'association des deux composés donepezil et RS67333 aux doses subactives 0,3 et 0,1 mg/kg, respectivement, qui a précédemment démontré un effet synergique dans un test de reconnaissance d'objet, a présenté également un profil d'activité similaire au groupe contrôle traité par NaCl 0,9%, et les groupes de souris traitées par le donecopride 0,1, 1 et 10 mg/kg (Figure 19). Ainsi, l'analyse de l'activité des souris a conforté les résultats du screening pharmacologique obtenus aux doses inférieures à 10 mg/kg.

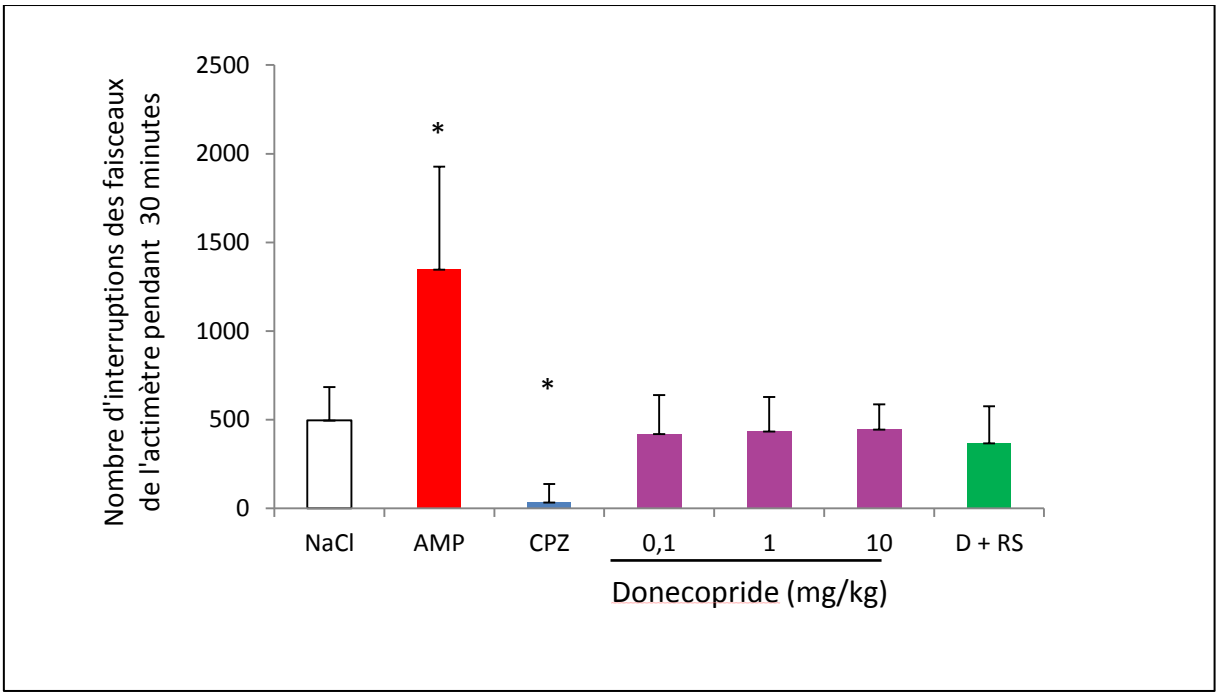


Figure 19 : Actimètrie : Somme des interruptions des faisceaux dans l'actimètre en activité horizontale pendant 30 minutes.

Les résultats sont présentés en valeurs moyennes ± écarts types. AMP : amphétamine 5 mg/kg, CPZ : chlorpromazine 10 mg/kg, D + RS : Donepezil 0,3 mg/kg + RS67333 0,1 mg/kg. n= 9 à 10 / groupe, AN OVA puis SNK, * : p<0,0001 vs NaCl (NaCl 0,9%).

c. Evaluation du profil anxiogénique

Nous avons également souhaité savoir si le donecopride pouvait induire un effet anxiogène chez les souris, qui pourrait également biaiser l'analyse des résultats des tests comportementaux mnésiques. C'est pourquoi nous avons mis en œuvre le test de la boîte noire et blanche, basé sur la tendance des rongeurs à explorer les environnements nouveaux, et leur aversion pour la lumière, étant donné que ce sont des animaux nocturnes (Costall et al., 1989). Ce test est effectué dans un appareil constitué d'un grand compartiment blanc (28*27*27 cm), éclairé par une lumière blanche, dont l'intensité est d'environ 1700 Lux, et un plus petit compartiment noir (17*27*27 cm) éclairé par une lumière rouge dont l'intensité lumineuse est de 340 Lux. Les animaux présentant un comportement de type « anxieux » passent moins de temps dans le compartiment blanc. Cette fois, le traitement de référence anxiolytique utilisé était le diazépam, une benzodiazépine, à la dose de 1 mg/kg, et l'amphétamine servait de référence induisant un

comportement de type anxieux.

Ce test n'a pas montré de diminution du temps passé dans le compartiment blanc chez les animaux traités par le donecopride aux trois doses utilisées.

d. Test de mémoire de reconnaissance

Après avoir vérifié que le donecopride n'affectait pas l'activité locomotrice des animaux, et n'induisait pas de comportement de type anxieux, nous avons voulu étudier les effets du donecopride sur différents types de mémoire atteintes dans la MA. Le déficit de mémoire qui est le principal symptôme de la MA peut-être induit chez les animaux par différents moyens :

- Un déficit de mémoire induit par le temps : les animaux effectuent des tests en plusieurs sessions espacées d'un temps au bout du quel survient l' oubli (Da Silva Costa et al., 2009)
- Un déficit de mémoire induit par un agent pharmacologique : les substances anti-cholinergiques comme la scopolamine sont généralement utilisées dans ce cas chez l'animal (Klinkenberg and Blokland, 2010), et aussi chez l'humain (Sambeth et al., 2015).
- Un déficit de mémoire induit génétiquement : les animaux transgéniques modèles de la MA sont de plus en plus utilisés afin de comprendre la physiopathologie de la maladie et développer de nouveaux traitements, comme le modèle amyloïdogénique 5XFAD (Giannoni et al., 2013; Oakley et al., 2006).

Dans un premier temps, l'effet du donecopride a été évalué dans un test de mémoire de reconnaissance d'objet à long terme. En effet, le test était réalisé en deux sessions. Au cours de la première, une souris est placée dans un champ ouvert sans plafond avec deux objets identiques à explorer, c'est la phase d'acquisition. Soixante douze heures plus tard, la

même souris est replacée dans le même champ avec deux objets, dont l'un est identique à ceux précédemment explorés, dit familier, et un nouvel objet, c'est la phase de rappel ou de rétention. Ainsi, les souris présentant un déficit de mémoire explorent de la même manière les deux objets familier et nouveau, alors que les souris qui présentent de bonnes performances de mémoire, passent plus de temps à explorer l'objet nouveau à la phase de rétention.

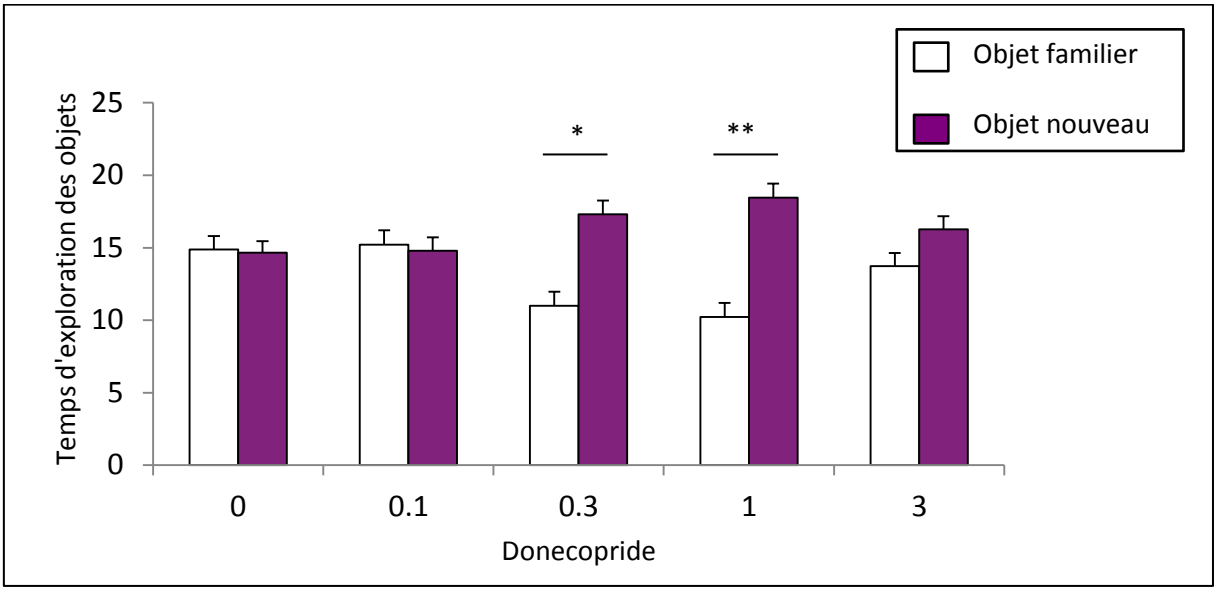


Figure 20 : Test de reconnaissance d'objet : temps d'exploration des objets nouveaux et familiers, en fonction des différentes doses de donecopride.

Les résultats sont présentés en valeurs moyennes ± écarts types à la moyenne. n=9 à12 / groupe. (ANOVA puis SNK, *p<0.05, **p<0.01).

La Figure 20 montre les résultats du test de reconnaissance d'objet. Le groupe contrôle a reçu du NaCl 0,9%, qui est le solvant dans lequel est dissout le donecopride quand il est administré aux autres groupes de traitements, et nous voyons que les souris de ce groupent explorent autant l'objet familier que l'objet nouveau, ce qui signifie qu'elles n'ont pas de bonnes performances de mémoire. Les souris traitées par le donecopride aux doses de 0,1 et 3 mg/kg ont démontré les mêmes performances que les souris contrôles. Cependant, les groupes de souris traitées au donecopride aux doses de 0,3 et 1 mg/kg ont

d'avantage exploré l'objet nouveau comparé à l'objet familier, le donecopride a donc amélioré les performances mnésiques des souris, ce qui leur a permis de garder une trace mnésique de la phase d'acquisition (Lecoutey et al., 2014). Administré 30 minutes avant le test de mémoire donecopride améliore l'acquisition, et il serait intéressant d'évaluer les effets du donecopride sur les autres phases de constitution de la mémoire à long terme, soit la consolidation et la rétention.

e. Test de mémoire de travail

Par ailleurs, nous avons étudié l'impact du donecopride sur les performances de mémoire de travail qui est également atteinte au cours de la MA. Pour ce, nous avons réalisé le test d'alternance spontanée effectué dans un labyrinthe en Y, où nous avons induit un déficit mnésique par administration de scopolamine. Dans ce test, en plus du donecopride, nous avons également testé l'association des deux composés donepezil et RS67333 à dose subactive. Ainsi, le test a été réalisé dans un labyrinthe en Y, formé de trois bras identiques que l'animal explore librement. Les performances de mémoire sont évaluées par le pourcentage d'alternance des animaux au sein du labyrinthe, et une alternance est considérée comme la visite consécutive des trois bras de l'appareil. La séquence des visite des bras du labyrinthe est notée par l'expérimentateur lors de l'expérience, puis le nombre d'alternances est calculé, et le nombre d'alternance maximum est le nombre d'entrée moins 2. Le pourcentage d'alternances est calculé grâce à la formule suivante :

$$\% \text{ Alternances} = \left(\frac{\text{nombre d'alternances}}{\text{nombre d'alternances maximum}}\right) \text{x } 100$$

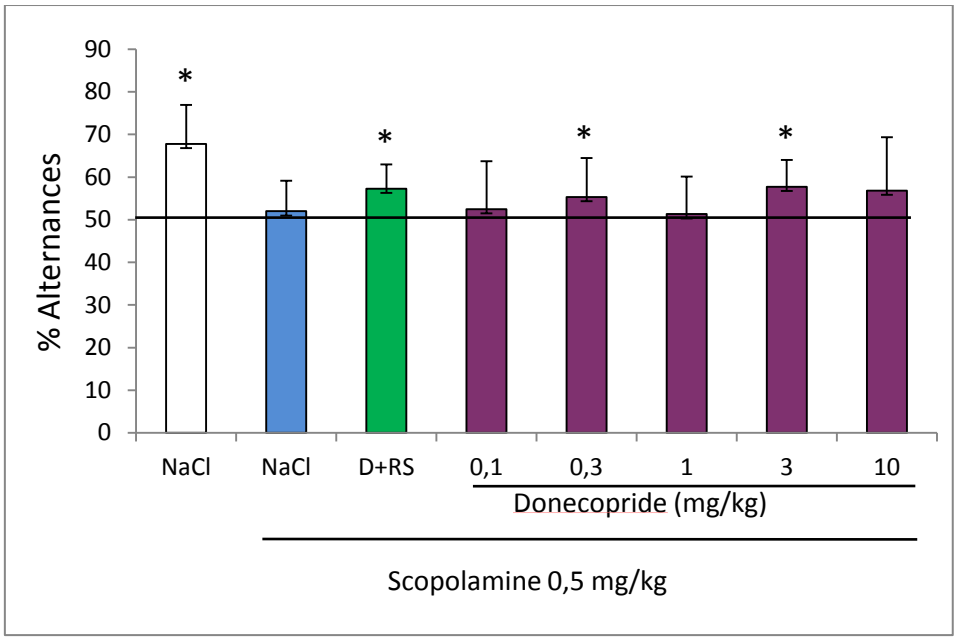


Figure 21 : Alternance spontanée : Pourcentage d'alternance dans le labyrinthe en fonction des différents traitements.

Les résultats sont présentés en valeurs moyennes ± écarts types. n=10-12, D+RS: Donepezil 0.3 mg/kg + RS67333 0.1 mg/kg, t-Student : *p<0.05 vs 50%.

Dans ce test, nous avons comparé les moyennes des pourcentages d'alternances des animaux à la valeur 50% qui représente le « niveau d'exploration au hasard du dispositif ». Ainsi, un groupe de souris qui alternent à un niveau non différent de 50% ne présente pas de bonnes performances de mémoire de travail, alors que les souris qui ont un pourcentage d'alternances significativement supérieur à 50%, montrent de bonnes performances de mémoire de travail. Les souris contrôles, jeunes adultes utilisées, traitées uniquement par du NaCl 0.9% alternent à un niveau proche de 70% et présentent le niveau de performances mnésiques normales, à l'inverse des souris traitées par la scopolamine à la dose de 0,5 mg/kg ne présentent pas de bonnes performances de mémoire puisque leur niveau d'alternances n'est pas différent de 50% (Figure 21). Cette figure montre que la scopolamine administrée à la dose de 0,5 mg/kg induit bien un déficit mnésique chez ces souris. Afin d'évaluer l'efficacité du donecopride et de l'association RS67333 avec le donepezil aux doses subactives, différents groupes de souris ont reçu de manière simultanée la scopolamine qui

induit un déficit mnésique et le composé pharmacologique d'intérêt, et selon le pourcentage d'alternances de ces souris, nous observons si ces composés contrebalancent ou pas le déficit induit. L'association d'IAChE avec l'agoniste des 5-HT_4R a réussi à corriger le déficit induit par la scopolamine, ce qui est en accord avec les résultats précédemment obtenus dans notre laboratoire dans un test de mémoire de reconnaissance d'objet (Freret et al., 2012), ainsi que dans d'autres laboratoires et chez d'autres espèces comme le rat (Mohler et al., 2007). De manière intéressante, le donecopride a également réussi à contrebalancer le déficit induit par la scopolamine aux doses de 0,3 et 3 mg/kg (Rochais et al., 2015). Ce résultat est une percée importante et un grand espoir dans le cadre du traitement de la MA. En effet, nous avons réussi démontrer des effets promnésiant (amélioration d'un déficit de mémoire induit par le temps) et anti-amnésiants (contrebalancement d'un déficit de mémoire pharmacologique), d'une molécule capable à la fois d'inhiber l'AChE et d'activer les 5-HT_4R. Cette dernière action promouvant la sécrétion du peptide sAPPα neuroprotecteur (Tableau 3).

Test	Dose/constante	Référence pharmacologique	Propriétés du Donecopride (DC)
IAChE (humaine)	IC50 : 16nM	Donepezil : 6nM	Le DC inhibe l'AChE à une valeur de même ordre que le donepezil
BuCHE (équine)	IC50 : 3500	Donepezil : 7000	Le DC inhibe la BuChE à une valeur inférieure à celle du donepezil, mais reste très élevée comparé à l'ordre d'inhibition de l'AChE
Agoniste 5-HT_4R Affinité (Ki) et Efficacité (% augmentation AMPc versus 5-HT)	Ki : 8,5 nM (48% vs 5-HT)	RS67333 : 13 nM (49% vs 5-HT)	Le DC est agoniste des 5-HT_4R au même ordre que le RS67333

Sécrétion sAPPα	EC50 : 11nM	RS67333 : 27nM	Le DC induit la sécrétion de sAPPα de manière similaire au RS67333
Screening pharmacologique	1 – 10 et 100 mg/kg	NaCl 0,9%, Amphétamine 2 mg/kg Chlorpromazine 10 mg/kg	Le DC ne semble pas affecter le comportement des souris
Boîte noire et blanche	0,1 – 1 et 10 mg/kg	NaCl 0,9%, Amphétamine 2 mg/kg et diazépam 1 mg/kg	Le DC n'induit pas de comportement anxiogénique
Actimètrie	0,1 – 1 et 10 mg/kg	NaCl 0,9%, Amphétamine 5 mg/kg, Chlorpromazine 10 mg/kg, RS 67333 0,1 mg/kg + donepezil 0,3 mg/kg	Le DC ne perturbe pas l'activité locomotrice des animaux
Mémoire de reconnaissance	0,1 – 0,3 et 3 mg/kg	NaCl 0,9%	Le DC améliore les performances de mémoire de reconnaissance aux doses de 0,3 et 1 mg/kg
Mémoire de travail	0,1 - 0,3 - 1 - 3 - et 10 mg/kg	Scopolamine 0,5 mg/kg, NaCl 0,9%, RS 67333 0,1 mg/kg + donepezil 0,3 mg/kg	Le DC améliore les performances de mémoire de travail aux doses de 0.3 et 3 mg/kg

Tableau 3 : Récapitulatif des propriétés in vitro et in vivo du donecopride.

Dans le but d'approfondir l'intérêt potentiel de ce MTDL en vue de développer un futur médicament pour la MA, il serait très pertinent de réaliser des études complémentaires sur des modèles animaux transgéniques. Du fait de l'action du donecopride sur la cascade amyloïdogénique, des modèles animaux porteurs de ce phénotype comme la souris 5XFAD, seraient adaptés afin de mettre en avant son effet neuroprotecteur. De plus, il est largement admis que les plaques amyloïdes sont présentes au niveau cérébral avant l'apparition des symptômes de la MA, de ce fait, les chercheurs pensent que le traitement de la pathologie avant la survenue des manifestations cliniques,

obstacle majeur à sa prise en charge de nos jours, constituerait une meilleure stratégie (Giannoni et al., 2013). De plus, un effort est fait par la communauté scientifique, et favorise davantage les études de traitements chroniques sur des modèles de la MA, à l'inverse des anciennes études majoritairement effectuées après traitement aigu des animaux, afin de travailler dans des conditions plus proches de la réalité clinique (Bhattacharya et al., 2014; Cho et al., 2014; Patel et al., 2014).

2. *Le composé 7m*

- **Synthèse et évaluation in vitro**

De la même manière que pour la synthèse du donecopride, le laboratoire CERMN s'est basé sur la structure des agonistes partiels des 5-HT_4R, des composés à la fois agonistes de ces derniers et antagonistes des 5-HT_6R ont également été synthétisés (Figure 22).

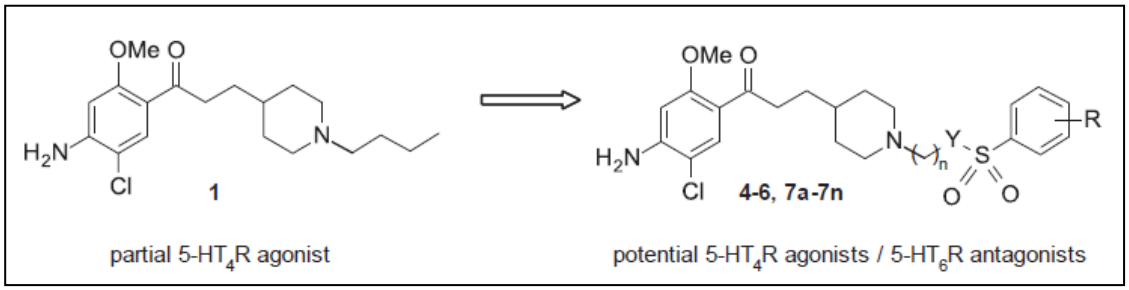


Figure 22 : Illustration de synthèse de MTDL agonistes des 5-HT_4R et antagonistes des 5-HT_6R.

Au cours de ce travail, la molécule de départ est un analogue des 5-HT_4R comprenant le groupement méthoxyphényl, qui après de nombreuses modulations a abouti à la synthèse de 16 composés qui ont été testés pour leur double action : activation des 5-HT_4R et blocage des 5-HT_6R (Yahiaoui et al., 2016). Parmi l'ensemble de ces composés, 4 d'entre eux ont démontré des affinités submicromolaires vis-à-vis des deux cibles pharmacologiques, et le composé nommé 7m a été sélectionné pour de plus amples études étant donné qu'il présentait en plus de meilleures propriétés de mise en forme médicamenteuse. En effet, 7m

ne contient qu'un seul atome de brome comparé au composé 7n qui contient deux atomes de brome, par exemple. Il serait donc plus soluble en milieu hydrophile et de plus petit poids moléculaire, ce qui pourrait faciliter son passage à travers la BHE. Le dérivé 7m a présenté une constante d'affinité vis-à-vis des 5-HT_4R de 5,3 nM (vs Ki RS67333 : 13 nM) et de 219 nM pour les 5-HT_6R (vs Ki SB271046 : 1 nM (Routledge et al., 2000)). Il présentait ainsi une bonne sélectivité vis-à-vis de ces récepteurs comparée à celle d'autres récepteurs sérotoninergiques, comme les 5-HT_{1A}R, 5-HT_{1B}R, 5-HT_{2A}R qui sont également mis en jeu dans les phénomènes cognitifs.

- **Evaluation *in vivo***

a. Screening pharmacologique

De la même manière que pour le donecopride, des études *in vivo* ont été réalisées au laboratoire GMPc. Le screening pharmacologique effectué sur de très petits groupes d'animaux n'a pas montré de toxicité liée au composé 7m, même à la plus forte dose de 100 mg/kg.

b. Activité locomotrice

Par ailleurs, le test d'actimètrie a révélé une baisse d'activité locomotrice à forte dose du composé 7m comparé au groupe contrôle (NaCl 0,9%), alors que les groupes traités par 7m aux doses de 1 et 10 mg montraient une activité horizontale semblable à celle des témoins (Figure 23).

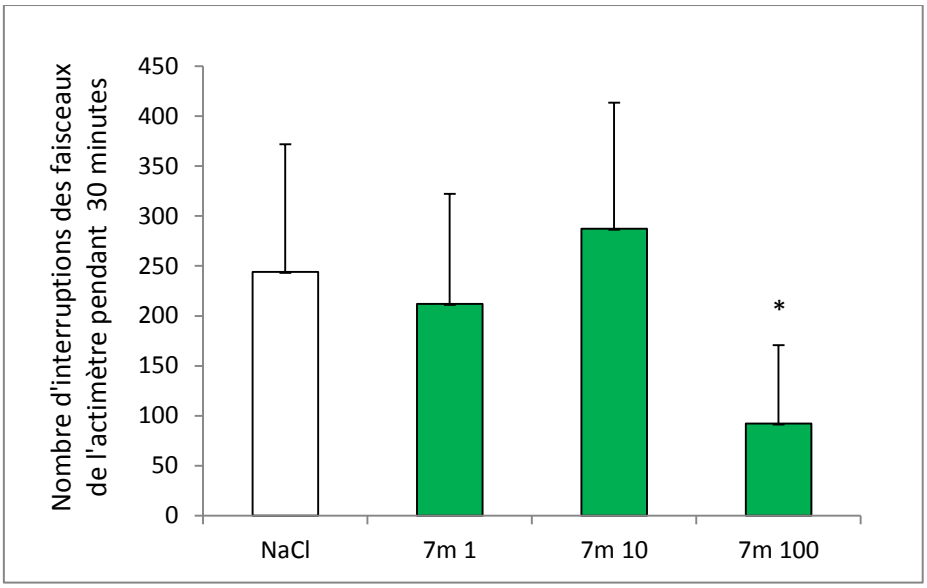


Figure 23 : Actimètrie : Somme des interruptions des faisceaux dans l'actimètre en activité horizontale pendant 30 minutes.

Les résultats sont présentés en valeurs moyennes ± écarts types. Doses administrées du composé 7m en mg/kg. n=6-10, ANOVA puis SNK, * : p<0,05 vs NaCl (NaCl 0,9%).

c. Test de mémoire de travail

Concernant les tests de mémoires, à ce jour, seulement un test de mémoire de travail spatiale a été réalisé, de la même manière que pour le donecopride, dans un labyrinthe en Y, sur des souris jeunes adultes NMRI chez lesquelles un déficit mnésique a été induit par la scopolamine. Pour ce test, 3 doses ont été administrées aux animaux : 0,1, 1 et 10 mg/kg, (Figure 24).

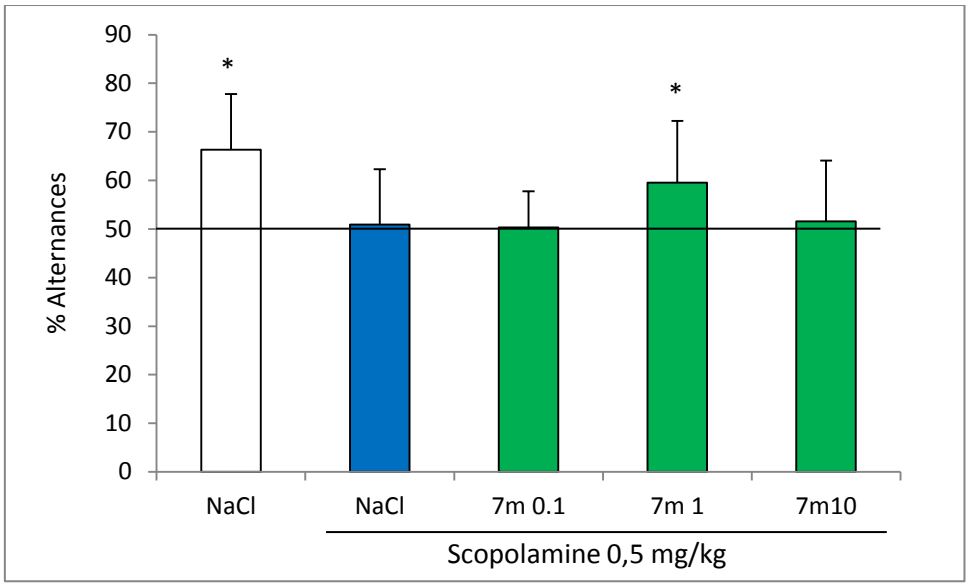


Figure 24 : Alternance spontanée : Pourcentage d'alternances dans le labyrinthe en fonction des différents traitements.

Les résultats sont présentés en valeurs moyennes ± écarts types. Doses administrées du composé 7m en mg/kg. n=9-10, t-Student : *p<0.05 vs 50%.

Le composé 7m a démontré dans ce test des propriétés antiamnésiantes à la dose de 1 mg/kg. En effet, la scopolamine administrée à la dose de 0,5 mg/kg a bien induit un déficit des performances d'alternances comparé aux souris « contrôle ». 7m aux doses de 0,1 et 10 mg/kg n'a pas contrebalancé le déficit cholinergique, alors que cet effet est contrebalancé à la dose de 1 mg/kg (Yahiaoui et al., 2016).

La caractérisation pharmacologique *in vitro* et *in vivo* de ce premier MTDL (agoniste 5-HT_4R/antagoniste 5-HT_6R) a permis de mettre au point un premier « hit » concernant ce type de composé. D'autres études de pharmacomodulation seront nécessaires afin notamment d'augmenter l'affinité vis-à-vis des récepteurs 5-HT_6 et de mettre au point des dérivés dotés d'une affinité de l'ordre du nanomolaire pour les deux cibles d'intérêt qui pourront permettre d'isoler un composé « lead » qui fera l'objet d'une étude de pharmacologie préclinique approfondie.

Conclusion

La MA représente un enjeu majeur pour la société, en effet, le nombre de patients atteints de cette pathologie ne cesse d'augmenter pour atteindre environs 70 millions en 2030 (Castellani et al., 2010), et sa prise en charge est un fardeau de plus en plus lourd, en particulier, les patients dépendants. C'est pourquoi, le développement de nouveaux traitements est de nos jours un défi important pour les chercheurs travaillant dans le domaine des maladies neurodégénératives. En effet, de nombreuses cibles thérapeutiques sont actuellement à l'étude, et notamment les récepteurs sérotoninergiques de types 4 et 6. D'ailleurs, de nombreux modulateurs de ces récepteurs sont actuellement en essai clinique. Cependant, il apparaît que la modulation d'une seule cible ne suffit pas à contrebalancer la maladie, puisque l'idalopirdine, un antagoniste sélectif des 5-HT_6R en phase III d'essais cliniques a vu récemment son développement stoppé pour manque d'efficacité thérapeutique. Il semble ainsi que le traitement de la MA nécessiterait le recours à des traitements « disease modifyer », qui agissent à la fois sur les symptômes de la maladie et sur sa cascade physiopathologique, afin d'avoir un effet curatif. C'est dans ce cadre que le laboratoire CERMN a synthétisé des composés capables à la fois d'activer les 5-HT_4R et d'inhiber l'AChE, la modulation de ces deux cibles ayant déjà montré des effets synergiques chez l'animal. Parmi ces composés, le donecopride présente des propriétés très prometteuses antiamnésiante et promnésiantes, il promeut également la sécrétion de sAPPα au niveau cérébral, peptide neuroprotecteur. Dans le cadre de la collaboration entre les deux laboratoires GMPc et CERMN, nous envisageons de tester le donecopride chez un modèle animal de la MA, les souris 5XFAD, qui sur-expriment au niveau cérébral les plaques séniles de la pathologie dès l'âge précoce, soit environs 4 mois. Afin de mieux traiter la pathologie, nous envisageons de traiter ces animaux avant l'apparition des plaques au

niveau cérébral, de manière chronique pendant une période allant jusqu'à 4 ou 6 mois de traitement, à raison de 2 administrations par semaine, afin d'éviter des phénomènes de désensibilisation des cibles pharmacologiques. Une telle approche thérapeutique espacée permettrait également de mieux apprivoiser la prise en charge clinique des patients, puisque le ciblage de patients à fort potentiel de développer la MA leur nécessiterait une prise en charge précoce, néanmoins moins lourde du fait des prises médicamenteuses séparées. L'aboutissement de notre projet renforcerait les données sur le donecopride et encouragerait les investisseurs pharmaceutiques afin de réaliser des études cliniques sur ces nouvelles molécules. Pour le moment, le donecopride envoie un fort espoir à la société quant à la prise en charge des patients atteints de la MA.

Annexes

MMSE : échelle d'évaluation rapide des fonctions cognitives, surtout mnésiques. Elle est couramment utilisée en clinique. Trente questions sont posées au patient, qui est noté au fur et à mesure. La note va de 0 à 30, et définit les stades de la MA.

MINI MENTAL STATE EXAMINATION (M.M.S.E)

Date :.....

Evalué(e) par : .....

Niveau socio-culturel .....

Etiquette du patient

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 :*

	!Ou1!		!Ou1!
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		[fauteuil	!____!
12. fleur	ou	[clé	ou	[tulipe	!____!
13. porte		[ballon		[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		[fauteuil	!____!
20. fleur	ou	[clé	ou	[tulipe	!____!
21. porte		[ballon		[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. Ecoutez bien et répétez après moi : « PAS DE MAIS, DE SI, NI DE ET » !____!

☞ *Poser une feuille de papier sur le bureau, la montrer au sujet en lui disant :* « 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 ». !____!

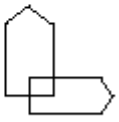
☞ *Tendre au sujet une feuille de papier et un stylo en disant :*

29. voulez-vous m'écrire une phrase, ce que vous voulez, mais une phrase entière. » !____!

PRAXIES CONSTRUCTIVES.

☞ *Tendre au sujet une feuille de papier et lui demander :*

30. « Voulez-vous recopier ce dessin ». !____!



SCORE TOTAL (0 à 30) !____!

Service de Gérontologie – 10 décembre 2007. 1/2

Références

Abernethy, D.R. (1987). Development of memory-enhancing agents in the treatment of Alzheimer's disease. J. Am. Geriatr. Soc. *35*, 957–958.

Abner, E.L., Schmitt, F.A., Nelson, P.T., Lou, W., Wan, L., Gauriglia, R., Dodge, H.H., Woltjer, R.L., Yu, L., Bennett, D.A., et al. (2015). The Statistical Modeling of Aging and Risk of Transition Project: Data Collection and Harmonization Across 11 Longitudinal Cohort Studies of Aging, Cognition, and Dementia. Obs. Stud. *1*, 56–73.

Albert, P.R., Le François, B., and Millar, A.M. (2011). Transcriptional dysregulation of 5-HT1A autoreceptors in mental illness. Mol. Brain *4*, 21.

Allain, P., Etcharry-Bouyx, F., and Verny, C. (2013). Executive functions in clinical and preclinical Alzheimer's disease. Rev. Neurol. (Paris) *169*, 695–708.

Alosco, M.L., and Hayes, S.M. (2015). Structural brain alterations in heart failure: a review of the literature and implications for risk of Alzheimer's disease. Heart Fail. Rev. *20*, 561–571.

Alzheimer, A., Stelzmann, R.A., Schnitzlein, H.N., and Murtagh, F.R. (1995). An English translation of Alzheimer's 1907 paper, "Uber eine eigenartige Erkankung der Hirnrinde."Clin. Anat. N. Y. N *8*, 429–431.

Alzheimer's Association (2014). 2014 Alzheimer's disease facts and figures. Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc. *10*, e47–92.

Ambrée, O., Richter, H., Sachser, N., Lewejohann, L., Dere, E., de Souza Silva, M.A., Herring, A., Keyvani, K., Paulus, W., and Schäbitz, W.-R. (2009). Levodopa ameliorates learning and memory deficits in a murine model of Alzheimer's disease. Neurobiol. Aging *30*, 1192–1204.

Annweiler, C., Brugg, B., Peyrin, J.-M., Bartha, R., and Beauchet, O. (2014). Combination of memantine and vitamin D prevents axon degeneration induced by amyloid-beta and glutamate. Neurobiol. Aging *35*, 331–335.

Arendt, T. (2009). Synaptic degeneration in Alzheimer's disease. Acta Neuropathol. (Berl.) *118*, 167–179.

Arendt, T., Stieler, J., and Holzer, M. (2016). Tau and Tauopathies. Brain Res. Bull.

Aytan, N., Choi, J.-K., Carreras, I., Kowall, N.W., Jenkins, B.G., and Dedeoglu, A. (2013). Combination therapy in a transgenic model of Alzheimer's disease. Exp. Neurol. *250*, 228–238.

Bell, K.F.S., Zheng, L., Fahrenholz, F., and Cuello, A.C. (2008). ADAM-10 over-expression increases cortical synaptogenesis. Neurobiol. Aging *29*, 554–565.

Belleville, S., Fouquet, C., Duchesne, S., Collins, D.L., and Hudon, C. (2014). Detecting early preclinical Alzheimer's disease via cognition, neuropsychiatry, and neuroimaging: qualitative review and recommendations for testing. J. Alzheimers Dis. JAD *42 Suppl 4*, S375–382.

Belluti, F., De Simone, A., Tarozzi, A., Bartolini, M., Djemil, A., Bisi, A., Gobbi, S., Montanari, S., Cavalli, A., Andrisano, V., et al. (2014). Fluorinated benzophenone derivatives: balanced multipotent agents for Alzheimer's disease. Eur. J. Med. Chem. *78*, 157–166.

Benhamú, B., Martín-Fontecha, M., Vázquez-Villa, H., Pardo, L., and López-Rodríguez, M.L. (2014). Serotonin 5-HT6 receptor antagonists for the treatment of cognitive deficiency in Alzheimer's disease. J. Med. Chem. *57*, 7160–7181.

Bhattacharya, S., Haertel, C., Maelicke, A., and Montag, D. (2014). Galantamine slows down plaque formation and behavioral decline in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. PloS One *9*, e89454.

Billioti de Gage, S., Moride, Y., Ducruet, T., Kurth, T., Verdoux, H., Tournier, M., Pariente, A., and Bégaud, B. (2014). Benzodiazepine use and risk of Alzheimer's disease: case-control study. BMJ *349*, g5205.

Bockaert, J., Sebben, M., and Dumuis, A. (1990). Pharmacological characterization of 5-hydroxytryptamine4(5-HT4) receptors positively coupled to adenylate cyclase in adult guinea pig hippocampal membranes: effect of substituted benzamide derivatives. Mol. Pharmacol. *37*, 408–411.

Bockaert, J., Claeysen, S., Compan, V., and Dumuis, A. (2008). 5-HT(4) receptors: history, molecular pharmacology and brain functions. Neuropharmacology *55*, 922–931.

Breining, A., Bonnet-Zamponi, D., Zerah, L., Micheneau, C., Riolacci-Dhoyen, N., Chan-Chee, C., Deligne, J., Harlin, J.-M., Boddaert, J., Verny, M., et al. (2016). Exposure to psychotropics in the French older population living with dementia: a nationwide population-based study. Int. J. Geriatr. Psychiatry.

Brickman, A.M., and Stern, Y. (2009). Aging and Memory in Humans. In Encyclopedia of Neuroscience, L.R. Squire, ed. (Oxford: Academic Press), pp. 175–180.

Bright, J., Hussain, S., Dang, V., Wright, S., Cooper, B., Byun, T., Ramos, C., Singh, A., Parry, G., Stagliano, N., et al. (2015). Human secreted tau increases amyloid-beta production. Neurobiol. Aging *36*, 693–709.

De Bruijn, R.F.A.G., and Ikram, M.A. (2014). Cardiovascular risk factors and future risk of Alzheimer's disease. BMC Med. *12*, 130.

De Bruin, N.M.W.J., Prickaerts, J., van Loevezijn, A., Venhorst, J., de Groote, L., Houba, P., Reneerkens, O., Akkerman, S., and Kruse, C.G. (2011). Two novel 5-HT6 receptor antagonists ameliorate scopolamine-induced memory deficits in the object recognition and object location tasks in Wistar rats. Neurobiol. Learn. Mem. *96*, 392–402.

Buskila, Y., Crowe, S.E., and Ellis-Davies, G.C.R. (2013). Synaptic deficits in layer 5 neurons precede overt structural decay in 5xFAD mice. Neuroscience *254*, 152–159.

Cachard-Chastel, M., Lezoualc'h, F., Dewachter, I., Deloménie, C., Croes, S., Devijver, H., Langlois, M., Van Leuven, F., Sicsic, S., and Gardier, A.M. (2007). 5-HT4 receptor agonists increase sAPPalpha levels in the cortex and hippocampus of male C57BL/6j mice. Br. J. Pharmacol. *150*, 883–892.

Cachard-Chastel, M., Devers, S., Sicsic, S., Langlois, M., Lezoualc'h, F., Gardier, A.M., and Belzung, C. (2008). Prucalopride and donepezil act synergistically to reverse scopolamine-induced memory deficit in C57Bl/6j mice. Behav. Brain Res. *187*, 455–461.

Callaghan, C.K., Hok, V., Della-Chiesa, A., Virley, D.J., Upton, N., and O'Mara, S.M. (2012). Age-related declines in delayed non-match-to-sample performance (DNMS) are reversed by the novel 5HT6 receptor antagonist SB742457. Neuropharmacology *63*, 890–897.

Campos, C., Rocha, N.B., Vieira, R.T., Rocha, S.A., Telles-Correia, D., Paes, F., Yuan, T., Nardi, A.E., Arias-Carrión, O., Machado, S., et al. (2016). Treatment of Cognitive Deficits in Alzheimer's disease: A psychopharmacological review. Psychiatr. Danub. *28*, 2–12.

Carvajal, F.J., and Inestrosa, N.C. (2011). Interactions of AChE with Aβ Aggregates in Alzheimer's Brain: Therapeutic Relevance of IDN 5706. Front. Mol. Neurosci. *4*, 19.

Castellani, R.J., Rolston, R.K., and Smith, M.A. (2010). Alzheimer disease. Dis.--Mon. DM *56*, 484–546.

Cheewakriengkrai, L., and Gauthier, S. (2013). A 10-year perspective on donepezil. Expert Opin. Pharmacother. *14*, 331–338.

Chen, K.H., Reese, E.A., Kim, H.-W., Rapoport, S.I., and Rao, J.S. (2011). Disturbed neurotransmitter transporter expression in Alzheimer's disease brain. J. Alzheimers Dis. JAD *26*, 755–766.

Chersi, F., and Burgess, N. (2015). The Cognitive Architecture of Spatial Navigation: Hippocampal and Striatal Contributions. Neuron *88*, 64–77.

Cho, W.-H., Park, J.-C., Kim, D.-H., Kim, M.-S., Lee, S.-Y., Park, H., Kang, J.-H., Yeon, S.-W., and Han, J.-S. (2014). ID1201, the ethanolic extract of the fruit of Melia toosendan ameliorates impairments in spatial learning and reduces levels of amyloid beta in 5XFAD mice. Neurosci. Lett. *583C*, 170–175.

Chouraki, V., and Seshadri, S. (2014). Genetics of Alzheimer's disease. Adv. Genet. *87*, 245–294.

Chudasama, Y., and Robbins, T.W. (2004). Dopaminergic modulation of visual attention and working memory in the rodent prefrontal cortex. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *29*, 1628–1636.

Chumakov, I., Nabirotchkin, S., Cholet, N., Milet, A., Boucard, A., Toulorge, D., Pereira, Y., Graudens, E., Traoré, S., Foucquier, J., et al. (2015). Combining two repurposed drugs as a promising approach for Alzheimer's disease therapy. Sci. Rep. *5*, 7608.

Ciavardelli, D., Piras, F., Consalvo, A., Rossi, C., Zucchelli, M., Di Ilio, C., Frazzini, V., Caltagirone, C., Spalletta, G., and Sensi, S.L. (2016). Medium-chain plasma acylcarnitines, ketone levels, cognition, and gray matter volumes in healthy elderly, mildly cognitively impaired, or Alzheimer's disease subjects. Neurobiol. Aging *43*, 1–12.

Cirrito, J.R., Deane, R., Fagan, A.M., Spinner, M.L., Parsadanian, M., Finn, M.B., Jiang, H., Prior, J.L., Sagare, A., Bales, K.R., et al. (2005). P-glycoprotein deficiency at the blood-brain barrier increases amyloid-beta deposition in an Alzheimer disease mouse model. J. Clin.

Invest. *115*, 3285–3290.

Claeysen, S., Faye, P., Sebben, M., Taviaux, S., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1998). 5-HT4 receptors: cloning and expression of new splice variants. Ann. N. Y. Acad. Sci. *861*, 49–56.

Claeysen, S., Sebben, M., Becamel, C., Bockaert, J., and Dumuis, A. (1999). Novel brain-specific 5-HT4 receptor splice variants show marked constitutive activity: role of the C-terminal intracellular domain. Mol. Pharmacol. *55*, 910–920.

Claeysen, S., Cochet, M., Donneger, R., Dumuis, A., Bockaert, J., and Giannoni, P. (2012). Alzheimer culprits: cellular crossroads and interplay. Cell. Signal. *24*, 1831–1840.

Clark, T.A., Lee, H.P., Rolston, R.K., Zhu, X., Marlatt, M.W., Castellani, R.J., Nunomura, A., Casadesus, G., Smith, M.A., Lee, H.-G., et al. (2010). Oxidative Stress and its Implications for Future Treatments and Management of Alzheimer Disease. Int. J. Biomed. Sci. IJBS *6*, 225–227.

Cochet, M., Donneger, R., Cassier, E., Gaven, F., Lichtenthaler, S.F., Marin, P., Bockaert, J., Dumuis, A., and Claeysen, S. (2013). 5-HT4 receptors constitutively promote the non-amyloidogenic pathway of APP cleavage and interact with ADAM10. ACS Chem. Neurosci. *4*, 130–140.

Corrigan, F., Vink, R., Blumbergs, P.C., Masters, C.L., Cappai, R., and van den Heuvel, C. (2012). Evaluation of the effects of treatment with sAPPα on functional and histological outcome following controlled cortical impact injury in mice. Neurosci. Lett. *515*, 50–54.

Costall, B., Jones, B.J., Kelly, M.E., Naylor, R.J., and Tomkins, D.M. (1989). Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. Pharmacol. Biochem. Behav. *32*, 777–785.

Creavin, S.T., Wisniewski, S., Noel-Storr, A.H., Trevelyan, C.M., Hampton, T., Rayment, D., Thom, V.M., Nash, K.J.E., Elhamoui, H., Milligan, R., et al. (2016). Mini-Mental State Examination (MMSE) for the detection of dementia in clinically unevaluated people aged 65 and over in community and primary care populations. Cochrane Database Syst. Rev. CD011145.

Crismon, M.L. (1994). Tacrine: first drug approved for Alzheimer's disease. Ann. Pharmacother. *28*, 744–751.

Cunnane, S., Nugent, S., Roy, M., Courchesne-Loyer, A., Croteau, E., Tremblay, S., Castellano, A., Pifferi, F., Bocti, C., Paquet, N., et al. (2011). Brain fuel metabolism, aging, and Alzheimer's disease. Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif *27*, 3–20.

Danysz, W., and Parsons, C.G. (2003). The NMDA receptor antagonist memantine as a symptomatological and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease: preclinical evidence. Int. J. Geriatr. Psychiatry *18*, S23–32.

Darcet, F., Gardier, A.M., David, D.J., and Guilloux, J.-P. (2016). Chronic 5-HT4 receptor agonist treatment restores learning and memory deficits in a neuroendocrine mouse model of anxiety/depression. Neurosci. Lett. *616*, 197–203.

Dawson, L.A., Nguyen, H.Q., and Li, P. (2000). In vivo effects of the 5-HT(6) antagonist SB-

271046 on striatal and frontal cortex extracellular concentrations of noradrenaline, dopamine, 5-HT, glutamate and aspartate. Br. J. Pharmacol. *130*, 23–26.

DeCarli, C. (2003). Mild cognitive impairment: prevalence, prognosis, aetiology, and treatment. Lancet Neurol. *2*, 15–21.

deIpolyi, A.R., Rankin, K.P., Mucke, L., Miller, B.L., and Gorno-Tempini, M.L. (2007). Spatial cognition and the human navigation network in AD and MCI. Neurology *69*, 986–997.

Deng, J., Habib, A., Obregon, D.F., Barger, S.W., Giunta, B., Wang, Y.-J., Hou, H., Sawmiller, D., and Tan, J. (2015). Soluble amyloid precursor protein alpha inhibits tau phosphorylation through modulation of GSK3β signaling pathway. J. Neurochem. *135*, 630–637.

Deuker, L., Bellmund, J.L., Navarro Schröder, T., and Doeller, C.F. (2016). An event map of memory space in the hippocampus. eLife *5*.

Diedrich, J.F., Minnigan, H., Carp, R.I., Whitaker, J.N., Race, R., Frey, W., and Haase, A.T. (1991). Neuropathological changes in scrapie and Alzheimer's disease are associated with increased expression of apolipoprotein E and cathepsin D in astrocytes. J. Virol. *65*, 4759–4768.

Dinamarca, M.C., Cerpa, W., Garrido, J., Hancke, J.L., and Inestrosa, N.C. (2006). Hyperforin prevents beta-amyloid neurotoxicity and spatial memory impairments by disaggregation of Alzheimer's amyloid-beta-deposits. Mol. Psychiatry *11*, 1032–1048.

Dogra, S., and Yadav, P.N. (2015). Biased agonism at kappa opioid receptors: Implication in pain and mood disorders. Eur. J. Pharmacol. *763*, 184–190.

Doraiswamy, P.M. (2002). Non-cholinergic strategies for treating and preventing Alzheimer's disease. CNS Drugs *16*, 811–824.

Doraiswamy, P.M. (2003). The role of the N-methyl-D-aspartate receptor in Alzheimer's disease: therapeutic potential. Curr. Neurol. Neurosci. Rep. *3*, 373–378.

Dumuis, A., Bouhelal, R., Sebben, M., Cory, R., and Bockaert, J. (1988). A nonclassical 5-hydroxytryptamine receptor positively coupled with adenylate cyclase in the central nervous system. Mol. Pharmacol. *34*, 880–887.

Dyrks, T., Weidemann, A., Multhaup, G., Salbaum, J.M., Lemaire, H.G., Kang, J., Müller-Hill, B., Masters, C.L., and Beyreuther, K. (1988). Identification, transmembrane orientation and biogenesis of the amyloid A4 precursor of Alzheimer's disease. EMBO J. *7*, 949–957.

Dysken, M.W., Sano, M., Asthana, S., Vertrees, J.E., Pallaki, M., Llorente, M., Love, S., Schellenberg, G.D., McCarten, J.R., Malphurs, J., et al. (2014). Effect of vitamin E and memantine on functional decline in Alzheimer disease: the TEAM-AD VA cooperative randomized trial. JAMA *311*, 33–44.

Edmonds, E.C., Delano-Wood, L., Galasko, D.R., Salmon, D.P., Bondi, M.W., and Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (2015). Subtle Cognitive Decline and Biomarker Staging in Preclinical Alzheimer's Disease. J. Alzheimers Dis. JAD *47*, 231–242.

Esch, F.S., Keim, P.S., Beattie, E.C., Blacher, R.W., Culwell, A.R., Oltersdorf, T., McClure, D., and

Ward, P.J. (1990). Cleavage of amyloid beta peptide during constitutive processing of its precursor. Science *248*, 1122–1124.

Estus, S., Golde, T.E., Kunishita, T., Blades, D., Lowery, D., Eisen, M., Usiak, M., Qu, X.M., Tabira, T., and Greenberg, B.D. (1992). Potentially amyloidogenic, carboxyl-terminal derivatives of the amyloid protein precursor. Science *255*, 726–728.

Evans, D.A., Hebert, L.E., Beckett, L.A., Scherr, P.A., Albert, M.S., Chown, M.J., Pilgrim, D.M., and Taylor, J.O. (1997). Education and other measures of socioeconomic status and risk of incident Alzheimer disease in a defined population of older persons. Arch. Neurol. *54*, 1399–1405.

Farokhnia, M., Shafiee Sabet, M., Iranpour, N., Gougol, A., Yekehtaz, H., Alimardani, R., Farsad, F., Kamalipour, M., and Akhondzadeh, S. (2014). Comparing the efficacy and safety of Crocus sativus L. with memantine in patients with moderate to severe Alzheimer's disease: a double-blind randomized clinical trial. Hum. Psychopharmacol. *29*, 351–359.

Ferreira, I.L., Resende, R., Ferreiro, E., Rego, A.C., and Pereira, C.F. (2010). Multiple defects in energy metabolism in Alzheimer's disease. Curr. Drug Targets *11*, 1193–1206.

Ferris, S.H., and Farlow, M. (2013). Language impairment in Alzheimer's disease and benefits of acetylcholinesterase inhibitors. Clin. Interv. Aging *8*, 1007–1014.

Foley, A.G., Murphy, K.J., Hirst, W.D., Gallagher, H.C., Hagan, J.J., Upton, N., Walsh, F.S., and Regan, C.M. (2004). The 5-HT(6) receptor antagonist SB-271046 reverses scopolamine-disrupted consolidation of a passive avoidance task and ameliorates spatial task deficits in aged rats. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *29*, 93–100.

Fratiglioni, L., De Ronchi, D., and Agüero-Torres, H. (1999). Worldwide prevalence and incidence of dementia. Drugs Aging *15*, 365–375.

Freret, T., Bouet, V., Quiedeville, A., Nee, G., Dallemagne, P., Rochais, C., and Boulouard, M. (2012). Synergistic effect of acetylcholinesterase inhibition (donepezil) and 5-HT(4) receptor activation (RS67333) on object recognition in mice. Behav. Brain Res. *230*, 304–308.

Friedland, R.P., Fritsch, T., Smyth, K.A., Koss, E., Lerner, A.J., Chen, C.H., Petot, G.J., and Debanne, S.M. (2001). Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *98*, 3440–3445.

Furukawa, K., Sopher, B.L., Rydel, R.E., Begley, J.G., Pham, D.G., Martin, G.M., Fox, M., and Mattson, M.P. (1996). Increased activity-regulating and neuroprotective efficacy of alpha-secretase-derived secreted amyloid precursor protein conferred by a C-terminal heparin-binding domain. J. Neurochem. *67*, 1882–1896.

Gao, S., Hendrie, H.C., Hall, K.S., and Hui, S. (1998). The relationships between age, sex, and the incidence of dementia and Alzheimer disease: a meta-analysis. Arch. Gen. Psychiatry *55*, 809–815.

Garcez, M.L., Falchetti, A.C.B., Mina, F., and Budni, J. (2015). Alzheimer's Disease associated with Psychiatric Comorbidities. An. Acad. Bras. Ciências *87*, 1461–1473.

Garcia-Alloza, M., Hirst, W.D., Chen, C.P.L.-H., Lasheras, B., Francis, P.T., and Ramírez, M.J.

(2004). Differential involvement of 5-HT(1B/1D) and 5-HT6 receptors in cognitive and non-cognitive symptoms in Alzheimer's disease. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *29*, 410–416.

García-Lázaro, H.G., Ramirez-Carmona, R., Lara-Romero, R., and Roldan-Valadez, E. (2012). Neuroanatomy of episodic and semantic memory in humans: a brief review of neuroimaging studies. Neurol. India *60*, 613–617.

Gerald, C., Adham, N., Kao, H.T., Olsen, M.A., Laz, T.M., Schechter, L.E., Bard, J.A., Vaysse, P.J., Hartig, P.R., and Branchek, T.A. (1995). The 5-HT4 receptor: molecular cloning and pharmacological characterization of two splice variants. EMBO J. *14*, 2806–2815.

Germano, C., and Kinsella, G.J. (2005). Working memory and learning in early Alzheimer's disease. Neuropsychol. Rev. *15*, 1–10.

Giannoni, P., Gaven, F., de Bundel, D., Baranger, K., Marchetti-Gauthier, E., Roman, F.S., Valjent, E., Marin, P., Bockaert, J., Rivera, S., et al. (2013). Early administration of RS 67333, a specific 5-HT4 receptor agonist, prevents amyloidogenesis and behavioral deficits in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. Front. Aging Neurosci. *5*, 96.

Gillette-Guyonnet, S., Andrieu, S., Nourhashemi, F., Gardette, V., Coley, N., Cantet, C., Gauthier, S., Ousset, P.-J., Vellas, B., and REAL.FR study group (2011). Long-term progression of Alzheimer's disease in patients under antidementia drugs. Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc. *7*, 579–592.

Glenner, G.G., and Wong, C.W. (1984). Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. Biochem. Biophys. Res. Commun. *120*, 885–890.

Godyń, J., Jończyk, J., Panek, D., and Malawska, B. (2016). Therapeutic strategies for Alzheimer's disease in clinical trials. Pharmacol. Rep. PR *68*, 127–138.

Goedert, M. (1987). Neuronal localization of amyloid beta protein precursor mRNA in normal human brain and in Alzheimer's disease. EMBO J. *6*, 3627–3632.

Gosselet, F., Candela, P., Cecchelli, R., and Fenart, L. (2011). [Role of the blood-brain barrier in Alzheimer's disease]. Med. Sci. MS *27*, 987–992.

Gray, S.L., Dublin, S., Yu, O., Walker, R., Anderson, M., Hubbard, R.A., Crane, P.K., and Larson, E.B. (2016). Benzodiazepine use and risk of incident dementia or cognitive decline: prospective population based study. BMJ *352*, i90.

Grimaldi, M., Marino, S.D., Florenzano, F., Ciotta, M.T., Nori, S.L., Rodriquez, M., Sorrentino, G., D'Ursi, A.M., and Scrima, M. (2016). β-Amyloid-acetylcholine molecular interaction: new role of cholinergic mediators in anti-Alzheimer therapy? Future Med. Chem. *8*, 1179–1189.

Habib, A., Sawmiller, D., and Tan, J. (2016). Restoring Soluble Amyloid Precursor Protein α Functions as a Potential Treatment for Alzheimer's Disease. J. Neurosci. Res.

Hasebe, N., Fujita, Y., Ueno, M., Yoshimura, K., Fujino, Y., and Yamashita, T. (2013). Soluble β-amyloid Precursor Protein Alpha binds to p75 neurotrophin receptor to promote neurite outgrowth. PloS One *8*, e82321.

Hasegawa, M. (2016). Molecular Mechanisms in the Pathogenesis of Alzheimer's disease and Tauopathies-Prion-Like Seeded Aggregation and Phosphorylation. Biomolecules *6*.

Hashimoto, G., Sakurai, M., Teich, A.F., Saeed, F., Aziz, F., and Arancio, O. (2012). 5-HT_4 receptor stimulation leads to soluble AβPPα production through MMP-9 upregulation. J. Alzheimers Dis. JAD *32*, 437–445.

Haskell, S.G., Richardson, E.D., and Horwitz, R.I. (1997). The effect of estrogen replacement therapy on cognitive function in women: a critical review of the literature. J. Clin. Epidemiol. *50*, 1249–1264.

Hassing, L.B., Johansson, B., Nilsson, S.E., Berg, S., Pedersen, N.L., Gatz, M., and McClearn, G. (2002). Diabetes mellitus is a risk factor for vascular dementia, but not for Alzheimer's disease: a population-based study of the oldest old. Int. Psychogeriatr. IPA *14*, 239–248.

Helboe, L., Egebjerg, J., and de Jong, I.E.M. (2015). Distribution of serotonin receptor 5-HT6 mRNA in rat neuronal subpopulations: A double in situ hybridization study. Neuroscience *310*, 442–454.

Henderson, V.W., Mack, W., and Williams, B.W. (1989). Spatial disorientation in Alzheimer's disease. Arch. Neurol. *46*, 391–394.

Héraud, C., Goufak, D., Ando, K., Leroy, K., Suain, V., Yilmaz, Z., De Decker, R., Authelet, M., Laporte, V., Octave, J.-N., et al. (2014). Increased misfolding and truncation of tau in APP/PS1/tau transgenic mice compared to mutant tau mice. Neurobiol. Dis. *62*, 100–112.

Higgins, G.A., Lewis, D.A., Bahmanyar, S., Goldgaber, D., Gajdusek, D.C., Young, W.G., Morrison, J.H., and Wilson, M.C. (1988). Differential regulation of amyloid-beta-protein mRNA expression within hippocampal neuronal subpopulations in Alzheimer disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *85*, 1297–1301.

Hildreth, K.L., and Church, S. (2015). Evaluation and management of the elderly patient presenting with cognitive complaints. Med. Clin. North Am. *99*, 311–335.

Hirst, W.D., Abrahamsen, B., Blaney, F.E., Calver, A.R., Aloj, L., Price, G.W., and Medhurst, A.D. (2003). Differences in the central nervous system distribution and pharmacology of the mouse 5-hydroxytryptamine-6 receptor compared with rat and human receptors investigated by radioligand binding, site-directed mutagenesis, and molecular modeling. Mol. Pharmacol. *64*, 1295–1308.

Hölscher, C. (2011). Diabetes as a risk factor for Alzheimer's disease: insulin signalling impairment in the brain as an alternative model of Alzheimer's disease. Biochem. Soc. Trans. *39*, 891–897.

Huang, L., Su, X., and Federoff, H.J. (2013). Single-chain fragment variable passive immunotherapies for neurodegenerative diseases. Int. J. Mol. Sci. *14*, 19109–19127.

Hux, M.J., O'Brien, B.J., Iskedjian, M., Goeree, R., Gagnon, M., and Gauthier, S. (1998). Relation between severity of Alzheimer's disease and costs of caring. CMAJ Can. Med. Assoc. J. *159*, 457–465.

Imfeld, P., Bodmer, M., Jick, S.S., and Meier, C.R. (2015). Benzodiazepine Use and Risk of

Developing Alzheimer's Disease or Vascular Dementia: A Case-Control Analysis. Drug Saf. *38*, 909–919.

Jack, C.R., Knopman, D.S., Jagust, W.J., Petersen, R.C., Weiner, M.W., Aisen, P.S., Shaw, L.M., Vemuri, P., Wiste, H.J., Weigand, S.D., et al. (2013). Tracking pathophysiological processes in Alzheimer's disease: an updated hypothetical model of dynamic biomarkers. Lancet Neurol. *12*, 207–216.

Jacobs, J., Miller, J., Lee, S.A., Coffey, T., Watrous, A.J., Sperling, M.R., Sharan, A., Worrell, G., Berry, B., Lega, B., et al. (2016). Direct Electrical Stimulation of the Human Entorhinal Region and Hippocampus Impairs Memory. Neuron *92*, 983–990.

Jahn, H. (2013). Memory loss in Alzheimer's disease. Dialogues Clin. Neurosci. *15*, 445–454.

Jarrett, J.T., Berger, E.P., and Lansbury, P.T. (1993). The C-terminus of the beta protein is critical in amyloidogenesis. Ann. N. Y. Acad. Sci. *695*, 144–148.

Jefferson, A.L., Beiser, A.S., Himali, J.J., Seshadri, S., O'Donnell, C.J., Manning, W.J., Wolf, P.A., Au, R., and Benjamin, E.J. (2015). Low cardiac index is associated with incident dementia and Alzheimer disease: the Framingham Heart Study. Circulation *131*, 1333–1339.

Jelic, V., and Winblad, B. (2016). Alzheimer disease. Donepezil and nursing home placement--benefits and costs. Nat. Rev. Neurol. *12*, 11–13.

Jiang, S., Li, Y., Zhang, C., Zhao, Y., Bu, G., Xu, H., and Zhang, Y.-W. (2014). M1 muscarinic acetylcholine receptor in Alzheimer's disease. Neurosci. Bull. *30*, 295–307.

Jin, P., Kim, J.-A., Choi, D.-Y., Lee, Y.-J., Jung, H.S., and Hong, J.T. (2013). Anti-inflammatory and anti-amyloidogenic effects of a small molecule, 2,4-bis(p-hydroxyphenyl)-2-butenal in Tg2576 Alzheimer's disease mice model. J. Neuroinflammation *10*, 2.

Johnson, D.E., Drummond, E., Grimwood, S., Sawant-Basak, A., Miller, E., Tseng, E., McDowell, L.L., Vanase-Frawley, M.A., Fisher, K.E., Rubitski, D.M., et al. (2012). The 5-hydroxytryptamine4 receptor agonists prucalopride and PRX-03140 increase acetylcholine and histamine levels in the rat prefrontal cortex and the power of stimulated hippocampal θ oscillations. J. Pharmacol. Exp. Ther. *341*, 681–691.

Jun, Z., Ibrahim, M.M., Dezheng, G., Bo, Y., Qiong, W., and Yuan, Z. (2015). UCP2 protects against amyloid beta toxicity and oxidative stress in primary neuronal culture. Biomed. Pharmacother. Biomédecine Pharmacothérapie *74*, 211–214.

Kang, J., Lemaire, H.G., Unterbeck, A., Salbaum, J.M., Masters, C.L., Grzeschik, K.H., Multhaup, G., Beyreuther, K., and Müller-Hill, B. (1987). The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. Nature *325*, 733–736.

Kendall, I., Slotten, H.A., Codony, X., Burgueño, J., Pauwels, P.J., Vela, J.M., and Fone, K.C.F. (2011). E-6801, a 5-HT6 receptor agonist, improves recognition memory by combined modulation of cholinergic and glutamatergic neurotransmission in the rat. Psychopharmacology (Berl.) *213*, 413–430.

Kim, H.G., Moon, M., Choi, J.G., Park, G., Kim, A.-J., Hur, J., Lee, K.-T., and Oh, M.S. (2014). Donepezil inhibits the amyloid-beta oligomer-induced microglial activation in vitro and in

vivo. Neurotoxicology *40*, 23–32.

Kim, S., Kim, M.J., Kim, S., Kang, H.S., Lim, S.W., Myung, W., Lee, Y., Hong, C.H., Choi, S.H., Na, D.L., et al. (2015). Gender differences in risk factors for transition from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease: A CREDOS study. Compr. Psychiatry *62*, 114–122.

Kim, T.-S., Pae, C.-U., Yoon, S.-J., Jang, W.-Y., Lee, N.J., Kim, J.-J., Lee, S.-J., Lee, C., Paik, I.-H., and Lee, C.-U. (2006). Decreased plasma antioxidants in patients with Alzheimer's disease. Int. J. Geriatr. Psychiatry *21*, 344–348.

Kinsey, A.M., Wainwright, A., Heavens, R., Sirinathsinghji, D.J., and Oliver, K.R. (2001). Distribution of 5-ht(5A), 5-ht(5B), 5-ht(6) and 5-HT(7) receptor mRNAs in the rat brain. Brain Res. Mol. Brain Res. *88*, 194–198.

Klein, A.M., Kowall, N.W., and Ferrante, R.J. (1999). Neurotoxicity and oxidative damage of beta amyloid 1-42 versus beta amyloid 1-40 in the mouse cerebral cortex. Ann. N. Y. Acad. Sci. *893*, 314–320.

Klinkenberg, I., and Blokland, A. (2010). The validity of scopolamine as a pharmacological model for cognitive impairment: a review of animal behavioral studies. Neurosci. Biobehav. Rev. *34*, 1307–1350.

Knight, M.J., McCann, B., Kauppinen, R.A., and Coulthard, E.J. (2016). Magnetic Resonance Imaging to Detect Early Molecular and Cellular Changes in Alzheimer's Disease. Front. Aging Neurosci. *8*, 139.

Koen, J.D., and Yonelinas, A.P. (2014). The effects of healthy aging, amnestic mild cognitive impairment, and Alzheimer's disease on recollection and familiarity: a meta-analytic review. Neuropsychol. Rev. *24*, 332–354.

Lam, F.C., Liu, R., Lu, P., Shapiro, A.B., Renoir, J.M., Sharom, F.J., and Reiner, P.B. (2001). beta-Amyloid efflux mediated by p-glycoprotein. J. Neurochem. *76*, 1121–1128.

Lamirault, L., and Simon, H. (2001). Enhancement of place and object recognition memory in young adult and old rats by RS 67333, a partial agonist of 5-HT4 receptors. Neuropharmacology *41*, 844–853.

Lammich, S., Kojro, E., Postina, R., Gilbert, S., Pfeiffer, R., Jasionowski, M., Haass, C., and Fahrenholz, F. (1999). Constitutive and regulated alpha-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *96*, 3922–3927.

Lan, J.-S., Xie, S.-S., Li, S.-Y., Pan, L.-F., Wang, X.-B., and Kong, L.-Y. (2014). Design, synthesis and evaluation of novel tacrine-(β-carboline) hybrids as multifunctional agents for the treatment of Alzheimer's disease. Bioorg. Med. Chem.

Laver, K., Dyer, S., Whitehead, C., Clemson, L., and Crotty, M. (2016). Interventions to delay functional decline in people with dementia: a systematic review of systematic reviews. BMJ Open *6*, e010767.

Lecoutey, C., Hedou, D., Freret, T., Giannoni, P., Gaven, F., Since, M., Bouet, V., Ballandonne, C., Corvaisier, S., Malzert Fréon, A., et al. (2014). Design of donecopride, a dual serotonin

subtype 4 receptor agonist/acetylcholinesterase inhibitor with potential interest for Alzheimer's disease treatment. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. *111*, E3825–3830.

Lelong, V., Lhonneur, L., Dauphin, F., and Boulouard, M. (2003). BIMU 1 and RS 67333, two 5-HT4 receptor agonists, modulate spontaneous alternation deficits induced by scopolamine in the mouse. Naunyn. Schmiedebergs Arch. Pharmacol. *367*, 621–628.

Lewerenz, J., and Maher, P. (2015). Chronic Glutamate Toxicity in Neurodegenerative Diseases-What is the Evidence? Front. Neurosci. *9*, 469.

Li, G., Klein, J., and Zimmermann, M. (2013). Pathophysiological amyloid concentrations induce sustained upregulation of readthrough acetylcholinesterase mediating anti-apoptotic effects. Neuroscience *240*, 349–360.

Lim, M.M., Gerstner, J.R., and Holtzman, D.M. (2014). The sleep-wake cycle and Alzheimer's disease: what do we know? Neurodegener. Dis. Manag. *4*, 351–362.

Liu, H.-R., Liu, X.-J., Fan, H.-Q., Tang, J.-J., Gao, X.-H., and Liu, W.-K. (2014). Design, synthesis and pharmacological evaluation of chalcone derivatives as acetylcholinesterase inhibitors. Bioorg. Med. Chem.

Liu, M., Geddis, M.S., Wen, Y., Setlik, W., and Gershon, M.D. (2005). Expression and function of 5-HT4 receptors in the mouse enteric nervous system. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. *289*, G1148–1163.

Liu, T., Xia, Z., Zhang, W.-W., Xu, J., Ge, X.-X., Li, J., Cui, Y., Qiu, Z.-B., Xu, J., Xie, Q., et al. (2013). Bis(9)-(-)-nor-meptazinol as a novel dual-binding AChEI potently ameliorates scopolamine-induced cognitive deficits in mice. Pharmacol. Biochem. Behav. *104*, 138–143.

Lo, A.C., De Maeyer, J.H., Vermaercke, B., Callaerts-Vegh, Z., Schuurkes, J.A.J., and D'Hooge, R. (2014). SSP-002392, a new 5-HT4 receptor agonist, dose-dependently reverses scopolamine-induced learning and memory impairments in C57Bl/6 mice. Neuropharmacology *85*, 178–189.

Luo, Z., Sheng, J., Sun, Y., Lu, C., Yan, J., Liu, A., Luo, H.-B., Huang, L., and Li, X. (2013). Synthesis and evaluation of multi-target-directed ligands against Alzheimer's disease based on the fusion of donepezil and ebselen. J. Med. Chem. *56*, 9089–9099.

Madsen, K., Neumann, W.-J., Holst, K., Marner, L., Haahr, M.T., Lehel, S., Knudsen, G.M., and Hasselbalch, S.G. (2011). Cerebral serotonin 4 receptors and amyloid-β in early Alzheimer's disease. J. Alzheimers Dis. JAD *26*, 457–466.

Malmsten, L., Vijayaraghavan, S., Hovatta, O., Marutle, A., and Darreh-Shori, T. (2014). Fibrillar β-amyloid 1-42 alters cytokine secretion, cholinergic signalling and neuronal differentiation. J. Cell. Mol. Med. *18*, 1874–1888.

Mao, F., Yan, J., Li, J., Jia, X., Miao, H., Sun, Y., Huang, L., and Li, X. (2014). New multi-target-directed small molecules against Alzheimer's disease: a combination of resveratrol and clioquinol. Org. Biomol. Chem. *12*, 5936–5944.

Marcos, B., Gil-Bea, F.J., Hirst, W.D., García-Alloza, M., and Ramírez, M.J. (2006). Lack of localization of 5-HT6 receptors on cholinergic neurons: implication of multiple

neurotransmitter systems in 5-HT6 receptor-mediated acetylcholine release. Eur. J. Neurosci. *24*, 1299–1306.

Marcos, B., García-Alloza, M., Gil-Bea, F.J., Chuang, T.T., Francis, P.T., Chen, C.P., Tsang, S.W.T.Y., Lai, M.K.P., and Ramirez, M.J. (2008a). Involvement of an altered 5-HT -{6} receptor function in behavioral symptoms of Alzheimer's disease. J. Alzheimers Dis. JAD *14*, 43–50.

Marcos, B., Chuang, T.T., Gil-Bea, F.J., and Ramirez, M.J. (2008b). Effects of 5-HT6 receptor antagonism and cholinesterase inhibition in models of cognitive impairment in the rat. Br. J. Pharmacol. *155*, 434–440.

Maruyama, K., Kawamura, Y., Asada, H., Ishiura, S., and Obata, K. (1994). Cleavage at the N-terminal site of Alzheimer amyloid beta/A4 protein is essential for its secretion. Biochem. Biophys. Res. Commun. *202*, 1517–1523.

Matsuzono, K., Yamashita, T., Ohta, Y., Hishikawa, N., Koike, M., Sato, K., Kono, S., Deguchi, K., Nakano, Y., and Abe, K. (2015). Clinical Benefits of Memantine Treatment for Alzheimer's Disease in the Okayama Memantine Study II (OMS II). J. Alzheimers Dis. JAD *47*, 487–493.

Matthews, B.R. (2015). Memory dysfunction. Contin. Minneap. Minn *21*, 613–626.

Mawuenyega, K.G., Sigurdson, W., Ovod, V., Munsell, L., Kasten, T., Morris, J.C., Yarasheski, K.E., and Bateman, R.J. (2010). Decreased clearance of CNS beta-amyloid in Alzheimer's disease. Science *330*, 1774.

Mayeux, R., Sano, M., Chen, J., Tatemichi, T., and Stern, Y. (1991). Risk of dementia in first-degree relatives of patients with Alzheimer's disease and related disorders. Arch. Neurol. *48*, 269–273.

Meneses, A., Perez-Garcia, G., Liy-Salmeron, G., Flores-Galvez, D., Castillo, C., and Castillo, E. (2008). The effects of the 5-HT(6) receptor agonist EMD and the 5-HT(7) receptor agonist AS19 on memory formation. Behav. Brain Res. *195*, 112–119.

Mesulam, M.-M. (2013). Cholinergic circuitry of the human nucleus basalis and its fate in Alzheimer's disease. J. Comp. Neurol. *521*, 4124–4144.

Mishra, N., Sasmal, D., and Singh, K.K. (2013). Attenuating Aβ1-42-induced toxicity by a novel acetylcholinesterase inhibitor. Neuroscience *250*, 309–319.

Mitchell, E.S., Hoplight, B.J., Lear, S.P., and Neumaier, J.F. (2006). BGC20-761, a novel tryptamine analog, enhances memory consolidation and reverses scopolamine-induced memory deficit in social and visuospatial memory tasks through a 5-HT6 receptor-mediated mechanism. Neuropharmacology *50*, 412–420.

Mitchell, E.S., McDevitt, R.A., and Neumaier, J.F. (2009). Adaptations in 5-HT receptor expression and function: implications for treatment of cognitive impairment in aging. J. Neurosci. Res. *87*, 2803–2811.

Mohler, E.G., Shacham, S., Noiman, S., Lezoualc'h, F., Robert, S., Gastineau, M., Rutkowski, J., Marantz, Y., Dumuis, A., Bockaert, J., et al. (2007). VRX-03011, a novel 5-HT4 agonist, enhances memory and hippocampal acetylcholine efflux. Neuropharmacology *53*, 563–573.

Molino, I., Colucci, L., Fasanaro, A.M., Traini, E., and Amenta, F. (2013). Efficacy of memantine, donepezil, or their association in moderate-severe Alzheimer's disease: a review of clinical trials. ScientificWorldJournal *2013*, 925702.

Monaco, S.A., Gulchina, Y., and Gao, W.-J. (2015). NR2B subunit in the prefrontal cortex: A double-edged sword for working memory function and psychiatric disorders. Neurosci. Biobehav. Rev. *56*, 127–138.

Monsma, F.J., Shen, Y., Ward, R.P., Hamblin, M.W., and Sibley, D.R. (1993). Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. Mol. Pharmacol. *43*, 320–327.

Mori, H., Takio, K., Ogawara, M., and Selkoe, D.J. (1992). Mass spectrometry of purified amyloid beta protein in Alzheimer's disease. J. Biol. Chem. *267*, 17082–17086.

Morpurgo, C. (1971). A new design for the screening of CNS-active drugs in mice. A multi-dimensional observation procedure and the study of pharmacological interactions. Arzneimittelforschung. *21*, 1727–1734.

Müller, W.E., Romero, F.J., Perovic, S., Pergande, G., and Pialoglou, P. (1997). Protection of flupirtine on beta-amyloid-induced apoptosis in neuronal cells in vitro: prevention of amyloid-induced glutathione depletion. J. Neurochem. *68*, 2371–2377.

Munro, C.A. (2014). Sex differences in Alzheimer's disease risk: are we looking at the wrong hormones? Int. Psychogeriatr. IPA *26*, 1579–1584.

Nasrallah, I.M., and Wolk, D.A. (2014). Multimodality imaging of Alzheimer disease and other neurodegenerative dementias. J. Nucl. Med. Off. Publ. Soc. Nucl. Med. *55*, 2003–2011.

Nepovimova, E., Uliassi, E., Korabecny, J., Peña-Altamira, L.E., Samez, S., Pesaresi, A., Garcia, G.E., Bartolini, M., Andrisano, V., Bergamini, C., et al. (2014). Multitarget drug design strategy: quinone-tacrine hybrids designed to block amyloid-beta aggregation and to exert anticholinesterase and antioxidant effects. J. Med. Chem.

O'Brien, J.T., and Markus, H.S. (2014). Vascular risk factors and Alzheimer's disease. BMC Med. *12*, 218.

Oakley, H., Cole, S.L., Logan, S., Maus, E., Shao, P., Craft, J., Guillozet-Bongaarts, A., Ohno, M., Disterhoft, J., Van Eldik, L., et al. (2006). Intraneuronal beta-amyloid aggregates, neurodegeneration, and neuron loss in transgenic mice with five familial Alzheimer's disease mutations: potential factors in amyloid plaque formation. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *26*, 10129–10140.

Oberman, L., and Pascual-Leone, A. (2013). Changes in plasticity across the lifespan: cause of disease and target for intervention. Prog. Brain Res. *207*, 91–120.

Obregon, D., Hou, H., Deng, J., Giunta, B., Tian, J., Darlington, D., Shahaduzzaman, M., Zhu, Y., Mori, T., Mattson, M.P., et al. (2012). Soluble amyloid precursor protein-α modulates β-secretase activity and amyloid-β generation. Nat. Commun. *3*, 777.

De Oliveira, F.F., Bertolucci, P.H.F., Chen, E.S., and Smith, M.C. (2014). Assessment of risk factors for earlier onset of sporadic Alzheimer's disease dementia. Neurol. India *62*, 625–630.

Orsetti, M., Dellarole, A., Ferri, S., and Ghi, P. (2003). Acquisition, retention, and recall of memory after injection of RS67333, a 5-HT(4) receptor agonist, into the nucleus basalis magnocellularis of the rat. Learn. Mem. Cold Spring Harb. N *10*, 420–426.

Ota, H., Ogawa, S., Ouchi, Y., and Akishita, M. (2015). Protective effects of NMDA receptor antagonist, memantine, against senescence of PC12 cells: A possible role of nNOS and combined effects with donepezil. Exp. Gerontol. *72*, 109–116.

Pai, M.-C., and Jacobs, W.J. (2004). Topographical disorientation in community-residing patients with Alzheimer's disease. Int. J. Geriatr. Psychiatry *19*, 250–255.

Panegyres, P.K., Chen, H.Y., and the Coalition against Major Diseases (CAMD) (2014). Early-onset Alzheimer's disease: a global cross-sectional analysis. Eur. J. Neurol. Off. J. Eur. Fed. Neurol. Soc.

Parikh, V., Bernard, C.S., Naughton, S.X., and Yegla, B. (2014). Interactions between Aβ oligomers and presynaptic cholinergic signaling: age-dependent effects on attentional capacities. Behav. Brain Res. *274*, 30–42.

Park, R., Kook, S.-Y., Park, J.-C., and Mook-Jung, I. (2014). Aβ1-42 reduces P-glycoprotein in the blood-brain barrier through RAGE-NF-κB signaling. Cell Death Dis. *5*, e1299.

Patel, S., Grizzell, J.A., Holmes, R., Zeitlin, R., Solomon, R., Sutton, T.L., Rohani, A., Charry, L.C., Iarkov, A., Mori, T., et al. (2014). Cotinine halts the advance of Alzheimer's disease-like pathology and associated depressive-like behavior in Tg6799 mice. Front. Aging Neurosci. *6*, 162.

Peñas-Cazorla, R., and Vilaró, M.T. (2015). Serotonin 5-HT4 receptors and forebrain cholinergic system: receptor expression in identified cell populations. Brain Struct. Funct. *220*, 3413–3434.

Perez-García, G., and Meneses, A. (2005). Oral administration of the 5-HT6 receptor antagonists SB-357134 and SB-399885 improves memory formation in an autoshaping learning task. Pharmacol. Biochem. Behav. *81*, 673–682.

Porayette, P., Gallego, M.J., Kaltcheva, M.M., Bowen, R.L., Vadakkadath Meethal, S., and Atwood, C.S. (2009). Differential processing of amyloid-beta precursor protein directs human embryonic stem cell proliferation and differentiation into neuronal precursor cells. J. Biol. Chem. *284*, 23806–23817.

Prado, V.F., Janickova, H., Al-Onaizi, M.A., and Prado, M.A.M. (2016). Cholinergic circuits in cognitive flexibility. Neuroscience.

Quiedeville, A., Boulouard, M., Da Silva Costa-Aze, V., Dauphin, F., Bouet, V., and Freret, T. (2014). 5-HT6 receptor antagonists as treatment for age-related cognitive decline. Rev. Neurosci. *25*, 417–427.

Radak, Z., Chung, H.Y., Koltai, E., Taylor, A.W., and Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. Ageing Res. Rev. *7*, 34–42.

Raha, S., Lee, H.J., Yumnam, S., Hong, G.E., Saralamma, V.V.G., Ha, Y.L., Kim, J.O., Kim, Y.S., Heo, J.D., Lee, S.J., et al. (2016). Vitamin D2 suppresses amyloid-β 25-35 induced microglial

activation in BV2 cells by blocking the NF-κB inflammatory signaling pathway. Life Sci.

Ramirez, M.J., Lai, M.K.P., Tordera, R.M., and Francis, P.T. (2014). Serotonergic therapies for cognitive symptoms in Alzheimer's disease: rationale and current status. Drugs *74*, 729–736.

Ring, S., Weyer, S.W., Kilian, S.B., Waldron, E., Pietrzik, C.U., Filippov, M.A., Herms, J., Buchholz, C., Eckman, C.B., Korte, M., et al. (2007). The secreted beta-amyloid precursor protein ectodomain APPs alpha is sufficient to rescue the anatomical, behavioral, and electrophysiological abnormalities of APP-deficient mice. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. *27*, 7817–7826.

Rizzo, S., Tarozzi, A., Bartolini, M., Da Costa, G., Bisi, A., Gobbi, S., Belluti, F., Ligresti, A., Allarà, M., Monti, J.-P., et al. (2012). 2-Arylbenzofuran-based molecules as multipotent Alzheimer's disease modifying agents. Eur. J. Med. Chem. *58*, 519–532.

Rochais, C., Lecoutey, C., Gaven, F., Giannoni, P., Hamidouche, K., Hedou, D., Dubost, E., Genest, D., Yahiaoui, S., Freret, T., et al. (2015). Novel Multitarget-Directed Ligands (MTDLs) with Acetylcholinesterase (AChE) Inhibitory and Serotonergic Subtype 4 Receptor (5-HT4R) Agonist Activities As Potential Agents against Alzheimer's Disease: The Design of Donecopride. J. Med. Chem. *58*, 3172–3187.

Rogers, S.L., and Friedhoff, L.T. (1996). The efficacy and safety of donepezil in patients with Alzheimer's disease: results of a US Multicentre, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. The Donepezil Study Group. Dement. Basel Switz. *7*, 293–303.

Routledge, C., Bromidge, S.M., Moss, S.F., Price, G.W., Hirst, W., Newman, H., Riley, G., Gager, T., Stean, T., Upton, N., et al. (2000). Characterization of SB-271046: a potent, selective and orally active 5-HT(6) receptor antagonist. Br. J. Pharmacol. *130*, 1606–1612.

Ruat, M., Traiffort, E., Arrang, J.M., Tardivel-Lacombe, J., Diaz, J., Leurs, R., and Schwartz, J.C. (1993). A novel rat serotonin (5-HT6) receptor: molecular cloning, localization and stimulation of cAMP accumulation. Biochem. Biophys. Res. Commun. *193*, 268–276.

Ruzafa, D., Morel, B., Varela, L., Azuaga, A.I., and Conejero-Lara, F. (2012). Characterization of oligomers of heterogeneous size as precursors of amyloid fibril nucleation of an SH3 domain: an experimental kinetics study. PloS One *7*, e49690.

Ryan, M.M., Morris, G.P., Mockett, B.G., Bourne, K., Abraham, W.C., Tate, W.P., and Williams, J.M. (2013). Time-dependent changes in gene expression induced by secreted amyloid precursor protein-alpha in the rat hippocampus. BMC Genomics *14*, 376.

Sambeth, A., Riedel, W.J., Klinkenberg, I., Kähkönen, S., and Blokland, A. (2015). Biperiden selectively induces memory impairment in healthy volunteers: no interaction with citalopram. Psychopharmacology (Berl.) *232*, 1887–1897.

Schreiner, B., Hedskog, L., Wiehager, B., and Ankarcrona, M. (2015). Amyloid-β peptides are generated in mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes. J. Alzheimers Dis. JAD *43*, 369–374.

Scott, H.A., Gebhardt, F.M., Mitrovic, A.D., Vandenberg, R.J., and Dodd, P.R. (2011). Glutamate transporter variants reduce glutamate uptake in Alzheimer's disease. Neurobiol. Aging *32*, 553.e1–11.

Serino, S., Cipresso, P., Morganti, F., and Riva, G. (2014). The role of egocentric and allocentric abilities in Alzheimer's disease: a systematic review. Ageing Res. Rev. *16*, 32–44.

Shafer, T.J., and Atchison, W.D. (1991). Transmitter, ion channel and receptor properties of pheochromocytoma (PC12) cells: a model for neurotoxicological studies. Neurotoxicology *12*, 473–492.

Sharma, N., and Singh, A.N. (2016). Exploring Biomarkers for Alzheimer's Disease. J. Clin. Diagn. Res. JCDR *10*, KE01–06.

Shen, F., Smith, J.A.M., Chang, R., Bourdet, D.L., Tsuruda, P.R., Obedencio, G.P., and Beattie, D.T. (2011). 5-HT(4) receptor agonist mediated enhancement of cognitive function in vivo and amyloid precursor protein processing in vitro: A pharmacodynamic and pharmacokinetic assessment. Neuropharmacology *61*, 69–79.

Shiffrin, R.M. (1993). Short-term memory: a brief commentary. Mem. Cognit. *21*, 193–197.

Da Silva Costa, V., Duchatelle, P., Boulouard, M., and Dauphin, F. (2009). Selective 5-HT6 receptor blockade improves spatial recognition memory and reverses age-related deficits in spatial recognition memory in the mouse. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. *34*, 488–500.

Da Silva Costa, V., Dauphin, F., and Boulouard, M. (2011). Serotonin 5-HT6 receptor blockade reverses the age-related deficits of recognition memory and working memory in mice. Behav. Brain Res. *222*, 134–140.

Da Silva Costa-Aze, V., Quiedeville, A., Boulouard, M., and Dauphin, F. (2012). 5-HT6 receptor blockade differentially affects scopolamine-induced deficits of working memory, recognition memory and aversive learning in mice. Psychopharmacology (Berl.) *222*, 99–115.

Šimić, G., Babić Leko, M., Wray, S., Harrington, C.R., Delalle, I., Jovanov-Milošević, N., Bažadona, D., Buée, L., de Silva, R., Di Giovanni, G., et al. (2016). Monoaminergic neuropathology in Alzheimer's disease. Prog. Neurobiol.

Smailagic, N., Vacante, M., Hyde, C., Martin, S., Ukoumunne, O., and Sachpekidis, C. (2015). ^{18}F-FDG PET for the early diagnosis of Alzheimer's disease dementia and other dementias in people with mild cognitive impairment (MCI). Cochrane Database Syst. Rev. *1*, CD010632.

Small, G.W., Rabins, P.V., Barry, P.P., Buckholtz, N.S., DeKosky, S.T., Ferris, S.H., Finkel, S.I., Gwyther, L.P., Khachaturian, Z.S., Lebowitz, B.D., et al. (1997). Diagnosis and treatment of Alzheimer disease and related disorders. Consensus statement of the American Association for Geriatric Psychiatry, the Alzheimer's Association, and the American Geriatrics Society. JAMA *278*, 1363–1371.

Smith, C.M., and Swash, M. (1978). Possible biochemical basis of memory disorder in Alzheimer disease. Ann. Neurol. *3*, 471–473.

Sohanaki, H., Baluchnejadmojarad, T., Nikbakht, F., and Roghani, M. (2016). Pelargonidin Improves Passive Avoidance Task Performance in a Rat Amyloid Beta25-35 Model of Alzheimer's Disease Via Estrogen Receptor Independent Pathways. Acta Med. Iran. *54*, 245–250.

Söllvander, S., Nikitidou, E., Brolin, R., Söderberg, L., Sehlin, D., Lannfelt, L., and Erlandsson, A. (2016). Accumulation of amyloid-β by astrocytes result in enlarged endosomes and microvesicle-induced apoptosis of neurons. Mol. Neurodegener. *11*, 38.

Steffener, J., Brickman, A.M., Rakitin, B.C., Gazes, Y., and Stern, Y. (2009). The impact of age-related changes on working memory functional activity. Brain Imaging Behav. *3*, 142–153.

Stopford, C.L., Thompson, J.C., Neary, D., Richardson, A.M.T., and Snowden, J.S. (2012). Working memory, attention, and executive function in Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. Cortex J. Devoted Study Nerv. Syst. Behav. *48*, 429–446.

Storga, D., Vrecko, K., Birkmayer, J.G., and Reibnegger, G. (1996). Monoaminergic neurotransmitters, their precursors and metabolites in brains of Alzheimer patients. Neurosci. Lett. *203*, 29–32.

Von Strauss, E., Viitanen, M., De Ronchi, D., Winblad, B., and Fratiglioni, L. (1999). Aging and the occurrence of dementia: findings from a population-based cohort with a large sample of nonagenarians. Arch. Neurol. *56*, 587–592.

De Strooper, B. (2003). Aph-1, Pen-2, and Nicastrin with Presenilin generate an active gamma-Secretase complex. Neuron *38*, 9–12.

Suárez-González, A., Crutch, S.J., Franco-Macías, E., and Gil-Néciga, E. (2016). Neuropsychiatric Symptoms in Posterior Cortical Atrophy and Alzheimer Disease. J. Geriatr. Psychiatry Neurol. *29*, 65–71.

Sutherland, G.T., Chami, B., Youssef, P., and Witting, P.K. (2013). Oxidative stress in Alzheimer's disease: Primary villain or physiological by-product? Redox Rep. Commun. Free Radic. Res. *18*, 134–141.

Tagawa, K., Kunishita, T., Maruyama, K., Yoshikawa, K., Kominami, E., Tsuchiya, T., Suzuki, K., Tabira, T., Sugita, H., and Ishiura, S. (1991). Alzheimer's disease amyloid beta-clipping enzyme (APP secretase): identification, purification, and characterization of the enzyme. Biochem. Biophys. Res. Commun. *177*, 377–387.

Tanaka, S., Nakamura, S., Ueda, K., Kameyama, M., Shiojiri, S., Takahashi, Y., Kitaguchi, N., and Ito, H. (1988). Three types of amyloid protein precursor mRNA in human brain: their differential expression in Alzheimer's disease. Biochem. Biophys. Res. Commun. *157*, 472–479.

Tanaka, Y., Meguro, K., Yamaguchi, S., Ishii, H., Watanuki, S., Funaki, Y., Yamaguchi, K., Yamadori, A., Iwata, R., and Itoh, M. (2003). Decreased striatal D2 receptor density associated with severe behavioral abnormality in Alzheimer's disease. Ann. Nucl. Med. *17*, 567–573.

Tanzi, R.E., Gusella, J.F., Watkins, P.C., Bruns, G.A., St George-Hyslop, P., Van Keuren, M.L., Patterson, D., Pagan, S., Kurnit, D.M., and Neve, R.L. (1987). Amyloid beta protein gene: cDNA, mRNA distribution, and genetic linkage near the Alzheimer locus. Science *235*, 880–884.

Tariot, P.N., Farlow, M.R., Grossberg, G.T., Graham, S.M., McDonald, S., Gergel, I., and Memantine Study Group (2004). Memantine treatment in patients with moderate to severe

Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial. JAMA *291*, 317–324.

Tata, A.M., Velluto, L., D'Angelo, C., and Reale, M. (2014). Cholinergic system dysfunction and neurodegenerative diseases: cause or effect? CNS Neurol. Disord. Drug Targets *13*, 1294–1303.

Taylor, C.J., Ireland, D.R., Ballagh, I., Bourne, K., Marechal, N.M., Turner, P.R., Bilkey, D.K., Tate, W.P., and Abraham, W.C. (2008). Endogenous secreted amyloid precursor protein-alpha regulates hippocampal NMDA receptor function, long-term potentiation and spatial memory. Neurobiol. Dis. *31*, 250–260.

Terry, W.D., Page, D.L., Kimura, S., Isobe, T., Osserman, E.F., and Glenner, G.G. (1973). Structural identity of Bence Jones and amyloid fibril proteins in a patient with plasma cell dyscrasia and amyloidosis. J. Clin. Invest. *52*, 1276–1281.

Thomas, J., Thomas, C.J., Radcliffe, J., and Itsiopoulos, C. (2015). Omega-3 Fatty Acids in Early Prevention of Inflammatory Neurodegenerative Disease: A Focus on Alzheimer's Disease. BioMed Res. Int. *2015*, 172801.

Tolppanen, A.-M., Taipale, H., Koponen, M., Lavikainen, P., Tanskanen, A., Tiihonen, J., and Hartikainen, S. (2016). Cohort profile: the Finnish Medication and Alzheimer's disease (MEDALZ) study. BMJ Open *6*, e012100.

Tramutola, A., Lanzillotta, C., Perluigi, M., and Butterfield, D.A. (2016). Oxidative stress, protein modification and Alzheimer disease. Brain Res. Bull.

Vagelatos, N.T., and Eslick, G.D. (2013). Type 2 diabetes as a risk factor for Alzheimer's disease: the confounders, interactions, and neuropathology associated with this relationship. Epidemiol. Rev. *35*, 152–160.

Vaidehi, N., and Kenakin, T. (2010). The role of conformational ensembles of seven transmembrane receptors in functional selectivity. Curr. Opin. Pharmacol. *10*, 775–781.

Vassar, R., Bennett, B.D., Babu-Khan, S., Kahn, S., Mendiaz, E.A., Denis, P., Teplow, D.B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., et al. (1999). Beta-secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. Science *286*, 735–741.

Vest, R.S., and Pike, C.J. (2013). Gender, sex steroid hormones, and Alzheimer's disease. Horm. Behav. *63*, 301–307.

Visser, A.K.D., van Waarde, A., Willemsen, A.T.M., Bosker, F.J., Luiten, P.G.M., den Boer, J.A., Kema, I.P., and Dierckx, R.A.J.O. (2011). Measuring serotonin synthesis: from conventional methods to PET tracers and their (pre)clinical implications. Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging *38*, 576–591.

Webster, S.J., Bachstetter, A.D., Nelson, P.T., Schmitt, F.A., and Van Eldik, L.J. (2014). Using mice to model Alzheimer's dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. Front. Genet. *5*, 88.

West, P.J., Marcy, V.R., Marino, M.J., and Schaffhauser, H. (2009). Activation of the 5-HT(6) receptor attenuates long-term potentiation and facilitates GABAergic neurotransmission in

rat hippocampus. Neuroscience *164*, 692–701.

Wimo, A., Jönsson, L., Bond, J., Prince, M., Winblad, B., and Alzheimer Disease International (2013). The worldwide economic impact of dementia 2010. Alzheimers Dement. J. Alzheimers Assoc. *9*, 1–11.e3.

Wirths, O., Erck, C., Martens, H., Harmeier, A., Geumann, C., Jawhar, S., Kumar, S., Multhaup, G., Walter, J., Ingelsson, M., et al. (2010). Identification of low molecular weight pyroglutamate A{beta} oligomers in Alzheimer disease: a novel tool for therapy and diagnosis. J. Biol. Chem. *285*, 41517–41524.

Wong, E.H., Reynolds, G.P., Bonhaus, D.W., Hsu, S., and Eglen, R.M. (1996). Characterization of [3H]GR 113808 binding to 5-HT4 receptors in brain tissues from patients with neurodegenerative disorders. Behav. Brain Res. *73*, 249–252.

Woo, A.Y.-H., Song, Y., Zhu, W., and Xiao, R.-P. (2015). Advances in receptor conformation research: the quest for functionally selective conformations focusing on the β2-adrenoceptor. Br. J. Pharmacol. *172*, 5477–5488.

Woods, S., Clarke, N.N., Layfield, R., and Fone, K.C.F. (2012). 5-HT(6) receptor agonists and antagonists enhance learning and memory in a conditioned emotion response paradigm by modulation of cholinergic and glutamatergic mechanisms. Br. J. Pharmacol. *167*, 436–449.

Woolley, M.L., Marsden, C.A., and Fone, K.C.F. (2004). 5-ht6 receptors. Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord. *3*, 59–79.

Wu, C.-S., Wang, S.-C., Chang, I.-S., and Lin, K.-M. (2009). The association between dementia and long-term use of benzodiazepine in the elderly: nested case-control study using claims data. Am. J. Geriatr. Psychiatry Off. J. Am. Assoc. Geriatr. Psychiatry *17*, 614–620.

Xing, Z.G., Yu, G.D., Qin, L., Jiang, F., and Zhao, W.H. (2015). Effects and mechanism of lipoic acid on beta-amyloid-intoxicated C6 glioma cells. Genet. Mol. Res. GMR *14*, 13880–13888.

Yahiaoui, S., Hamidouche, K., Ballandonne, C., Davis, A., de Oliveira Santos, J.S., Freret, T., Boulouard, M., Rochais, C., and Dallemagne, P. (2016). Design, synthesis, and pharmacological evaluation of multitarget-directed ligands with both serotonergic subtype 4 receptor (5-HT4R) partial agonist and 5-HT6R antagonist activities, as potential treatment of Alzheimer's disease. Eur. J. Med. Chem. *121*, 283–293.

Yakel, J.L. (2013). Cholinergic receptors: functional role of nicotinic ACh receptors in brain circuits and disease. Pflügers Arch. Eur. J. Physiol. *465*, 441–450.

Yang, Z., and Levey, A. (2015). Gender Differences: A Lifetime Analysis of the Economic Burden of Alzheimer's Disease. Womens Health Issues Off. Publ. Jacobs Inst. Womens Health *25*, 436–440.

Yankner, B.A., Dawes, L.R., Fisher, S., Villa-Komaroff, L., Oster-Granite, M.L., and Neve, R.L. (1989). Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease. Science *245*, 417–420.

Yoshioka, M., Matsumoto, M., Togashi, H., and Mori, K. (1998). Central distribution and function of 5-ht6 receptor subtype in the rat brain. Ann. N. Y. Acad. Sci. *861*, 244.

Zhang, M.-Y., Hughes, Z.A., Kerns, E.H., Lin, Q., and Beyer, C.E. (2007). Development of a liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the quantitation of acetylcholine and related neurotransmitters in brain microdialysis samples. J. Pharm. Biomed. Anal. *44*, 586–593.

Zhang, Z., Song, M., Liu, X., Su Kang, S., Duong, D.M., Seyfried, N.T., Cao, X., Cheng, L., Sun, Y.E., Ping Yu, S., et al. (2015a). Delta-secretase cleaves amyloid precursor protein and regulates the pathogenesis in Alzheimer's disease. Nat. Commun. *6*, 8762.

Zhang, Z., Xie, M., and Ye, K. (2016). Asparagine endopeptidase is an innovative therapeutic target for neurodegenerative diseases. Expert Opin. Ther. Targets *20*, 1237–1245.

Zhang, Z.-G., Li, Y., Ng, C.T., and Song, Y.-Q. (2015b). Inflammation in Alzheimer's Disease and Molecular Genetics: Recent Update. Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.) *63*, 333–344.

Zheng, Y., Wang, J., Li, D., Guo, M., Zhen, M., and Chang, Q. (2016). Wnt / ß-Catenin Signaling Pathway Against Aβ Toxicity in PC12 Cells. Neurosignals *24*, 40–47.

Zhong, G., Wang, Y., Zhang, Y., Guo, J.J., and Zhao, Y. (2015). Smoking is associated with an increased risk of dementia: a meta-analysis of prospective cohort studies with investigation of potential effect modifiers. PloS One *10*, e0118333.

Zhu, Y., Xiao, K., Ma, L., Xiong, B., Fu, Y., Yu, H., Wang, W., Wang, X., Hu, D., Peng, H., et al. (2009). Design, synthesis and biological evaluation of novel dual inhibitors of acetylcholinesterase and beta-secretase. Bioorg. Med. Chem. *17*, 1600–1613.

Zoheir, N., Lappin, D.F., and Nile, C.J. (2012). Acetylcholine and the alpha 7 nicotinic receptor: a potential therapeutic target for the treatment of periodontal disease? Inflamm. Res. Off. J. Eur. Histamine Res. Soc. Al *61*, 915–926.

Alzheimer Europe - Alzheimer Europe - Our work - Completed projects - 2006-2008: EuroCoDe.

VU, LE PRESIDENT DU JURY

CAEN, LE

VU, LE DIRECTEUR DE L'UFR

CAEN, LE

L'université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises
dans les thèses et mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.